

Mikro-RNA:n vaikutus syövän syntyyn ja kehitykseen

VEERA PÖYKIÖ

LuK-tutkielma
Biologian tutkinto-ohjelma,
Biotiede
Oulun yliopisto
Toukokuu 2023

Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	2
1. Johdanto.....	3
2. Mikro-RNA.....	3
2.1 Mikro-RNA:n luokittelu ja sen historia	3
2.2 Mikro-RNA:n biogeneesi ja toimintaperiaate	4
3. Mikro-RNA:t ja syöpä.....	7
3.1 Syövän peruspilarit.....	7
3.2 Mikro-RNA:t syövän aiheuttajana	8
3.2.1 <i>Let-7</i>	9
3.2.2 <i>miR-210</i>	9
3.2.3 <i>miR-186</i>	10
3.3 miRNA:n biogeneesin häiriöiden vaikutus syövän kehityksessä	11
4. Mikro-RNA, tulevaisuuden suunnannäyttäjä.....	12
5. Lähteet.....	13

Tiivistelmä

Mikro-RNA kuuluu endogeenisten ei-koodaava RNA:n luokkaan, johon kuuluvat myös ribosomaalinen RNA, pieni häiritsevä RNA ja tumassa esiintyvä RNA. Mikro-RNA on lyhyt yksijuosteinen RNA-jakso, jonka päätehtävä solussa on säädellä geenien ekspressiota. Se estää mRNA:n translaatiota sitoutumalla vastaavaan mRNA:n, mikä joko estää sen lukemisen tai johtaa sen hajottamiseen. Yksi mikro-RNA voi säädellä useita eri mRNA:ita ja yhtä mRNA:ta voi säädellä useat eri mikro-RNA:t. Ne osallistuvat solun fysiologisiin ja patologisiin toimintoihin, kuten solujen kehittymiseen, jakautumiseen ja lisääntymiseen. Mikro-RNA:t sijoittuvat genomien intergeenisille alueille ja geenien intronialueille.

Syöpä on pahalaatuisista soluista muodostuneiden kasvaimien aiheuttama sairaus. Syöpäsolut käyvät läpi mutaatiota, jotka aiheuttavat solun autonomista käyttäytymistä. Syöpäsolut pystyvät lisääntymään itsenäisesti, välttämään ohjattua solukuolemaa sekä muodostamaan etäpesäkkeitä muualle kehoon. Syöpää aiheuttavat yleensä karsinogeenit, esimerkiksi tupakan sisältämät yhdisteet sekä uv-säteily luokitellaan karsinogeneiksi.

Syövän ja mikro-RNA:n yhteyttä on tutkittu paljon. Mikro-RNA voidaan luokitella ympäröivien olosuhteiden mukaan onkogeeniksi tai kasvunrajoittajatekijäksi. Luokittelu voi olla vaikeaa, sillä mikro-RNA:n ekspressiomallit vaihtelevat eri erilaistuneiden solujen sekä eri kudoksien välillä. Esimerkiksi let-7 perheen mikro-RNA:t voivat toimia onkogeeninä ja kasvunrajoittajatekijänä.

Myös mikro-RNA:n biogeneesin häiriöt voivat olla syytä syövän kehittymiseen. Biogeneesiä auttavien proteiinien ja entsyymien ehtyneellä toiminnalla on karsinogeenisiä vaikutuksia. Esimerkiksi Droshan laskenut toimintatehokkuus johtaa mikro-RNA:iden erityksen vähenemiseen, jolla on metastasiaa ja invaasiota mahdollistavia vaikutuksia, kun taas Droshan liiallinen erityk muokkaa mikro-RNA:iden toimintaa kokonaisvaltaisesti.

Mikro-RNA:ta koitetaan hyödyntää syövän diagnostiikassa ja prognostiikassa. Mikro-RNA:n ekspressiojälkiä voidaan käyttää kasvaimen tyypin, luokan sekä kliinisen lopputuloksen arvioinnissa ja mikro-RNA profiloinnin avulla voidaan erottaa syöpäkudoksen terveistä kudoksista. Mikro-RNA:lla on terapeuttista potentiaalia syövän hoidossa, mutta sen käyttäminen hoitomuotona on vielä haastavaa. Ymmärtämällä mikro-RNA:n toimintaa perusteellisemmin voitaisiin edistää diagnostiikkaa ja hoitomenetelmiä syövän parissa.

1. Johdanto

Mikro-RNA (miRNA) on lyhyt RNA-jakso, jonka tehtävänä on säädellä geenin ekspressiota solussa. Säätelemällä geenien ekspressiota, ne pystyvät vaikuttamaan moniin solun toimintoihin ja miRNA:sta on tullutkin useiden tutkimusten kohde. (Macfarlane & Murphy 2010) Mikro-RNA:ta on myös tutkittu yhtenä syövän aiheuttajana.

