

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΔΙΪΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
"ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ: ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗ ΩΣ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ"
ΕΔΡΑ: ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΠΟΥΔΩΝ: ΟΔΥΣΣΕΑΣ-ΙΩΑΝΝΗΣ ΖΩΡΑΣ

«LncRNAs: ΡΥΘΜΙΣΗ, ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ-ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ
ΔΙΕΘΝΟΥΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ»

«LncRNAs: REGULATION, FUNCTION AND CANCER: REVIEW OF THE
LITERATURE»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Ι. ΔΡΥΛΛΗΣ

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ MD, MSc, PhD

ΑΘΗΝΑ 2020

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ-ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΡΥΛΛΗΣ

Όνοματεπώνυμο: Γεώργιος Δρυλλής

Διεύθυνση: Νικοδήμου 9, Πειραιάς, Ελλάδα

Τηλέφωνο: +30 2112132126, **Κινητό τηλέφωνο:** 6974601554

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: gdrillis@yahoo.gr, gdrillis@hotmail.com

Ημερομηνία γέννησης: 8 Απριλίου 1980

Εθνικότητα: Ελληνική

Φύλο: Άρρεν

Οικογενειακή κατάσταση: Παντρεμένος

ΘΕΣΗ:

- **ΕΙΔΙΚΟΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ-ΑΚΑΔΗΜΑΙΚΟΣ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ ΣΤΗΝ Α΄ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΤΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ‘ΛΑΙΚΟ’**
- **ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ ΕΥΡΩΚΛΙΝΙΚΗΣ-ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ-ΑΘΗΝΑΪΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ**
- **ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ ΑΘΗΝΑΪΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ-ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΩΣ ΕΦΗΜΕΡΕΥΩΝ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ**
- **ΙΑΤΡΟΣ-ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ ΤΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΩΝ ‘Ο ΚΟΣΜΑΣ Ο ΑΙΤΩΛΟΣ’-ΠΕΡΙΣΣΟΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ

- 1) **ΜΕΛΕΤΗ: CETB115J2411 της NOVARTIS για το REVOLADE στην ITP**
- 2) **ΜΕΛΕΤΗ: ΕΑΚΜΥΣ της GENESIS- Ελληνική Καταγραφή των MDS (Μυελοδυσπλαστικών Συνδρόμων)**
- 3) **European CMML Registry (Ελληνική Καταγραφή)**

ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΑΠΑΣΧΟΛΗΣΗ ΜΕΧΡΙ ΣΗΜΕΡΑ / ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

19/10/2018- Σήμερα: ΕΙΔΙΚΟΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ-ΑΚΑΔΗΜΑΙΚΟΣ ΥΠΟΤΡΟΦΟΣ ΣΤΗΝ Α'ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΤΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ 'ΛΑΙΚΟ'-

01/10/2018- Σήμερα: ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ-ΕΦΗΜΕΡΕΥΩΝ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ ΑΘΗΝΑΪΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ-ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ

01/04/2019- Σήμερα: ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ ΕΥΡΩΚΛΙΝΙΚΗΣ, ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΑΘΗΝΑΪΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ

13/06/2019- Σήμερα: ΙΑΤΡΟΣ-ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΩΝ 'ΚΟΣΜΑΣ Ο ΑΙΤΩΛΟΣ'

09/2014-έως 18/10/2018: Ειδικευόμενος Αιματολογίας στην κλινική της Παθολογικής Φυσιολογίας (και στην Αιματολογική Κλινική) στο ΓΝΑ Λαϊκό- (παρακολουθηση εργαστηρίων Μοριακών Τεχνικών και Κυτταρομετρίας ροής στα πλαίσια της εκπαίδευσης- συνεχής παρακολούθηση των μαθημάτων των Κύκλων του Εκπαιδευτικού προγράμματος 2016 και 2017 της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας).

19/03/2014- 01/09/2014: Ειδικευόμενος Αιματολογίας στο Αιματολογικό Τμήμα του Τζανείου Νοσοκομείου στον Πειραιά

16/07/2012- 15/01/2014: Ειδικευόμενος Παθολογίας στην Παθολογική Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Σύρου.

16/01/2014- 13/03/2014: Σε παράταση ως ειδικευόμενος Παθολογίας στο Γενικό Νοσοκομείο Σύρου

27/06/2011- 27/06/2012: Εργάστηκα ως αγροτικός ιατρός στο ΠΙ Εφύρας- ΚΥ Σιμόπουλου (το υποχρεωτικό τρίμηνο εργάστηκα στο Νοσοκομείο Αμαλιάδας).

01/02/2011- 24/06/2011: Εργάστηκα στην εταιρεία ιατρικών ειδών Vamvas Medicals ως ιατρός πάνω στον τομέα της διεγχειρητικής νευροπαρακολούθησης.

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΣΩΝΤΑ

02/2019- σήμερα: Φοιτητής του διατμηματικού προγράμματος: Ογκολογία: Από την ογκογένεση έως τη θεραπεία (Πανεπιστήμιο Κρήτης- Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών)

2013-2018: PhD: Διδάκτωρ της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Αθηνών στο θέμα: Γονιδιακοί πολυμορφισμοί και έκβαση της κύησης

2005-2010: Πτυχιακές σπουδές στο τμήμα Ιατρικής του Δημοκριτείου Πανεπιστημίου Θράκης. Πτυχιούχος Ιατρικής.

2005-2007: M. Sc στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα "Εφαρμογές στη Βασική Ιατρική Επιστήμη", Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών, Ελλάδα.

2000-2004: Πτυχιακές σπουδές στη Σχολή Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Ελλάδα.

Άλλες εμπειρίες / δραστηριότητες

Τακτικό Μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Αιματολογίας, μέλος της Επιστημονικής Εταιρείας Φοιτητών Ιατρικών Σχολών της Ελλάδας και μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Μοριακής Βιολογίας

2017: Πιστοποιητικό Εκπαίδευσης Εκπαιδευτών Ενηλίκων

2011-σήμερα: Πλούσια διδακτική εμπειρία σε όλα τα ιατρικά μαθήματα και τα ιατρικά πεδία σε δημόσια και ιδιωτικά ινστιτούτα κατάρτισης για παραϊατρικά επαγγέλματα υγείας

2017: Συν-συγγραφέας στην ελληνική μετάφραση του **Bethesda Handbook of Clinical Hematology**

2007-2008: Στρατιωτική υπηρεσία στην Πολεμική Αεροπορία

2005-2007: Έλαβα υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών για τις σπουδές μου στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα «Εφαρμογές στη Βασική Ιατρική Επιστήμη», Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Πατρών (MSc Thesis).

- Κάτοχος πιστοποιητικού Εκπαίδευσης Εκπαιδευτών Ενηλίκων- Διαδικτυακό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα του Κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια βίου μάθησης του Ε.Κ.Π.Α (Οκτώβριος 2016-Ιανουάριος 2017)
- Εκπαίδευση στο αντικείμενο: Εκμάθηση Microsoft Office Excel-Powerpoint-Access 2010 του Κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια βίου μάθησης του Ε.Κ.Π.Α. (Νοέμβριος 2016-Φεβρουάριος 2017)
- Κάτοχος Πιστοποιητικού Επιμόρφωσης «Εκπαίδευση Εκπαιδευτών Ενηλίκων: Πρόγραμμα Ολοκληρωμένης Εκπαίδευσης και Άσκησης σε Μικροδιδασκαλίες» από το Κέντρο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια βίου μάθησης του Ε.Κ.Π.Α. (Ιούνιος 2017 – Πιστωτικές Μονάδες ECVET 12,5).
- **26 Ιανουαρίου 2018:** Πιστοποιητικό στη θεωρητική και πρακτική άσκηση στον καθετηριασμό περιφερικών φλεβών
- **11 Νοεμβρίου 2017-** Πιστοποιητικό στην Προηγμένη Υποστήριξη Ζωής (ALS) - Πιστοποίηση ΕΕΣ
- Εκπαίδευση στο αντικείμενο: 'Τρόποι χρηματοδότησης επιχειρηματικών δράσεων' του Κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια βίου μάθησης του Ε.Κ.Π.Α. (Νοέμβριος 2017-Φεβρουάριος 2018)
- Εκπαίδευση στο αντικείμενο: 'Μίγμα Marketing και Brand' του Κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια βίου μάθησης του Ε.Κ.Π.Α. (Νοέμβριος 2017-Φεβρουάριος 2018)
- **Οκτώβριος 2017-Ιούνιος 2018:** Πιστοποιητικό στην Οργάνωση και Διαχείριση Υπηρεσιών Υγείας - Εξειδικευμένο πρόγραμμα κατάρτισης του Κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια Βίου Μάθησης του Πανεπιστημίου Αθηνών (βαθμοί ECVET: 25,83)
- **Φεβρουάριος 2018-Σεπτέμβριος 2018:** Πιστοποιητικό στην 'Ανοσολογία και Αυτοάνοσα Συστηματικά Ρευματικά Νοσήματα'- Εξειδικευμένο πρόγραμμα κατάρτισης του Κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Δια Βίου Μάθησης του Πανεπιστημίου Αθηνών (βαθμοί ECVET: 36)