Syöpää käytetään geneerisenä terminä sairaudelle, jossa vioittuneet solut kasvavat ja lisääntyvät enemmän kuin normaalisti ja muodostavat pahalaatuisia kasvaimia. Syöpäkasvaimet leviävät veri- ja imusuoniston kautta muualle kehoon muodostaen etäpesäkkeitä. Hyvälaatuiset kasvaimet eivät ole syöpäkasvaimia eivätkä ne muodosta etäpesäkkeitä (www.terveydentukena.fi 9.5.2023 ja WHO 2022). Syövän levinneisyyttä mitataan kansainvälisellä TNM-luokituksella, jossa T (tumor) viittaa emokasvaimen kokoon, N (node) syövän levinneisyyteen imusolmukkeissa ja M (metastasis) kauempana olevien etäpesäkkeiden olemassaoloon. TNM-luokituksen perusteella syöpä voidaan jakaa levinneisyysasteisiin 0-IV, jossa 0 merkitsee erittäin paikallista syöpää ja IV laajalle levinnyttä syöpää (www.kaikkisyovasta.fi 9.5.2023). Syöpä oli yleisin kuolinsyy maailmanlaajuisesti vuonna 2020 ja yleisimpiä syöpiä ovat rinta-, keuhko-, iho- ja mahasyövät. Syöväälle altistavat erilaiset karsinogeenit, kuten uv-säteily, alkoholi, tupakka ja tietyt virukset (WHO 2022).

Tässä tutkielmassa esitellään mikro-RNA:n rakenne ja tehtävät solussa sekä kuinka ne toimivat. Lisäksi käydään läpi välttämättömiä vaiheita syövän syntymiselle, jonka jälkeen käydään miRNA:n ja syövän yhteyttä läpi esimerkkien avulla. Lopuksi pohditaan miRNA:n käyttöä tulevaisuuden biolääketieteessä. Tämän tutkielman tarkoituksena on siis tutkia mikro-RNA:n vaikutusmekanismeja syövän syntyyn ja kuinka mikro-RNA edesauttaa tai vastustaa syövän kehitystä.

2. Mikro-RNA

2.1 Mikro-RNA:n luokittelu ja sen historia

Mikro-RNA on osa endogeenisten ncRNA:jen (non-coding RNA) luokkaa, johon kuuluu myös esimerkiksi rRNA (ribosomaalinen RNA), siRNA (small interfering RNA) ja snoRNA (small nucleolar RNA) (Macfarlane & Myrphy, 2010). miRNA on lyhyt, noin 22 nukleotidia pitkä yksijuosteinen RNA jakso. Se on evolutiivisesti hyvin konservatiivinen säädeltävälle

geenilleen. miRNA:n tehtävänä solussa on säädellä geeniekspressiota transkription jälkeisellä tasolla, pääosin estämällä mRNA:n ekspressiota solussa (Chen ym. 2012, Macfarlane & Murphy 2010 ja Xiang ym. 2020). Se estää translaatiota liittymällä vastaavaan mRNA:an aiheuttaen sen hajottamisen tai tekemällä siitä translaatioon kelpaamattoman. On tutkittu, että yksi miRNA pystyy hallinnoimaan useamman kuin yhden mRNA:n ekspressiota ja yhtä mRNA:ta voi säädellä useampi miRNA. miRNA:t säätelevätkin vähintään 30 % proteiinia koodaavista geeneistä (Macfarlane & Murphy 2010). miRNA:t ovat hyvin laaja-alaisia säätelytekijöitä, sillä ne ovat mukana monessa solun fysiologisessa sekä patologisissa toiminnoissa: ne säätelevät esimerkiksi solujen kehittymistä, sykliä sekä lisääntymistä (Cheng ym. 2012 ja Xiang ym. 2020).

miRNA:t löydettiin vuonna 1993, kun Victor Ambros, Rosalind Lee ja Rhonda Feinbaum huomasivat, että geeni lin-4, joka on vastuussa eleganssimadon (*Caenorhabditis elegans*) toukkavaiheen kehitysvaiheiden ajoittamisesta, ei tuotakaan proteiinia vaan kaksi lyhytjuosteista RNA:ta (Cai ym. 2009 ja Macfarlane & Murphy 2010). RNA:ssa oli komplementaarisia alueita lin-14 geenin kääntämättömälle alueelle (UTR, untranslated region), mikä sopi aiempaan ajatukseen, jossa lin-4 tuote säätelisi lin-14 geenialueen tuottamaa proteiinia ilman, että se vaikuttaisi lin-14 mRNA:n määriin. Tämä tuki väitettä, että lin-4 vaikuttaisi lin-14 translaation repression toimintamekanismeihin. Lin-4 on ensimmäinen löydetty mikro-RNA (Bartel 2004). miRNA:ta tavataan useimmilla eukaryooteilla, viruksilla ja kasveilla (Cai ym. 2009 ja Macfarlane & Murphy 2010).

Kuten aiemmin mainittiin, miRNA kuuluu ncRNA -luokkaan, johon sisältyy useita muita lyhyitä endogeenisiä RNA molekyyliä. Erityisen samanlaisia ne ovat siRNA:n kanssa, sillä niillä on samanlaiset ominaisuudet ja käyttötarkoitus: molemmat lyhyitä, noin 20 nukleotidia pitkiä RNA-molekyyliä, joissa on 5' fosfaatti- sekä 3' hydroksyyli-ryhmä (Bavelloni ym. 2017 ja Macfarlane & Murphy 2010). miRNA ja siRNA erotellaan niiden alkuperän avulla: miRNA on peräisin kaksoisjuosteisesta hiuspinnan muotoisesta esiasteesta, kun taas siRNA muodostetaan lineaarisesta dsRNA:sta (double-stranded RNA). Niiden samanlaisuudesta kertoo se, että pitkään miRNA ja siRNA:ta ei eroteltu, vaan kaikki mRNA:ta säätelevät lyhyet RNA:t luokiteltiin siRNA:si (Macfarlane & Murphy 2010).

2.2 Mikro-RNA:n biogeneesi ja toimintaperiaate

Mikro-RNA:n esiasteet esiintyvät yleensä genomien välisillä alueilla tai proteiineja koodaavien alueiden intronialueilla klustereissa. Niiden säätelyyn vaikuttaa suuresti geenin

lokus: intronialueilla olevien miRNA:t transkriptoidaan isäntägeenin yhteydessä, jota kontrolloi sama promoottori. Intergeenisillä alueilla sijaitsevien miRNA:a hallinnoi oma promoottori. (Macfarlane & Murphy 2010). Mikro-RNA voi myös sijaita geenin eksonialueella, mutta se on harvinaisempaa (Medina & Slack 2008).

Mikro-RNA:n biogeneesi on monivaiheinen prosessi, joka koostuu nuklearisesta ja sytoplasmisesta osista (Catalanotto ym. 2016). Biogeneesi alkaa geenin transkriptiolla ja pri-miRNA:n (primaarinen miRNA) muodostuksella. Intronisen miRNA:n transkriptoi RNA polymeraasi II, mutta intergeenisellä alueella olevan miRNA geenin voi myös transkriptoida RNA polymeraasi III. RNA polymeraasi III tuottaa eukaryoottisoluissa lyhyitä RNA:ta, kuten tRNA (transfer-RNA) ja 5S rRNA (5S ribosomal RNA) (Macfarlane & Murphy 2010 ja Peng & Croce 2016). Pri-miRNA on taittunut, keskeltä kaksijuosteinen molekyyli, joka sisältää 5' CAP (five-prime-cap) sekä 3' poly-A-häntä rakenteet (Catalanotto ym. 2016 ja Medina & Slack 2008). Kaksijuosteinen runko on noin 30 emäsparia pitkä, mutta yksijuosteiset päät voivat olla useita satoja emäsparia pitkiä (Romero-Cordoba ym. 2014). Pri-miRNA prosessoidaan pre-miRNA:si (esi-miRNA) mikroprosessorikompleksi RNase III Droshan ja sen kofaktorin DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region gene 8) tai Droshan, RNA helikaasien p68 ja p72 ja hnRNP:n (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins) avulla. Ne leikkaavat pri-miRNA:sta hiuspinnin muotoisen molekyylin, jonka runko on noin 22 nukleotidia ja päätysilmukka noin 48 nukleotidia pitkä (Romero-Cordoba ym. 2014 ja Catalanotto ym. 2016). DGCR8 tunnistaa pri-miRNA:n leikkauskohdan ja lähettää Droshan noin 11 emäsparia eteenpäin tästä paikasta kohti pri-miRNA:n runkoa, jossa Drosha leikkaa vapauttaen hiuspinni pre-miRNA:n (Macfarlane & Murphy 2010). Tämän jälkeen dsRNA:n sitoutumisproteiini Exportin-5 kuljettaa pre-miRNA:n ulos tumasta sytosoliin. Sytosolissa RNase III Dicer muokkaa pre-miRNA:sta noin 22 nukleotidia pitkän kaksois-miRNA:n poistamalla päätysilmukan pre-miRNA:sta (Anesse ym. 2020 ja Romero-Gordoba ym. 2014). Dicerin domeenien PAZ (Piwi/Argonaute/Zwilli) ja RnaseIII välinen etäisyys määrittää leikkaamiskohdan (Macfarlane & Murphy 2010). Dicerin kahden RnaseIII alueiden dimerisaatio luo yhden prosessikompleksin, joka leikkaa pre-miRNA:ta vastakkaiseen suuntaan kuin Drosha: Tuloksena on lyhyt kaksijuosteinen miRNA, jonka 3' päissä on ylimääräiset kahden nukleotidin ulokkeet (Anesse ym. 2020, Catalanotto ym. 2016 ja Macfarlane & Murphy 2010).