- **Φεβρουάριος 2019-Ιούνιος 2019:** Πιστοποιητικό εξειδίκευσης στις: Βασικές Αρχές Καρκίνου. Παθογενετικοί μηχανισμοί και νεώτερες θεραπευτικές προσεγγίσεις (βαθμοί ECVET: 5,83)
- Συμμετοχή σε όλα τα μαθήματα της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας από τον Ιανουάριο του 2016

ΓΛΩΣΣΕΣ: Ελληνικά: Μητρική γλώσσα; Αγγλικά: κοντά στη μητρική γλώσσα; Γερμανικά: πολύ καλά

ΆΛΛΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ Γνώσεις υπολογιστών: εφαρμογές Windows. Δίπλωμα οδήγησης.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΤΟ PUBMED: 28 (Πρώτο όνομα στις 3 από τις 28- στη μια ως πρώτο όνομα και στις άλλες τρεις ως ίδιας συνεισφοράς με τον πρώτο συγγραφέα, 1 από τις 28 ως παραπέμπων συγγραφέας και ως ίδιας συνεισφοράς με τον πρώτο συγγραφέα, δεύτερο όνομα σε 1 από τις 28)

1) Retrospective study on prevalence, specificity, sex and age distribution of alloimmunization in two general hospitals in Athens. Politou M, Valsami S, **Dryllis G**, Christodoulaki M, Cheropoulou C, Pouliakis A, Baka M, Stamoulis K. Turk J Haematol. 2020 Apr 22. doi: 10.4274/tjh.galenos.2020.2019.0459. [Epub ahead of print] PMID: 32319278

2) Emerging patterns of resistance in a cohort of Greek patients with recurrent UTIs: a pilot study. Moustakas I, **Dryllis G**, Pouliakis A, Petrikos G, Daikos G, Pittaras T, Karasante P, Karampotsis K, Tsiodras S. J Chemother. 2019 Aug 13:1-11. doi: 10.1080/1120009X.2019.1652013. PMID: 31409214
(corresponding author and equal contributor)

3) A Unique Case of Primary Extranodal Marginal Zone Lymphoma of the Anal Canal. Diamantopoulos P, **Dryllis G**, Tsourouflis G, Petevi K, Boutsikas G, Rondogianni P, Boutsis D, Korkolopoulou P, Konstantopoulos K,

Angelopoulou MK, Meletis J, Kanellis G, Vassilakopoulos TP. Acta Haematol. 2019 Jun 17:1-5. doi: 10.1159/000495601. PMID: 31207598 (**equal contributor**)

4) Genital tract infection and associated factors affect the reproductive outcome in fertile females and females undergoing in vitro fertilization. Dimitra Moragianni, **George Dryllis**, Panagiotis Andromidas Rachil Kapeta-Korkouli Evangelia Kouskouni Ilias Pessach Petros Papalexis Antigoni Kodonaki Nikolaos Athanasiou Avraham Pouliakis Stavroula Baka Biomed Rep. 2019 Apr;10(4):231-237. doi: 10.3892/br.2019.1194. Epub 2019 Feb 15. PMID: 30972218 Free PMC Article <https://doi.org/10.3892/br.2019.1194> (**equal contributor**)

5) Detection of CALR Mutations Using High Resolution Melting Curve Analysis (HRM-A); Application on a Large Cohort of Greek ET and MF Patients. Andreas Giannopoulos,¹ Niki Rougkala,^{1,2} Theodoros Loupis,¹ Marina Mantzourani,² Nora-Athina Viniou,² Eleni Variami,² Theodoros P. Vassilakopoulos,³ George Dryllis,^{1,3} Ioannis Kotsianidis,⁴ Theodora Gougopoulou,⁵ Marianna Politou,⁶ Kostas Konstantopoulos,³ and George Vassilopoulos corresponding author ^{1,7}Mediterr J Hematol Infect Dis. 2019 Jan 1;11(1):e2019009. doi: 10.4084/MJHID.2019.009. eCollection 2019.

6) 'Correlation of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the ANXA5 (Annexin a5) gene with recurrent miscarriages in women of Greek origin": **G. Dryllis**, A. Giannopoulos, C. Zoi, A. Pouliakis, E. Logothetis, M. Voulgarelis, K. Zoi, E. Kouskouni, A. Dinou, C. Stavropoulos-Giokas, G. Kreatsas, K. Konstantopoulos, M. Politou. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine- Received 23 Jan 2018, Accepted 06 Sep 2018, Accepted author version posted online: 09 Sep 2018 <https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1521799>

7) Health risk behaviors among high school and university adolescent students. Tsitsimpikou C, Tsarouhas K, Vasilaki F, Papalexis P, Dryllis G, Choursalas A, Spandidos DA, Tsatsakis A, Charvalos E, Bacopoulou F. Exp Ther Med. 2018 Oct;16(4):3433-3438. doi: 10.3892/etm.2018.6612. Epub 2018 Aug 17. PMID: 30233692

- 8) Pregnancy complications in a α -thalassemia (hemoglobinopathy H): a case study: Marianna Politou, **Giorgos Dryllis**, Maria Efstathopoulou, Serena Valsami, Athanasia Tsaroucha, Antonios Kattamis, Nikos.F.Vlahos- Case Reports in Obstetrics and Gynecology, Hindawi- Volume 2018, Article ID 8532081, 4 pages, Published 27 May 2018
- 9) Pneumothorax in cystic fibrosis. Kioumis IP, Zarogoulidis K, Huang H, Li Q, Dryllis G, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Papaiwannou A, Lampaki S, Porpodis K, Zaric B, Branislav P, Mpoukovinas I, Lazaridis G, Zarogoulidis P. J Thorac Dis. 2014 Oct;6(Suppl 4):S480-7. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.09.27. Review. PMID: 25337406 Free PMC Article
- 10) Tube thoracostomy; chest tube implantation and follow up. Kuhajda I, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Huang H, Li Q, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Papaiwannou A, Lampaki S, Papaiwannou A, Zaric B, Branislav P, Porpodis K, Zarogoulidis P. J Thorac Dis. 2014 Oct;6(Suppl 4):S470-9. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.09.23. Review. PMID: 25337405 Free PMC Article
- 11) Pneumothorax in sarcoidosis. Manika K, Kioumis I, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Lampaki S, Papaiwannou A, Zaric B, Branislav P, Huang H, Li Q, Steiropoulos P, Zarogoulidis P. J Thorac Dis. 2014 Oct;6(Suppl 4):S466-9. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.09.11. Review.
- 12) Penetrating trauma. Kuhajda I, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Huang H, Li Q, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Papaiwannou A, Lampaki S, Zaric B, Branislav P, Dervelegas K, Porpodis K, Zarogoulidis P. J Thorac Dis. 2014 Oct;6(Suppl 4):S461-5. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.51. Review.
- 13) Catamenial pneumothorax. Visouli AN, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Huang H, Li Q, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Papaiwannou A, Lampaki S, Zaric B, Branislav P, Porpodis K, Zarogoulidis P. J Thorac Dis. 2014 Oct;6(Suppl 4):S448-60. doi: 10.3978/j.issn.2072-

1439.2014.08.49. Review.

14) Transbronchial lung biopsy and pneumothorax. Huang Y, Huang H, Li Q, Browning RF, Parrish S, Turner JF Jr, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Papaiwannou A, Lampaki S, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Madesis A, Karaiskos T, Li Z, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S443-7. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.48. Review.

15) Acute respiratory distress syndrome and pneumothorax. Terzi E, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Lampaki S, Papaiwannou A, Tsiouda T, Madesis A, Karaiskos T, Zaric B, Branislav P, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S435-42. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.34. Review.

16) Pneumothorax after transbronchial needle biopsy. Boskovic T, Stojanovic M, Stanic J, Pena Karan S, Vujasinovic G, Dragisic D, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Papaiwannou A, Madesis A, Diplaris K, Karaiskos T, Zaric B, Branislav P, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S427-34. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.37. Review.

17) Pneumothorax: observation. Li Z, Huang H, Li Q, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Papaiwannou A, Madesis A, Diplaris K, Karaiskos T, Zaric B, Branislav P, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S421-6. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.32. Review.

18) Approach of the treatment for pneumothorax. Huang Y, Huang H, Li Q, Browning RF, Parrish S, Turner JF Jr, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Courcoutsakis N, Madesis A, Diplaris K, Karaiskos T, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S416-20. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.24. Review.

19) Bronchoscopic interventions for severe COPD. Browning RF, Parrish S, Sarkar S, Krinsky W, Turner JF Jr, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Courcoutsakis N,

Madesis A, Diplaris K, Karaiskos T, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S407-15. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.20. Review.

20) Laparoscopy induced pneumothorax. Machairiotis N, Kougioumtzi I, Dryllis G, Katsikogiannis N, Katsikogianni F, Courcoutsakis N, Kioumis I, Pitsiou G, Zarogoulidis K, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S404-6. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.15. No abstract available.

21) Unusual causes of pneumothorax. Ouellette DR, Parrish S, Browning RF, Turner JF Jr, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Tsiouda T, Madesis A, Karaiskos T, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S392-403. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.07. Review.

22) The role for medical thoracoscopy in pneumothorax. Parrish S, Browning RF, Turner JF Jr, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Tsiouda T, Madesis A, Karaiskos T, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S383-91. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.06. Review.

23) Human immunodeficiency virus infection and pneumothorax. Terzi E, Zarogoulidis K, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kioumis I, Pitsiou G, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Tsiouda T, Madesis A, Karaiskos T, Zarogoulidis P. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S377-82. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.03. Review.

24) Pneumothorax: from definition to diagnosis and treatment. Zarogoulidis P, Kioumis I, Pitsiou G, Porpodis K, Lampaki S, Papaiwannou A, Katsikogiannis N, Zaric B, Branislav P, Secen N, Dryllis G, Machairiotis N, Rapti A, Zarogoulidis K. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(Suppl 4):S372-6. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.09.24. Review.

25) Thirteen years follow-up of heart myxoma operated patients: what is the appropriate surgical technique? Siminelakis S, Kakourou A, Batistatou A, Sismanidis S, Ntoulia A, Tsakiridis K, Syminelaki T, Apostolakis E, Zarogoulidis P, Tsiouda T, Katsikogiannis N, Kougioumtzi I, Dryllis G, Machairiotis N, Mpakas A, Beleveslis T, Zarogoulidis K. *J Thorac Dis.* 2014

Mar;6 Suppl 1:S32-8. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.10.21. Erratum in: J Thorac Dis. 2014 Jun;6(6):E146. Kakourou, Alexandra [corrected to Kakourou, Artemisia]; Batistatou, Alexandra [corrected to Batistatou, Anna]; Sismanidis, Stelios [corrected to Sismanidis, Sokratis]; Syminelaki, Theodora [corrected to Syminelaki, Thalia]; Apostolakis, Eleftherios [correc]

26) Influence of apnoeic oxygenation in respiratory and circulatory system under general anaesthesia. Kolettas A1, Grosomanidis V1, Kolettas V1, Zarogoulidis P1, Tsakiridis K1, Katsikogiannis N1, Tsiouda T1, Kiougioumtzi I1, Machairiotis N1, Dryllis G1, Kesisis G1, Belevlis T1, Zarogoulidis K1. J Thorac Dis. 2014 Mar;6 Suppl 1:S116-45. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.01.17.

27) Extrapelvic endometriosis: a rare entity or an under diagnosed condition? Machairiotis N, Stylianaki A, Dryllis G, Zarogoulidis P, Kouroutou P, Tsiamis N, Katsikogiannis N, Sarika E, Courcoutsakis N, Tsiouda T, Gschwendner A, Zarogoulidis K, Sakkas L, Baliaka A, Machairiotis C. Diagn Pathol. 2013 Dec 2;8:194. doi: 10.1186/1746-1596-8-194. Review.

28) Occupational exposure and lung cancer. Spyrtos D, Zarogoulidis P, Porpodis K, Tsakiridis K, Machairiotis N, Katsikogiannis N, Kougioumtzi I, Dryllis G, Kallianos A, Rapti A, Li C, Zarogoulidis K. J Thorac Dis. 2013 Sep;5 Suppl 4:S440-5. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.07.09. Review.

ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ ΣΕ ΚΕΦΑΛΑΙΑ ΒΙΒΛΙΩΝ (1 ΕΛΛΗΝΙΚΟ-1 ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΟ):

(2)

1) Co-author in the Greek translation of Bethesda Handbook of Clinical Hematology (June 2018)

2) One of the three authors of the 5th chapter: Biomarkers and physiological agents in severe sepsis and septic shock in the online book. Severe sepsis and septic shock - Understanding a serious killer in Intech (February 2012)

**ΑΛΛΕΣ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ (ΕΚΤΟΣ PUBMED)/
ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΑΡΤΗΣΕΙΣ (POSTERS) ΣΕ
ΣΥΝΕΔΡΙΑ (ΔΙΕΘΝΗ ΚΑΙ ΕΛΛΗΝΙΚΑ) :20 (Πρώτο όνομα σε 6 από 20)**

- 1) Bone Marrow Ribonucleotide Reductase mRNA Levels and Methylation Status As a Prognostic Factor in Patients with Myelodysplastic Syndrome Treated with 5-Azacytidine. Christina-Nefeli Kontandreopoulou, BSc , Panagiotis T Diamantopoulos, MD PhD , Argiris Symeonidis, MD PhD , Ioannis Kotsianidis , Vassiliki Pappa, MD , Athanasios Galanopoulos, MD PhD , Andreas Giannopoulos, BSc, MSc , Katerina Zoi, PhD , Maria Dimou, MD PhD , Elena E. Solomou, MD , Panayiotis Panayiotidis, MD , Georgios Kyriakakis , Nefeli Giannakopoulou , Georgios Dryllis MD, PhD, Sevastianos Chatzidavid , Nora-Athina Viniou, MD PhD. Blood (2019) 134 (Supplement_1): 1721.<https://doi.org/10.1182/blood-2019-126426>
- 2) N-Glycosylation of IgG Immunoglobulin and its clinical significance. Papakonstantinou Maria, **Dryllis Georgios**, Eustathopoulou Maria, Vlachopanou Dimitra, Kechriotis Michalis, Valsami Serena. J. Biomed 2019; 4: 35-43. doi:10.7150/jbm.33922 (**equal contributor**)
- 3) Inflammation, endothelium and immunothrombosis: The role of NETs and MPs. **George Dryllis**, Valanti Hadjidimitriou, Marianna Politou. Haema, November 2019
- 4) Genetic polymorphisms and pregnancy outcome. <http://hdl.handle.net/10442/hedi/44480>- Capodistrian University of Athens (2018)
- 5) Hematology Quiz – Case 57. Greek Medicine Records. January-February 2018, Volume 35, Issue 1
- 6) P156: Aleukemic leukemia cutis with blood dyscrasias- Poster Presentations: Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology Volume 31, Issue S3, June 2017, pages 49–100
- 7) Association of polymorphisms in the promoter of Annexin 5- gene with recurrent miscarriage. Poster Presentation. ID 65. 12 - 14 November 2015

26th Greek Hematology Congress

- 8) T786C polymorphism of eNOS gene and risk of developing atherosclerosis in women with endopelvic endometriosis. ePoster Presentation. International Conference on Thrombosis and Hemostasis November 02-03, 2015 Beijing, China. Submitted Date: 2015-05-09
- 9) European Hematology Association-21st Congress, June 9-12, Copenhagen- Participation with 2 Poster
- 10) Hematology Quiz – Case 49. Greek Medicine Records. November-December 2016, Volume 33, Issue 6
- 11) Hematology Quiz – Case 49. Greek Medicine Records. September-October 2016, Volume 33, Issue 5
- 12) Hematology Quiz – Case 48. Greek Medicine Records. July-August 2016, Volume 33, Issue 4
- 13) Hematology Quiz – Case 47. Greek Medicine Records. May-June 2016, Volume 33, Issue 3
- 14) Hematology Quiz - Case 46. Greek Medicine Records. March-April 2016, Volume 33, Issue 2
- 15) Hematology Quiz - Case 45. Greek Medicine Records. January-February 2016, Volume 33, Issue 1
- 16) Hematology Quiz - Case 44. Greek Medicine Records. November-December 2015, Volume 32, Issue 6
- 17) Hematology Quiz - Case 43. Greek Medicine Records. September-October 2015, Volume 32, Issue 5
- 18) Hematology Quiz - Case 41. Greek Medicine Records. July-August 2015, Volume 32, Issue 4
- 19) Role and functions of G-proteins (Gpcrs) in human organism. 5th congress of Clinical chemistry and Laboratory medicine 18-20/3/2011, Limassol, Cyprus.