Kaksijuosteinen miRNA liitetään RISC-kompleksiin, joka koostuu AGO2 (argonaute-2), AUB (aubergine) ja SND1 (staphylococcal nuclease domain-containing protein 1) proteiineista, AEG-

1 (astrocyte elevated gene-1), FMR1 (fragile X mental retardation 1), VIG (vasa intronic gene), R2D2 (a dsRNA binding protein) ja armitage-RNA helikaasi 1:stä (Anesse ym. 2020). AGO2 on RISC:n katalyyttinen osa, joka poistaa toisen miRNA:n juosteista. Koodaavaksi juosteeksi valitaan juoste, jonka 5' pää on termodynaamisesti epästabiilimpi tai se juoste, jolla on 5' päässään urasiili. Koodaava juoste jää RISC-kompleksiin (O'Brien ym. 2018). Riippuen alkuperäisen kaksijuosteisen miRNA:n lukusuunnasta, miRNA juosteesta voidaan käyttää nimeä miRNA-5p sen syntyessä 5' juosteesta tai miRNA-3p sen syntyessä 3' juosteesta (Anesse ym. 2020 ja O'Brien ym. 2018). miRNA-5p ja miRNA-3p:llä on erilaiset kohde mRNA spesifisyydet (Anesse ym. 2020). Mallijuosteeksi jäänyt juoste hävitetään kahdella tavalla: täydellisen komplementaarisuuden tapauksessa AGO2 proteiini avaa rakenteen ja juoste hävitetään soluorganellien toimesta. Jos juosteet eivät ole komplementaarisia keskenään, rakenne avataan ja juoste hajotetaan passiivisesti (O'Brien ym. 2018).

Mikro-RNA:ta voidaan tuottaa myös vaihtoehtoisilla tavoilla ja yleensä niiden poikkeavuudet osuvat Droshan, Dicerin, EXP5:n tai AGO2:n toimintaan. Yleisimmät vaihtoehtoiset biogeneesit ovat Drosha/DGCR8 tai Dicerista riippumaton biogeneesi. Esimerkkinä Drosha/DGCR8 riippumattomasta biogeneesistä ovat miRtronit, jotka tuotetaan mRNA:n silmukoinnista ylijääneistä introneista (Anesse ym. 2020 ja O'Brien ym. 2018). miRtroneista peräisin olevaa pre-miRNA:ta käsitellään samalla tavalla kuin normaalisti mikroprosessorikompleksin avulla käsiteltäviä pre-miRNA:ta. Ne kuitenkin voidaan erottaa normaalista pre-miRNA:sta esimerkiksi pullistumista ja hiuspinnirakenteen pituudesta (Anesse ym. 2020). Dicerista riippumatonta biogeneesiä käyttävät yleensä shRNA:sta (short hairpin RNA) peräisin olevat pre-miRNA:t. AGO2 proteiini toimii shRNA:sta peräisin olevien pre-miRNA:n valmistajana, sillä ne ovat väärän pituisia Dicerin käsittelyyn (O'Brien ym. 2018).

miRISC:n toiminta perustuu sen eri osastojen ominaisuuksiin: mikro-RNA pystyy tunnistamaan niiden kohde mRNA:n Watson and Crick emäsparisääntöjen avulla. Eukaryooteilla tunnistuksessa merkittävä alue on miRNA:n tunnistusalue, joka sijaitsee 3' pään UTR alueella 2–8 nukleotidien välillä (Anesse ym. 2020). Tunnistusalueen tulisi olla täysin komplementaarinen mRNA:n 3' UTR:n kanssa, joka on tärkeää interaktion termisen vakauden kannalta (Catalanotto ym. 2016 ja Macfarlane & Murhy 2010). Muilta osin miRNA ja mRNA ei ole yleensä täysin komplementaarinen, mikä mahdollistaa jopa usean sadan mRNA:n säätelyn yhdellä miRNA:lla (Macfarlane & Murphy 2010 ja Reddy 2015). AGO perheen proteiinit sen sijaan luovat alustan muille kofaktoreille ja niiden perusteella suoritetaan erilaisia RISC

lähtöisiä toimenpiteitä. On silti vielä epävarmaa, mihin kaikkiin AGO proteiinit vaikuttavat. (Catalanotto ym. 2016).

Geenin hiljennys voi tapahtua joko translaation estämisellä tai mRNA:n leikkaamisella. Yleisempi tapa on translaation estäminen johtuen miRNA:n ja mRNA:n korkeasta epäkomplementaarisuudesta (Park & Shin 2015). mRNA:n leikkaaminen AGO2:n avulla vaatii tunnustusalueen lisäksi suhteellisen korkeaa komplementaarisuutta toimiakseen, vaikka yksikin laaja komplementaarinen alue riittää (Macfarlane & Murphy 2010). Kun miRNA on tunnistanut ja liittynyt mRNA:n UTR-alueeseen, AGO2 vaikuttaa GW182 proteiinin kanssa, joka vuorostaan on vuorovaikutuksessa PABPC:n (cytoplasmic poly(A)-binding protein) sekä deadenylaasikompleksien PAN2-PAN3 ja CCR4-NOT kanssa. PAN2-PAN3 ja CCR4-NOT kompleksit katalysoivat mRNA:n deadenylaatiota. Deadenylaation läpikäyneeltä mRNA:lta poistetaan 5' CAP-rakenne entsyymi DCP2:n (decapping protein 2) sekä hajotetaan XRN1:n (exoribonuclease 1) avulla (Jonas & Izaurralde 2015).