20) Development of an episomal vector for the artificial transcription factor activation gamma globulin gene transfer [http://openarchives.gr/search/gene%20therapy-](http://openarchives.gr/search/gene%20therapy) Nemertis, University of Patras (11-09-2008)

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣΕΔΙΑΦΟΡΑΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. 9th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Athens, 2003)
2. 10th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Thessaloniki, 2004- participation with poster)
3. 11th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Alexandroupolis, 2005- participation with poster)
4. 26th national congress of cardiology (Greek Society of Cardiology, 2005)
5. 58th national conference of biochemistry and molecular biology (11-13 November 2006)
6. 18th National conference of Haematology Greek Society (Athens: 22-26 November 2006)
7. National conference of Greek Society of Technicians on medical laboratories (23-24 November 2006- participation with poster)
8. National conference of medical-biological sciences (23-24 April 2007)
9. 14th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Thessaloniki, 2004- participation with poster, Athens, 9-11 May 2008)
10. 2nd International forum of medical students & young physicians of Greece (Athens, 9-11 May 2008)

11. 5th National conference of clinical pharmacology (Athens, 23-24 May 2008)
12. 4th National conference of epilepsy (15 points of continuing medical education)- (Alexandroupolis 14-16 November 2008)
13. 1st National congress of Greek Society of Technicians on medical laboratories (Athens, 13-14 March 2009)
14. 15th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Thessaloniki, 8-10 May 2009)- (16 points of continuing medical education)
15. 3rd International forum of medical students & young physicians of Greece (Athens, 8-10 May 2009)
16. 16th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Athens, 16-18 April 2010)- (18 points of continuing medical education- participation with poster)
17. 4th International forum of medical students & young physicians of Greece (Athens, 16-18 April 2010)
18. 10th National meeting of liver- biliary- pancreas -surgery (Alexandroupolis 14-15 May 2010)
19. Educational seminar on: acid-base balance disorders and electrolytes- Patras: 26-27 November 2010 (9 points of continuing medical education)
20. 17th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Heraclion Crete, 06 - 08 May 2011, participation with 4 poster και 2 oral announcements)- (points of continuing medical education)
21. 18th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Athens 2012- participation with 2 poster)- (points of continuing medical education)

22. 3rd annual congress on the prevention of disease and health promotion (Ermoupolis- Syros). Early diagnosis and adjustment of diabetes mellitus as a key factor in quality of life (28 - 30 September 2012)
23. 20th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Thessaloniki 2014- participation with 3 posters)- (points of continuing medical education)
24. 2nd National Congress "Aids & Hepatitis B and C". Athens, 19-21 September 2014 (points of continuing medical education)
25. Scientific Congress of Greek Haematology Society: Pregnancy and Haematology: A multifaceted connection (8-9 May 2015)
26. 3rd National Congress "Aids & Hepatitis B and C". Athens, 17-19 September 2015 (points of continuing medical education)
27. Postgraduate Athens Lymphoma Seminar. Athens 15 - 17 OCTOBER 2015. (points of continuing medical education)
28. 26th National conference of Haematology Greek Society (Athens: 12-14 November 2015- participation with oral presentation and with poster)
29. 22th scientific congress of medical school students of Greece (scientific company of medical school students of Greece, Patra May 2016- participation with 2 POSTER)- (15 (points of continuing medical education)
30. Clinical training in Hematology, Section-September 2016: "B-cell lymphomas low grade" - School-Foundation of Greek Company of Hematology (9-10 September 2016-Heraklion, Crete)
31. 3rd AEGEAN HEMATOLOGY ONCOLOGY SYMPOSIUM- (22-25 September 2016. Thessaloniki)
32. 1st National Conference of Gene Therapy and Regenerative Medicine - Greek Company of Gene Therapy and Regenerative Medicine (23-24 September 2016, Thessaloniki)

33. 27th National conference of Haematology Greek Society (Thessaloniki: 03-05 November 2016- participation with 3 posters)
34. Clinical training in Hematology, Section-April 2017: " Aggressive B-cell lymphomas: Histological diagnosis- Clinical Treatment- Clinical Concerns " - School-Foundation of Greek Company of Hematology- participation with oral presentation (28-29 April 2017-Alexandroupolis)
35. 14th International Conference on Malignant Lymphomas (14-ICML)- 25 Category 1 Esmo-Mora points [14-17 June 2017 (on June 13 Corporate Satellite Symposia and two workshops took place), Lugano-Switzerland]
36. Clinical training in Hematology, Section-September 2017: "Acute Myelogenous Leukemia-New Treatment Approaches" - School-Foundation of Greek Company of Hematology (15-16 September 2017-Heraklion, Crete)
37. 5th National Congress "Aids & Hepatitis B and C". Athens, September 2017 (points of continuing medical education)
38. Postgraduate Athens Lymphoma Seminar. Athens 12 - 14 October 2017.
39. Seminars in Bone Marrow Transplantation: At the cutting edge between Molecular and Cellular Therapy. (10-11 March 2018, Athens)
40. 28th National conference of Haematology Greek Society (Athens: 02-04 November 2017- participation with 4 posters)
41. Clinical training in Hematology, Section-April 2018: New Therapeutic Approaches- School-Foundation of Greek Company of Hematology- participation with oral presentation (20-21 April 2018-Alexandroupolis)
42. Clinical training in Hematology, Section-September 2018: Myelodysplastic Syndromes: New approaches- School-Foundation of Greek Company of Hematology (14-15 September 2018-Irakleion)
43. Hematological diagnosis and therapy. 19-20 October 2018. Participation as a Speaker

44. 29th National conference of Haematology Greek Society (Thessaloniki: 01-03 November 2018- participation with 3 posters)
45. New data in specific therapies in hematological disorders. 15-16 February 2019. Participation as a Speaker
46. 6th National congress of Greek Society of Technicians on medical laboratories (Athens, 29-31 March 2019). Participation as a Speaker
47. 9th scientific conference: 'Peaks on Internal Medicine' (Athens, 29-30 March 2019). Participation as a Speaker
48. Roche conference on Athenaeum Intercontinental for Non-Hodgkin lymphomas and their treatment. (Athens, 10 April 2019). Participation as a Speaker
49. The 24th European Hematology Association Congress. (Amsterdam, 13-16 June 2019)
50. Hematological and Oncological News. (Kalamata, 13-14 September 2019)
51. 5th International Conference Acute Myeloid Leukemia. (Estoril, 24-26 October 2019)
52. 30th National conference of Haematology Greek Society (Athens, 07-10 November 2019- participation with 2 posters)
53. Centre of Excellence - Challenges in CLL today. (Leeds, 20-21 November 2019)
54. New data in specific therapies in hematological disorders. 06-07 March 2020. Participation as a Speaker

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΓΙΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ

ΑΘΗΝΑ 2020

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1.Ζουμπουρλής Βασίλειος – Ερευνητής Α' Μοριακής Βιολογίας-Διευθυντής
Ερευνών, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα (Επιβλέπων)

2.Σουρβίνος Γεώργιος– Καθηγητής Κλινικής Ιολογίας, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Κρήτης

3.Αγγελάκη Σοφία- Επίκουρος Καθηγήτρια Παθολογικής Ογκολογίας, Ιατρική
Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αισθάνομαι την ανάγκη και την ηθική υποχρέωση να ευχαριστήσω θερμά όλους εκείνους που συνέβαλαν, στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής.