3. Mikro-RNA:t ja syöpä

3.1 Syövän peruspilarit

Syöpä on yleisnimitys sairauksille, jotka johtuvat pahalaatuisiksi muuntuneista soluista ja niiden aiheuttamista kasvaimista (www.terveydentukena.fi 12.4.2023). Syöpä saa alkunsa, kun solun geeniperimä käy läpi muutoksia, jotka saavat sen käyttäytymään autonomisesti: syöpäsolu pystyy kasvamaan ja replikoitumaan muiden solujen rajoitussignaaleista huolimatta sekä välttelemään apoptoosia. Ne pystyvät ylläpitämään angiogeneesiä eli uudisverisuonitusta sekä muodostamaan etäpesäkkeitä, jotka taas toimivat itsenäisesti primaarisesta kasvaimesta (MacFarlane & Murphy 2010). Kuitenkaan yksi mutaatio ei yksinään yleensä aiheuta syöpää, vaan se tarvitsee useita mutaatioita onkogeneisissä, jotka kertyvät solun jakautuessa. Onkogeenit ovat genejä, jotka vaurioituessaan altistavat syöväälle. Onkogeenin lisäksi syöpää voi aiheuttaa mutaatioista johtuvien kasvunrajoitustekijöiden alentunut tai puuttuva ekspressio (www.kaikkisyovasta.fi 30.3.2023). Seuraavissa kappaleissa käsitellään syövän juurisyytä tarkemmin.

Solujen hallitsematon lisääntyminen on pääsyy syövän kehittymiseen eli karsinogeneesiin (MacFarlane & Murphy 2010). Normaalisti solujen jakautuminen on tarkasti säädeltyä, mutta sen häiriintyessä siihen kohdistuneiden ärsykkeiden takia se voi jumiutua, joka voi johtaa solun autonomiseen tilaan (Laiho 2002). Tämä johtaa solusykliä hidastavien toimintojen vähenemiseen ja solun kasvua kiihdyttävien toimintojen jatkuvaan kiertoon. Myös solun rajoituspisteen (R) häiriöt ovat yleisiä useissa syövässä. Rajoituspisteen tehtävänä on säädellä solun siirtymistä solusyklistä toiseen ja sen vioittuessa solusykli jatkaa toimintaansa kasvutekijöistä huolimatta (Laiho 2002).

Syöpäsoluilla on myös kyky estää apoptoosi. Apoptoosi eli ohjattu solukuolema on normaali osa solun elinkaarta, jonka voi laukaista useat eri fysiologiset tekijät (Laiho 2002). Syöpäsoluilla on useita tapoja päästä apoptoosista eroon, kuten hävittää kasvunrajoitustekijän geenin genomista, laskea apoptoosin käynnistävien säätelijöiden määrää ja estää solukuolemaan johtavia toimintoja (MacFarlane & Murphy 2010).

Angiogeneesi eli uusien verisuonten muodostus on tärkeä osa syövän kehitystä, sillä ilman uudisverisuonitusta kasvaimet jäisivät alle 1mm³ kokoisiksi. Kasvainten keskiosa kärsii hypoksiasta, joka edesauttaa angiogeenin alkamista, sillä se lisää verisuonten kasvua aktivoivia kasvutekijöitä ympäröivissä kudoksissa (Laiho 2002). Lisäksi myös kasvaimet voivat erittää samanlaisia kasvutekijöitä ja kopioida niiden reseptoreita, jotka edistävät angiogeneesiä ja siten syöpäsolujen ylläpitoa (Laiho 2002 ja MacFarlane & Murphy 2010).

Metastasian eli syöpäsolujen leviämisen ja invaasion aktivointi on monimutkainen ja vaiherikas biologinen tapahtuma, joka on tärkeä osa syövän leviämistä. Solu-solu ja solu-soluaineväliainekontaktit säätelevät solujen liikkumiskykyä. Epiteeli-mesenkyymitransition (EMT) häiriintynyt toiminta on invaasion alkupiste, sillä se vähentää solujen adheesiota ja aktivoi solun liikkuvuuteen sekä invaasioon liittyviä geenejä (Laiho 2002 ja MacFarlane & Murphy 2010). Lisäksi EMT säätelee useita kasvutekijöitä (MacFarlane & Murphy, 2010). Kasvaimet voivat myös erittää entsyymejä, jotka hajottavat soluväliainetta ja tyvikalvoja, mikä edesauttaa invaasiota (Laiho 2002).

3.2 Mikro-RNA:t syövän aiheuttajana

miRNA:lla on tärkeä rooli lukuisissa solun eri toimintojen säätelyssä ja useat eri tutkimukset ovat todistaneet yhteyden miRNA:n ja syövän välillä (MacFarlane & Murphy 2010 ja Savoronos ym. 2016). Kuitenkin sen luokittelu onkogeeniksi tai kasvunrajoitustekijäksi on

vaikeaa: mikro-RNA:n ekpressiomallit ovat monimutkaisia ja vaihtelevat kudoksittain sekä solun erilaistumisasteen mukaan. Se voidaankin luokitella kumpaankin tekijään ja ympäröivät olosuhteet määrittävät, kumpana osapuolena miRNA toimii (MacFarlane & Murphy 2010 ja Sovoronos ym. 2016).