Τον κύριο Βασίλειο Ζουμπουρλή, Καθηγητή Μοριακής Βιολογίας- Διευθυντή Ερευνών- Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών Αθηνών, ως επιβλέποντα και για την ανάθεση της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας, αλλά και την επιστημονική εποπτεία, καθοδήγηση και γόνιμη κριτική καθ'όλη τη διάρκεια της εκπόνησής της.

Τον κύριο Γεώργιο Πετρίκκο, Καθηγητή Κλινικής Ιολογίας- Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης, για την συμβολή του και στήριξή του

Την κυρία Σοφία Αγγελάκη, Επίκουρο Καθηγήτρια Παθολογικής Ογκολογίας- Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης για τη συμβολή της και τη στήριξή της.

Ολοκληρώνοντας θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στη γυναίκα μου για την αγάπη και υποστήριξή της, καθώς και να αφιερώσω την εργασία μου στη νεογέννητη κόρη μου.

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή.

Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνία του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς διδάκτρα ή άλλη συμφωνία.

Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο.

Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη.

Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης.

Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα

τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά.

Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	2
ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ	20
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	21
ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ	22
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	24
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	26
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή στα NcRNAs και τα LncRNAs	28
1.1 NcRNAs: Ένα νέο είδος γονιδίου	28
1.2 Μικρά ncRNA	28
1.3 Μακρά ncRNAs (LcnRNAs)	32
1.2.1 Ορισμός των LncRNAs ως διακριτών μεταγραφών	33
1.3.2 Ταυτοποίηση Long ncRNAs (LncRNAs)	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Μακρά ncRNAs (LcnRNAs) στον καρκίνο	36
2.1 Εισαγωγικά	36
2.2 LncRNAs στην ογκογένεση και στην εξέλιξη του όγκου	36
2.2.1 Βλάβη DNA	37
2.2.2 Διαφυγή από το ανοσοποιητικό σύστημα	37
2.2.3 Μεταβολικές διαταραχές	38
2.3 LncRNAs εμπλεκόμενα σε μεταστατικό καρκίνο	40
2.4 Κατηγορίες LncRNAs που σχετίζονται με καρκίνο	42
2.4.1 LncRNAs ως Ογκογόνα	42
2.4.2 LncRNAs ως ρυθμιστές ογκογονιδίων	47
2.4.3 LncRNAs ως ογκοκαταστολείς	50
2.4.4 LncRNAs που ρυθμίζουν ογκοκατασταλτικά γονίδια	52

2.4.5 Άλλα Long ncRNAs σχετιζόμενα με καρκίνο	54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Χρήση των lncRNAs στη διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου	56
3.1 Διαγνωστικοί βιοδείκτες lncRNAs	56
3.2 Θεραπείες που βασίζονται σε lncRNAs	58
3.2.1 Αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs)	58
3.2.2 Τεχνική CRISPR / Cas9 για επεξεργασία του γονιδιώματος	59
3.2.3 Ίϊκοί φορείς	60
3.2.4 Νανοϊατρική	63
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Μελλοντικές κατευθύνσεις	66
4.1 Ορισμός του lncRNA ως συστατικό του ανθρώπινου γονιδιώματος	66
4.2 Διασαφήνιση του ρόλου των συντηρημένων lncRNAs	67
4.3 Προσδιορισμός σωματικών μεταλλάξεων των lncRNAs στον καρκίνο	68
4.4 Χαρακτηρισμός RNA-δομικών μοτίβων	69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	71
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	98
SUMMARY	100

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ένα κεντρικό ερώτημα στη βιολογία ήταν: Ποιες περιοχές του ανθρώπινου γονιδιώματος αποτελούν τα λειτουργικά του στοιχεία: αυτές που εκφράζονται ως γονίδια ή αυτές που λειτουργούν ως ρυθμιστικά στοιχεία; Στη δεκαετία του 1970 και του 1980, μέθοδοι πρώιμης κλωνοποίησης αποκάλυψαν περισσότερα από 7.000 ανθρώπινα γονίδια (1), αλλά στη δεκαετία του 1990 αναλύσεις μεγάλης κλίμακας έδειξαν ότι ο αριθμός των ανθρώπινων γονιδίων κυμαινόταν από 35.000 έως 100.000 (2). Η ολοκλήρωση του Παγκόσμιου Προγράμματος του Ανθρώπινου Γονιδιώματος περιόρισε σημαντικά τον αριθμό επισημαίνοντας τον εκπληκτικά μικρό αριθμό γονιδίων που δύνανται να κωδικοποιούν πρωτεΐνες, και τα οποία τώρα συμβατικά αναφέρονται ως αριθμός < 25.000. (3)

Ενώ ο αριθμός των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες εντοπίζεται μεταξύ 20.000-25.000, πρόσφατες μελέτες του ανθρώπινου μεταγραφώματος έχουν αποκαλύψει έναν εκπληκτικό αριθμό μη κωδικοποιητικών RNA (ncRNAs). Αυτά τα μεταγραφόμενα στοιχεία, τα οποία δεν έχουν την ικανότητα να κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη, είναι άφθονα σε όλους τους οργανισμούς που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα, από τη ζύμη έως τον άνθρωπο (4-6). Ωστόσο, κατά την τελευταία δεκαετία, πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι τα ncRNAs έχουν διαφορετικές βιολογικές λειτουργίες και λειτουργούν μέσω καθορισμένων μηχανισμών. Ωστόσο, η τεράστια αφθονία τους - ορισμένες αναφορές εκτιμούν ότι έως και το 70% του ανθρώπινου γονιδιώματος μεταγράφεται σε RNA (4) - προκάλεσε συζητήσεις σχετικά με το κατά πόσον η μεταγραφή ncRNAs αντικατοπτρίζει την αληθινή βιολογική πραγματικότητα. Σε αυτές τις μελέτες περιλαμβάνονται γενικά ερωτήματα σχετικά με το τι αποτελεί ανθρώπινο γονίδιο, τι διακρίνει ένα γονίδιο από μια περιοχή που μεταγράφεται απλά και πώς ερμηνεύουμε τη βιολογική έννοια της μεταγραφής.

Οι σύγχρονες εξελίξεις στη Βιολογία έχουν συνδυαστεί με διορατικές ανακαλύψεις που αναλύουν το ρόλο των μη κωδικοποιητικών RNAs [ncRNAs (non-coding RNAs)] στις ανθρώπινες ασθένειες, ειδικά στον καρκίνο, υποστηρίζοντας τη σημασία των κυτταρικών τους λειτουργιών (7,8). Τα αρχικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι τα ncRNAs, ιδιαίτερα τα μακρά ncRNAs (lncRNA), έχουν βασικούς ρόλους στην ογκογένεση (7) και ότι η μεσολαβούμενη από

lncRNA βιολογία κατέχει κεντρική θέση στην εξέλιξη του καρκίνου (9). Με τον αριθμό των καλώς χαρακτηρισμένων lncRNAs που σχετίζονται με τον καρκίνο να αυξάνεται, η μελέτη των lncRNAs στον καρκίνο δημιουργεί τώρα νέες υποθέσεις σχετικά με τη βιολογία των καρκινικών κυττάρων. Στην παρούσα εργασία κάνουμε μια αναθεώρηση της τρέχουσας κατανόησης των ncRNA στον καρκίνο, με ιδιαίτερη έμφαση στα lncRNAs ως νέους οδηγούς της ογκογένεσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή στα NcRNAs και τα LncRNAs

Είναι πλέον καλά αναγνωρισμένο ότι πάνω από το 75% του ανθρώπινου γονιδιώματος μεταγράφεται, ωστόσο, μόνο το 2% περίπου αυτής του μεταγράφου αντιπροσωπεύει δυναμικό κωδικοποιήσιμων πρωτεϊνών (1). Οι βελτιώσεις στη μελέτη της γονιδιωματικής με τεχνολογίες υψηλής απόδοσης οδήγησαν στην ανακάλυψη πολυάριθμων μεταγράφων μη κωδικοποιήσιμων RNAs σε πολλές περιοχές του γονιδιώματος που δεν είχαν περιγραφεί προηγουμένως.