3.2.1 *Let-7*

Let-7 miRNA-perhe on hyvin konservoitunut selkärangkaisilla ja selkärangattomilla. Ne sijoittuvatkin ihmisillä genomien alueille, jotka muuttuvat tai poistuvat kokonaan useissa eri syövässä (MacFarlane & Murphy 2010). *Let-7* on monivaikutteinen miRNA-perhe, sillä sen vaikutukset ylettyvät onkogeenien hiljentämiseen, EMT:n tukahduttamiseen, syöpälääkesensitiivisyyteen, solusignaalinnin kontrollointiin sekä solun lisääntymisen vähentämiseen (Chirshev ym. 2019). Esimerkiksi *let-7* hiljentää kahta tunnettua onkogeeniä: Ras sekä High mobility group AT-box 2 (HMGA2). Ras on GTPaasi, joka välittää signaaleja solun pinnan reseptoreilta solun sisäisiin signaalintipokuihin, joilla on vaikutuksia muun muassa solun kasvuun, lisääntymiseen, liikkeisiin ja elinkaareen. *Let-7* kontrolloi Ras:ia liittymällä sen mRNA:n 3'UTR alueeseen, joka estää translaatiota. HMGA2 on transkriptiofaktori, joka muuttaa DNA:n konformaatiota transkriptioon sopivaksi useille eri geneille, jotka vaikuttavat solun kasvuun, erilaistumiseen ja selviytymiseen. *Let-7* sitoutuu näiden geenien mRNA:n 3'UTR alueeseen ja estää näin mRNA:n toiminnan (MacFarlane & Murphy 2010). Näillä ominaisuuksilla *let-7*:llä on kasvunrajoittajatekijän rooli syövän kehityksessä (Chirshey ym. 2019 ja MacFarlane & Murphy 2010).

Let-7 perheen jäsenet voivat toimia myös joissain tapauksissa onkogeeninä (Chirshey ym. 2019). Normaaleissa kudoksissa *let-7a3* on hyvin metyloitunut, mutta hypometyloitunut kehko- ja munasarjojen kasvaimissa. Hypometylaatio nostaa *let-7a3*:N ekpressiota, jonka on tutkittu aiheuttavan solujen aggressiivisuutta, anoikisitsenäisyyttä eli kykyä toimia erossa muista kudoksen soluista, geeniekpression nousua solun lisääntymiseen liittyvissä geneissä sekä alentunutta säätelyä adheesion liittyvissä geneissä, joilla on osansa kasvainten kehittymiseen ja metastasiaan (Chirshey ym. 2019).

3.2.2 *miR-210*

miR-210 on mukana monissa biologisissa prosesseissa ja se vaikuttaa moniin solun toimintoihin liittyen solusyklin säätelyyn, erilaistumiseen, angiogeneesiin sekä metaboliaan (Bavelloni ym. 2017). Siksi sitä on tutkittu paljon syövän kehitykseen vaikuttavana tekijänä ja

miR-210 on yhdistetty muun muassa rinta-, keuhko- ja haimasyöpiin. miR-210 luokitellaan onkogeeniksi (Bavelloni ym. 2017).

miR-210:lla on yhteys angiogeneesiin, sillä se säätelee VEGF (vascular endothelial growth factor) säätelytekijää (Bavelloni ym. 2017). VEGF edistää uudisverisuonitusta ja miR-210:n liiallinen erityis edistää VEGF:n ekspressiota mahdollistaen angiogeneesin esimerkiksi kasvaimissa. miR-210:lla on myös apoptoosia estävä vaikutus glioblastoomasoluissa (Bavelloni ym. 2017).

3.2.3 *miR-186*

miR-186:n epänormaalia ekspressiota on havaittu useissa syövässä, mutta eniten sitä on tutkittu keuhko-, eturauhas- ja suolistosyövässä (Xiang ym. 2020). Se yleensä edistää karsinogeneesiä, invaasiota, metastasiaa, apoptoosi- ja lääkeresistenssia syöpäsoluissa. miR-186 voi olla onkogeeni tai kasvunrajoittajatekijä (Xiang ym. 2020).

Yleensä miR-186 luokitellaan kasvunrajoittajatekijäksi, sillä se on aliekspressoitu useissa eri syövässä (Xiang ym. 2020). Esimerkiksi miR-186 säätelee Twist 1 (Twist family bHLH transcription factor 1) transkriptiotekijää, joka säätelee EMT:tä. Vähentynyt miR-186:n erityis lisäsi Twist 1 tuottoa, joka lisäsi solujen lisääntymistä, migraatiota ja EMT:tä. miR-186 voi säädellä solun lisääntymistä, migraatiota sekä invaasiota myös säätelemällä YAP1:n efektoria. YAP1 on tärkeä osa Hippo-signaalintipolkua, joka vaikuttaa useiden muiden signaalintipolkujen kanssa sekä säätelee edellä mainittujen solujen ominaisuuksiin liittyvien geenien ekspressiota. Alentunut miR-186 erityis edesauttaa YAP1:n epänormaalia toimintaa ja sitä kautta syöpäsolujen kehittymistä ja leviämistä (Xiang ym. 2020).

Joissakin tapauksissa miR-186 voi toimia myös onkogeeninä, esimerkiksi kohdunkaulan syövän soluissa (Xiang ym. 2020). miR-186:n liiallinen erityis laskee useiden eri geenien toimintaa, joka aiheuttaa solujen lisääntymistä ja elinvoimaisuutta sekä apoptoosin estymistä kohdunkaulasyövän soluissa. Samoja tuloksia on havaittu levyepiteelisyvän soluissa: miR-186 säätelee APAF1:sta, apoptoosin säätelijää. Liian vähäinen APAF1:n tuotto lisäsi solun karsinogeenisiä ominaisuuksia (Xiang ym. 2020).

3.3 miRNA:n biogeneesin häiriöiden vaikutus syövän kehityksessä

Mikro-RNA:n biogeneesiä säätelevät useat eri entsyymit ja proteiinit, mutta biogeneesin seuraaminen voidaan aloittaa jo pri-miRNA:n transkriptiosta (Lin & Gregory 2015 ja Peng & Croce 2016). Genomin muutokset voivat vaikuttaa pri-miRNA:n transkriptioon ja sitä kautta miRNA:n ekspression. Esimerkiksi miR-15 ja miR-16 lokukset ovat deleetuneet 70 % kroonisen lymfaattisen leukemian potilaista. miR-15 ja miR-16 kontrolloivat apoptoosia (Lin & Gregory 2015).

Myös eri biogeneesin avustavien proteiinien toiminta voi olla syövän kehittymisen taustalla. Drosha ja Dicer ovat pääkomponentteja miRNA:n kehityksessä ja molempien entsyymien epätavallisia arvoja on löydetty eri kasvaimissa (Lin & Gregory 2015). Drosha on joko yli- tai aliekspressoitunut useissa eri syövässä ja se voidaankin jollakin tasolla luokitella kasvunrajoittajaksi, esimerkiksi Droshan alentunut toiminta keuhkojen adenokarsinomasoluissa lisäsi solujen lisääntymistä ja kasvainten kasvua *in vivo* sekä *in vitro*. Yleisesti Droshan vähentynyt toiminta johtaa miRNA:n erityksen laskuun ja sitä kautta mahdollistaa metastasiaa ja invaasiota. Droshan liiallinen toiminta taas muokkaa miRNA:n kokonaisvaltaista ekspressiota, joka mahdollistaa solun epänormaalin lisääntymisen, migraation sekä invaasion (Lin & Gregory 2015).

Myös Dicerin toiminnan ehtyminen lisää solujen kasvua ja karsinogeneesiä (Lin & Gregory 2015). Jopa yhden alleelin puuttuminen voi vaikuttaa siihen, kuinka aggressiiviseksi syöpä muodostuu ja Dicer-alleelien mutaatioita löydetään usein erilaisissa periytyvissä syövässä. Mutaatiot osuvat yleensä Dicerin RNase IIIb osan metalleja sitovaan osaan, joka vioittaa sen toimintaa. Myös Diceria voidaan joko ali- tai yliekspresoida Droshan tapaan. Useat onkoproteiinit ja villiintyneet kasvunrajoitustekijät säätelevät syövän kehitystä Dicerin avulla (Lin & Gregory 2015).

AGO proteiinit ovat katalyyttinen osa RISC:ä ja sen epänormaalityyppisellä säätelyllä on samanlaisia vaikutuksia kuin Droshan ja Dicerin vioittuneella toiminnalla. Sen ali- tai yliekspresiota sekä alleelien mutaatioita on huomattu useissa eri syövässä (Peng & Croce 2016).

4. Mikro-RNA, tulevaisuuden suunnannäyttävä

Mikro-RNA on lyhyt RNA jakso, jonka tehtävä on säädellä geenin ekspressiota post-transkriptiollisesti. Syöpä on joukko pahalaatuiseksi muuttuneita soluja, jotka jakautuvat hallitsemattomasti muodostaen kasvaimen, jolla on kyky angiogeneesiin, metastasiaan sekä lopulta invaasioon. miRNA:t ovat tärkeä osa näitä prosesseja, sillä niillä on suuri rooli solun toiminnan säätelyssä, kuten solun jakautumisessa, syklissä ja apoptoosin aloittamisessa. Syövässä miRNA:n vaikutukset ovat laajat ja koskettavat jokaista sen osa-aluetta.