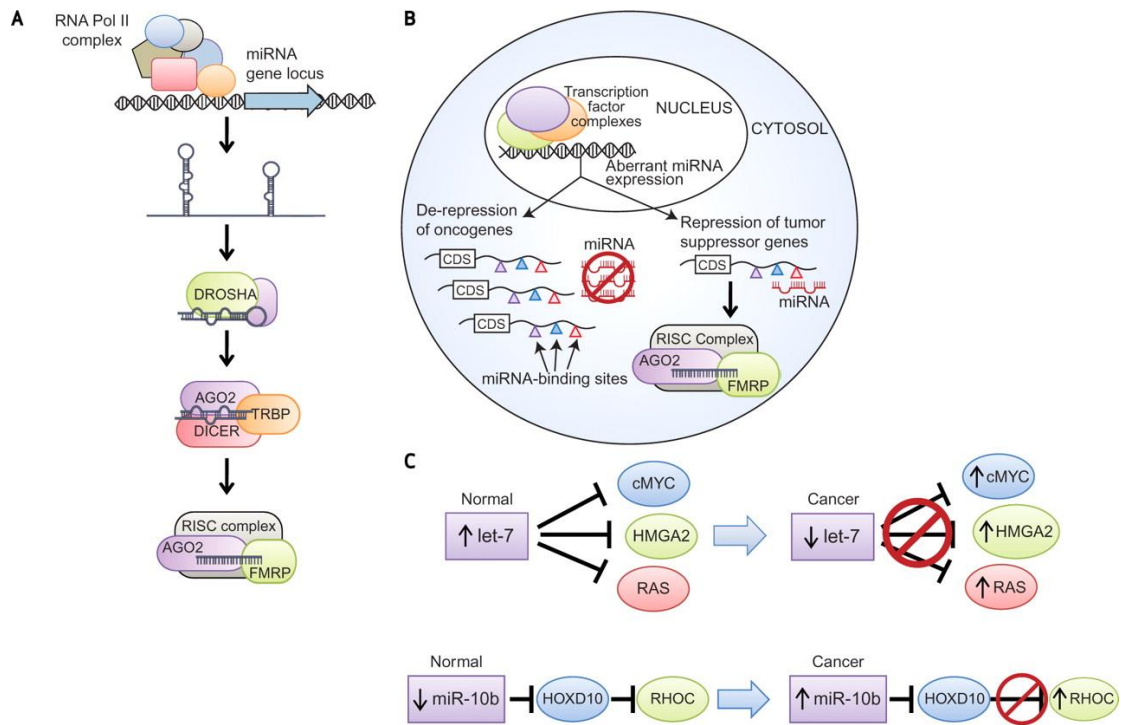
1.1 NcRNAs: Ένα νέο είδος γονιδίου

Τα ncRNAs (μη κωδικοποιήσιμα RNAs) είναι RNA μετάγραφα που δεν κωδικοποιούν για πρωτεΐνη. Κατά την τελευταία δεκαετία, παρατηρήθηκε μεγάλη ποικιλία ncRNAs. Ανάλογα με τον τύπο του ncRNA, η μεταγραφή μπορεί να πραγματοποιηθεί από οποιαδήποτε από τις τρεις πολυμεράσες RNA (RNA Pol I, RNA Pol II ή RNA Pol III). Η γενική κατηγοριοποίηση χωρίζει τα ncRNAs σε δύο κύριες κατηγορίες: τα μικρά ncRNAs <200 bp και τα lncRNAs > 200 bp. (10) Σε αυτές τις δύο κατηγορίες, υπάρχουν επίσης πολλές μεμονωμένες κατηγορίες ncRNAs.

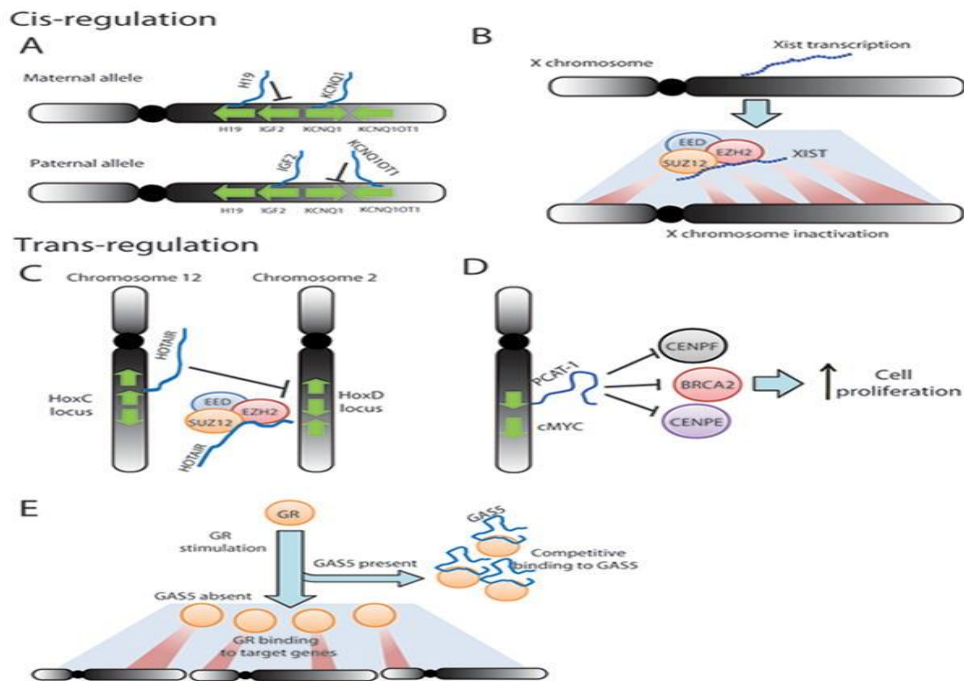
1.2 Μικρά ncRNA

Η ποικιλότητα των μικρών ncRNAs έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια, με αρκετές δεκάδες τάξεων μικρών ncRNAs να έχουν προταθεί. (10,11) Αυτά περιλαμβάνουν τα συντηρητικά (housekeeping) ncRNAs [μεταφορικά RNAs (tRNAs) και κάποια ριβοσωμικά RNAs (rRNAs)] -απαραίτητα για θεμελιώδεις αρχές της κυτταρικής βιολογίας-, τα μικρά πυρηνικά (snRNAs), και μια ποικιλία από προσφάτως παρατηρηθέντα RNAs που σχετίζονται με μεταγραφή γονιδίων που κωδικοποιούν για πρωτεΐνες, όπως μικροσκοπικά RNAs έναρξης μεταγραφής, βραχεία RNAs που σχετίζονται με υποκινητές γονιδίων, βραχεία RNAs που σχετίζονται με τερματισμό της μεταγραφής, RNAs από την 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή (UTR) που προέρχονται από RNA και βραχεία antisense-RNAs που σχετίζονται με τερματισμό της μεταγραφής. (10)

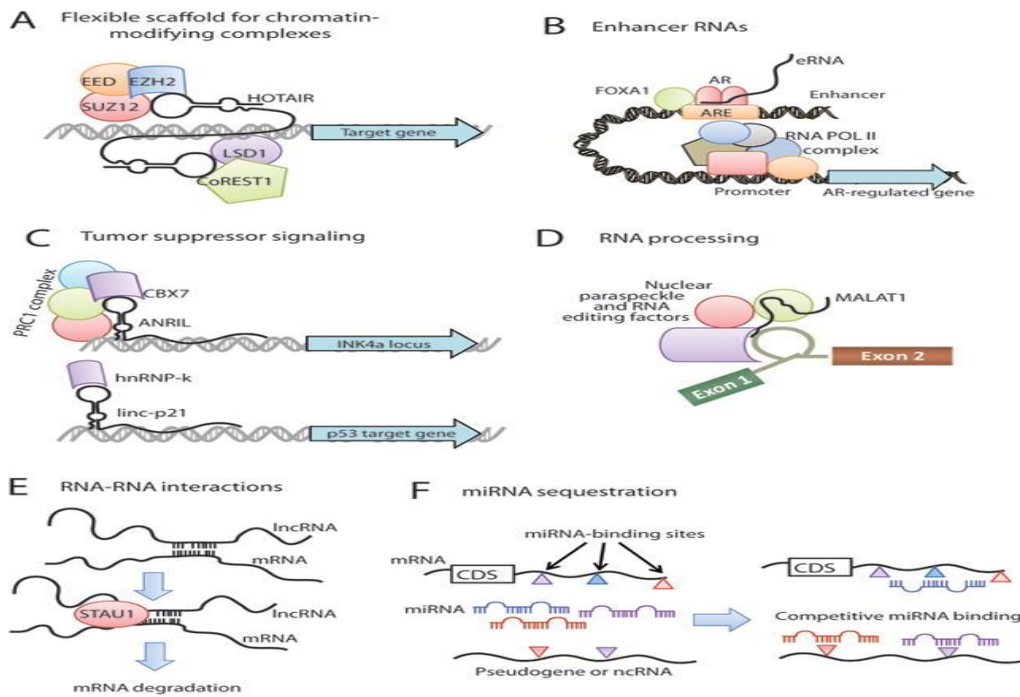
Μέχρι σήμερα, τα μικρότερα σε μέγεθος μελετημένα μικρά RNAs στον καρκίνο είναι τα microRNAs (miRNAs). Στοχευμένες μελέτες τα τελευταία 15 χρόνια έχουν καθορίσει ένα περίπλοκο βασικό μηχανισμό για την αποσιώπηση της έκφρασης ενός γονιδίου-στόχου που προκαλείται από miRNAs μέσω του συμπλόκου αποσιώπησης που προκαλείται από το RNA-επαγώμενο σύμπλοκο αποσιώπησης (RISC), το οποίο χρησιμοποιεί πρωτεΐνες της οικογένειας Argonaute (όπως η AGO2) για το μάτισμα μεταγραφών-στόχων mRNAs ή την αναστολή της μετάφρασης αυτών των mRNAs (**Εικόνα 1.1**). (12) Τα πρότυπα έκφρασης των miRNAs στον καρκίνο έχουν τεκμηριωθεί καλά στους περισσότερους τύπους όγκων (**Εικόνα 1.2**), και λεπτομερείς έρευνες από πολλά εργαστήρια έχουν αναδείξει πολλά miRNAs, συμπεριλαμβανομένων των miR-10b, let-7, miR-101 και το σύμπλοκο miR-15a-16-1, που διαθέτουν ογκογονικές ή κατασταλτικές λειτουργίες έναντι των όγκων (**Εικόνα 1.3**). (12)



Εικόνα 1.1. Οδοί που ενεργοποιούνται από miRNAs στον καρκίνο. **A.** Η μεταγραφή των miRNAs επιτυγχάνεται συνήθως από την RNA πολυμεράση II, δημιουργώντας ένα πρωτεύον μετάγραφο προ-miRNA. Το προ-miRNA υποβάλλεται σε επεξεργασία με το DROSHA και διασπάται από το DICER για να δημιουργήσει ένα ώριμο miRNA, το οποίο στη συνέχεια συνδέεται με πρωτεΐνες της οικογένειας Argonaute σε RNA-επαγόμενο σύμπλοκο αποσιώπησης (RISC) για να επιτευχθεί έλεγχος της έκφρασης ενός γονιδίου. **B.** Στον καρκίνο, τα ανώμαλα επίπεδα έκφρασης των miRNAs μπορούν να οδηγήσουν είτε στην καταστολή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων (συνήθως όταν τα επίπεδα ενός miRNA είναι αυξημένα) είτε σε απελευθέρωση των ογκογονιδίων (συνήθως όταν τα επίπεδα ενός miRNA είναι μειωμένα). Τα χρωματιστά τρίγωνα δείχνουν διαφορετικές θέσεις δέσμευσης των miRNAs στο 3' UTR ενός mRNA που κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη. **Γ.** Δύο παραδείγματα miRNAs σε καρκίνο είναι το let-7, του οποίου η έκφραση στον καρκίνο μειώνεται και συμβάλλει στη ρύθμιση ογκογονιδίων όπως το *cMYC*, και το miR-10b, του οποίου η έκφραση αυξάνεται υπερβολικά σε μεταστατικούς καρκίνους και έμμεσα ρυθμίζει την έκφραση του *RHOC*. (12)



Εικόνα 1.2. Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης από τα LncRNAs. **A και B:** η cis-ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης οδηγεί σε τοπικό έλεγχο παρακείμενων γονιδίων ή γονιδίων στο ίδιο χρωμόσωμα, μεταγραφή LncRNA. **A.** Τα H19 και KCNQ1OT1 είναι αποτυπωμένα LncRNAs στο χρωμόσωμα 11 που συνδέονται με την αλληλομορφική έκφραση των IGF2 και KCNQ1. **B.** Η μεταγραφή του XIST διευκολύνει την απενεργοποίηση ενός μεμονωμένου χρωμοσώματος X σε γυναίκες με τη στρατολόγηση της PRC2. **C και D.** Η trans-ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης οδηγεί σε έλεγχο απομακρυσμένων γονιδίων στο γονιδίωμα. **C.** Η HOTAIR μεταγράφεται από το σύμπλεγμα HoxC στο χρωμόσωμα 12 αλλά καταστέλλει την περιοχή HoxD μέσω επιγενετικών τροποποιήσεων που ενεργοποιούνται από την PRC2. **D.** Η PCAT-1 μεταγράφεται από το χρωμόσωμα 8 αλλά ρυθμίζει γονίδια-στόχους όπως BRCA2, CENPE και CENPF, επηρεάζοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. **E.** Το GAS5 lncRNA δεσμεύεται στο GR και το δεσμεύει, αποτρέποντας την υπερβολικά αυξημένη έκφραση GR-γονιδίων στόχων σε ολόκληρο το γονιδίωμα. Οι μπλε γραμμές αντιπροσωπεύουν το μετάγραφο του GAS5. (12)



Εικόνα 1.3. Μηχανισμοί της λειτουργίας των LncRNA. **A.** Τα LncRNA, όπως το *HOTAIR*, μπορούν να χρησιμεύσουν ως βάση για τον συντονισμό λειτουργίας επιγενετικών συμπλόκων ή συμπλόκων τροποποίησης των ιστόνων, συμπεριλαμβανομένων των κατασταλικών συμπλόκων Polycomb και LSD1 / CoREST. **B.** Τα eRNA που μεταγράφονται από ενισχυτές γονιδίων μπορούν να διευκολύνουν τη σηματοδότηση ορμονών συνεργαζόμενων με ειδικά σύμπλοκα όπως τα FOXA1 και AR. **C.** Τα LncRNAs μπορούν να επηρεάσουν άμεσα την καταστολή του όγκου είτε μέσω μεταγραφικής ρύθμισης των γονιδίων καταστολής όγκου μέσω επιγενετικής σίγασης (π.χ. *ANRIL*, πάνω μέρος) ή με τη μεσολάβηση ενεργοποίησης των γονιδίων-στόχων καταστολής του όγκου (π.χ. *linc-p21*, κάτω μέρος). **D.** Το *MALAT1* LncRNA μπορεί να αποτελεί αναπόσπαστο συστατικό στον κυτταρικό πυρήνα και μπορεί να συμβάλει στην μετα-μεταγραφική επεξεργασία των mRNA. **E.** Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μπορεί να συμβεί μέσω άμεσων αλληλεπιδράσεων μεταξύ LncRNA-mRNA που προκύπτουν από τον υβριδισμό ομόλογων αλληλουχιών και μπορούν να χρησιμεύσουν ως σήμα για την μεσολαβούμενη από την STAU1 αποδόμηση του mRNA. **F.** Τα μόρια RNA, συμπεριλαμβανομένων των mRNAs, των ψευδογονιδίων και των ncRNAs, μπορούν να χρησιμεύσουν ως μοριακοί στόχοι για τα miRNAs. Αυτό δημιουργεί ένα περιβάλλον ανταγωνιστικής δέσμευσης των miRNAs για την επίτευξη ελέγχου έκφρασης ενός γονιδίου με βάση τον βαθμό δέσμευσης του miRNA σε κάθε μετάγραφο. Τα χρωματιστά τρίγωνα αντιπροσωπεύουν διαφορετικές θέσεις δέσμευσης του miRNA σε ένα μετάγραφο. CDS. κωδικοποιητική ακολουθία. (12)

1.3 Μακρά ncRNAs (LncRNAs)

Πρόσφατες παρατηρήσεις νέων ειδών μακρών ncRNAs οδήγησαν στην ανάπτυξη ενός πολύπλοκου συνόλου όρων και ορολογιών που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή ενός δεδομένου μακρού ncRNA. Αυτά περιλαμβάνουν τα αντιπληροφοριακά RNA, τα οποία μεταγράφονται από τον αντίθετο κλώνο από αυτόν ενός γονιδίου που κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη και συχνά επηρεάζουν αυτό το γονίδιο (14), μεταγραφείσες υπερδιατηρημένες περιοχές (T-UCRs), οι οποίες προέρχονται από περιοχές του γονιδιώματος που παρουσιάζουν αξιοσημείωτες συντηρητικές ακολουθίες μεταξύ των ειδών, και ncRNAs που προέρχονται από μεταγραφή των ιντρονίων.