Mikro-RNA:n läheinen suhde syövän kanssa on huomattu ja on tutkittu, että miRNA:n ekspressiojäljet ovat yhteydessä kasvaimen tyyppiin, luokkaan ja kliinisiin lopputuloksiin. Sitä yritetäänkin kehittää eri syöpien diagnostiikan ja prognostiikan biomarkeriksi sekä hoidon kohteeksi tai välineeksi (Peng & Croce 2016). Mikro-RNA:n profilointia on myös käytetty tunnistamaan syöpäkudokset terveistä kudoksista. miRNA:n ekspresion profilointia voidaan käyttää myös hyväksi syöpäpotilaiden parantumisen sekä syövän uusiutumisen ennustamisessa (Medina & Slack 2008). Mikro-RNA:ta voidaan käyttää myös suorana hoitomuotona, jolloin sen säätelymekanismi toimisi hoitavana osana syövän kukistamisessa (Chen ym. 2014). Mikro-RNA:n käytössä syövän suorana hoitomuotona on kuitenkin vielä vaikeuksia, esimerkiksi miRNA:n huono sisäänpääsy kasvainkudokseen mekaanisten ja biologisten esteiden takia, nopea hajoaminen ja poistuminen verenkierrosta, immuunipuolustuksen kohteeksi joutuminen sekä tehoton geenien hiljennys johtuen huonosta solun sisäisestä kuljetuksesta (Chen ym. 2014).

Vaikka mikro-RNA:ta yritetään parhaillaan valjastaa biolääketieteen välineeksi, sen toimintaa ei vielä täysin ymmärretä (Lujambio & Lowe 2012). Esimerkiksi meiltä puuttuu edelleen tehokkaita lähestymistapoja miRNA-kohteiden ymmärtämiseen ja ennustamiseen. Näiden toimintaperiaatteiden selvittäminen olisi tärkeää ymmärtääkseen geenisäätelyn ja niiden muutosten vaikutukset sairauksiin. Se myös aloittaisi uudenlaisen diagnostiikan ja hoitomenetelmien aikakauden, jonka avulla voitaisiin siirtyä pelkästä mikro-RNA:n ja syövän ymmärryksestä syövän hallitsemiseen miRNA:n avulla (Lujambio & Low 2012).

5. Lähteet

- Annese, T., Tamma, R., De Giorgis, M., & Ribatti, D. (2020). microRNAs biogenesis, functions and role in tumor angiogenesis. *Frontiers in oncology*, *10*, 581007.
- Arenz, C. (2014). *miRNA Maturation*. Springer Protocols. Humana Press.
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, *116*(2), 281-297.
- Bavelloni, A., Ramazzotti, G., Poli, A., Piazzini, M., Focaccia, E., Blalock, W., & Faenza, I. (2017). MiRNA-210: a current overview. *Anticancer research*, *37*(12), 6511-6521.
- Cai, Y., Yu, X., Hu, S., & Yu, J. (2009). A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics, proteomics & bioinformatics*, *7*(4), 147-154.
- Catalanotto, C., Cogoni, C., & Zardo, G. (2016). MicroRNA in control of gene expression: an overview of nuclear functions. *International journal of molecular sciences*, *17*(10), 1712.
- Cheng, C. J., & Slack, F. J. (2012). The duality of oncomiR addiction in the maintenance and treatment of cancer. *Cancer journal* *18*(3), 232.
- Chirshchev, E., Oberg, K. C., Ioffe, Y. J., & Unternaehrer, J. J. (2019). Let-7 as biomarker, prognostic indicator, and therapy for precision medicine in cancer. *Clinical and translational medicine*, *8*(1), 1-14.
- Jonas, S., & Izaurralde, E. (2015). Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nature reviews genetics*, *16*(7), 421-433.
- Laiho, M. (2002) Miten syöpä syntyy, *Duodecim* 2002;118(17):1751-1758
- Lin, S., & Gregory, R. I. (2015). MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nature reviews cancer*, *15*(6), 321-333.
- Lujambio, A., & Lowe, S. W. (2012). The microcosmos of cancer. *Nature*, *482*(7385), 347-355.

MacFarlane, L. A., & R Murphy, P. (2010). MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Current genomics*, 11(7), 537-561.

Medina, P. P., & Slack, F. J. (2008). microRNAs and cancer: an overview. *Cell cycle*, 7(16), 2485-2492.

O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402.

Park, J. H., & Shin, C. (2015). Slicer-independent mechanism drives small-RNA strand separation during human RISC assembly. *Nucleic acids research*, 43(19), 9418-9433.

Peng, Y., & Croce, C. M. (2016). The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal transduction and targeted therapy*, 1(1), 1-9.

Reddy, K. B. (2015). MicroRNA (miRNA) in cancer. *Cancer cell international*, 15(1), 1-6.

Romero-Cordoba, S. L., Salido-Guadarrama, I., Rodriguez-Dorantes, M., & Hidalgo-Miranda, A. (2014). miRNA biogenesis: biological impact in the development of cancer. *Cancer biology & therapy*, 15(11), 1444-1455.

Xiang, Y., Tian, Q., Guan, L., & Niu, S. S. (2020). The dual role of miR-186 in cancers: oncomir battling with tumor suppressor miRNA. *Frontiers in oncology*, 10, 233.

Tietoa syövästä ja eri syöpätautien hoidosta, <https://www.terveydentukena.fi/sairaudet-ja-hoito/syopa/tietoa-syovasta-ja-eri-syopatautien-hoidosta/yleista-syovasta> luettu 12.04.2023

Tietoa syövästä, <https://www.kaikkisyovasta.fi/tietoa-syovasta/> luettu 30.03.2023

Cancer, <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer> luettu 24.04.2023