Παρόλο που πολλά είδη RNAs έχουν μήκος > 200 bp, όπως μετάγραφα επαναλαμβανόμενων ακολουθιών και μετάγραφα ψευδογονιδίων (15), ο συντετμημένος όρος lncRNA (αναφέρεται επίσης ως linRNAs, για μακρά διαγονιδιακά ncRNAs) δεν χρησιμοποιείται με τον ίδιο τρόπο για όλα αυτά (Πλαίσιο 1). Αν και η ονοματολογία εξακολουθεί να εξελίσσεται, ο όρος LncRNA αναφέρεται τυπικά σε ένα πολυαδενυλιωμένο μακρύ ncRNA που μεταγράφεται από την RNA πολυμεράση II και σχετίζεται με επιγενετικές υπογραφές κοινές στα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, όπως: η τριμεθυλίωση στη θέση της λυσίνης 4 της ιστόνης 3 (H3K4me3) στη θέση έναρξης της μεταγραφής (TSS) και τριμεθυλίωση στη θέση της λυσίνης 36 της ιστόνης 3 (H3K36me3) σε όλο το γονίδιο. (16) Αυτή η περιγραφή ταιριάζει επίσης σε πολλά T-UCRs και ορισμένα αντιπληροφοριακά RNAs, και η αλληλεπικάλυψη μεταξύ αυτών των κατηγοριών μπορεί να είναι σημαντική. Τα lncRNAs επίσης συνήθως εμφανίζουν μάτισμα πολλαπλών εξονίων σε ένα ώριμο μετάγραφο, όπως και πολλά αντιπληροφοριακά RNAs (antisense RNAs), αλλά όχι RNA που μεταγράφονται από περιοχές ενισχυτών γονιδίων (eRNA) ή T-UCRs (17-19). Η μεταγραφή των LncRNAs πραγματοποιείται από έναν ανεξάρτητο υποκινητή γονιδίου και δεν συνδέεται με τη μεταγραφή ενός παρακείμενου ή σχετικού γονικού γονιδίου, όπως συμβαίνει με ορισμένες κατηγορίες ncRNAs (RNAs που σχετίζονται με περιοχή υποκινητή / τερματισμού της μεταγραφής, ncRNAs ιντρονίων) (10).

1.3.1 Ορισμός των LncRNAs ως διακριτών μεταγραφών

Επί του παρόντος, τα LncRNAs (Long non-coding RNAs) εμφανίζονται ως θεμελιώδης πτυχή της βιολογίας. Ωστόσο, πρόσφατες εκτιμήσεις ότι έως και το 70% του ανθρώπινου γονιδιώματος μπορεί να μεταγραφεί έχουν περιπλέξει την ερμηνεία της έννοιας της μεταγραφής του DNA. Αν και ορισμένοι ερευνητές έχουν ισχυριστεί ότι πολλά από τα μεταγραφόμενα RNAs ενδέχεται να αντικατοπτρίζουν το βασικό μεταγραφικό σύστημα στα κύτταρα των θηλαστικών, τα LncRNAs δεν ανήκουν σε αυτή την κατηγορία λόγω της έντονα καθορισμένης ταυτότητάς τους. Έχουν δειχθεί πολλά κοινά χαρακτηριστικά των LncRNA που επιβεβαιώνουν τη βιολογική τους ταυτότητα:

- Επιγενετική ρύθμιση όπως σε ένα μεταγραφέν γονίδιο (H3K4me3 στον γονιδιακό υποκινητή, H3K36me3 σε όλο το γονίδιο)
- Μεταγραφή μέσω RNA πολυμεράσης II
- Πολυαδενυλίωση
- Συχνό μάτισμα πολλαπλών εξονίων μέσω συγκεκριμένων μοτίβων
- Ρύθμιση από τους κλασικούς μεταγραφικούς παράγοντες
- Συχνή έκφραση με ιστοειδικό τρόπο

1.3.2 Ταυτοποίηση Long ncRNAs (LncRNAs)

Πολλά αρχικά LncRNAs, όπως τα *XIST* και *H19*, ανακαλύφθηκαν τη δεκαετία του 1980 και του 1990 αναζητώντας βιβλιοθήκες cDNA για ενδιαφέροντες κλώνους (20,21). Σε αυτές τις μελέτες, η πρόθεση ήταν γενικά να εντοπιστούν νέα γονίδια σημαντικά σε μια συγκεκριμένη βιολογική διαδικασία - απενεργοποίηση του χρωμοσώματος X στο παράδειγμα του *XIST*- μελετώντας τα πρότυπα έκφρασης τους. Εκείνη την εποχή, τα περισσότερα από τα γονίδια που ανακαλύφθηκαν κωδικοποιούσαν για πρωτεΐνες, και αυτό έτεινε να είναι η υπόθεση, με μερικές εξαιρέσεις, όπως το *XIST*, τα οποία στη συνέχεια προσδιορίστηκαν ότι δεν είναι κωδικοποιούντα (ως δευτερεύουσα παρατήρηση). (20)

Ωστόσο, κατά την τελευταία δεκαετία, οι αναλύσεις μεγάλης κλίμακας έχουν επικεντρωθεί στην πλήρη αναγνώριση ειδών ncRNAs. Σε όλη αυτή την

αλλαγή, δραματικές εξελίξεις έχουν διαδραματίσει οι τεχνολογίες υψηλής απόδοσης, συμπεριλαμβανομένων των DNA μικροσυστοιχιών και της RNA-αλληλούχησης (RNA-Seq) (9, 22-25). Αυτές οι πλατφόρμες παρέχουν συστήματα με τα οποία η μεταγραφή του RNA μπορεί να παρατηρηθεί με αμερόληπτο τρόπο και έτσι τονίζει τη διεισδυτική μεταγραφή των ncRNAs στην κυτταρική βιολογία. (Πλαίσιο 2) Επιπλέον, ενώ οι συμβατικές μικροσυστοιχίες cDNA ανίχνευαν μόνο τα μετάγραφα που αντιπροσωπεύονταν από ανιχνευτές στις μικροσυστοιχίες, η εισαγωγή και η διάδοση της RNA-Seq ως τυπικού εργαλείου σε μεταγραφικές μελέτες έχει υπερσκελίσει πολλά εμπόδια στην ανίχνευση όλων των μορφών RNA-μεταγραφών (9,26). Μελέτες μέσω RNA-Seq δείχνουν τώρα ότι υπάρχουν αρκετές χιλιάδες μη χαρακτηρισμένα LncRNAs σε οποιονδήποτε δεδομένο τύπο κυτάρου (9,16), και μεγάλης κλίμακας αναλύσεις LncRNAs στα βλαστοκύτταρα υποδηλώνουν ότι τα LncRNAs μπορεί να αποτελούν αναπόσπαστο συστατικό της δομικής και κυτταρικής βιολογίας (27). Επειδή έχει παρατηρηθεί ότι πολλά LncRNAs εμφανίζουν ιστοειδική έκφραση, οι ερευνητές εικάζουν ότι το ανθρώπινο γονιδίωμα μπορεί να φιλοξενεί σχεδόν τόσα LncRNAs, όσα είναι τα γονίδια που κωδικοποιούν για πρωτεΐνες (περίπου 15.000 lncRNA), αν και μόνο ένα κλάσμα εκφράζεται σε δεδομένο τύπο κυτάρου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Μακρά ncRNAs (LncRNAs) στον καρκίνο

2.1 Εισαγωγικά

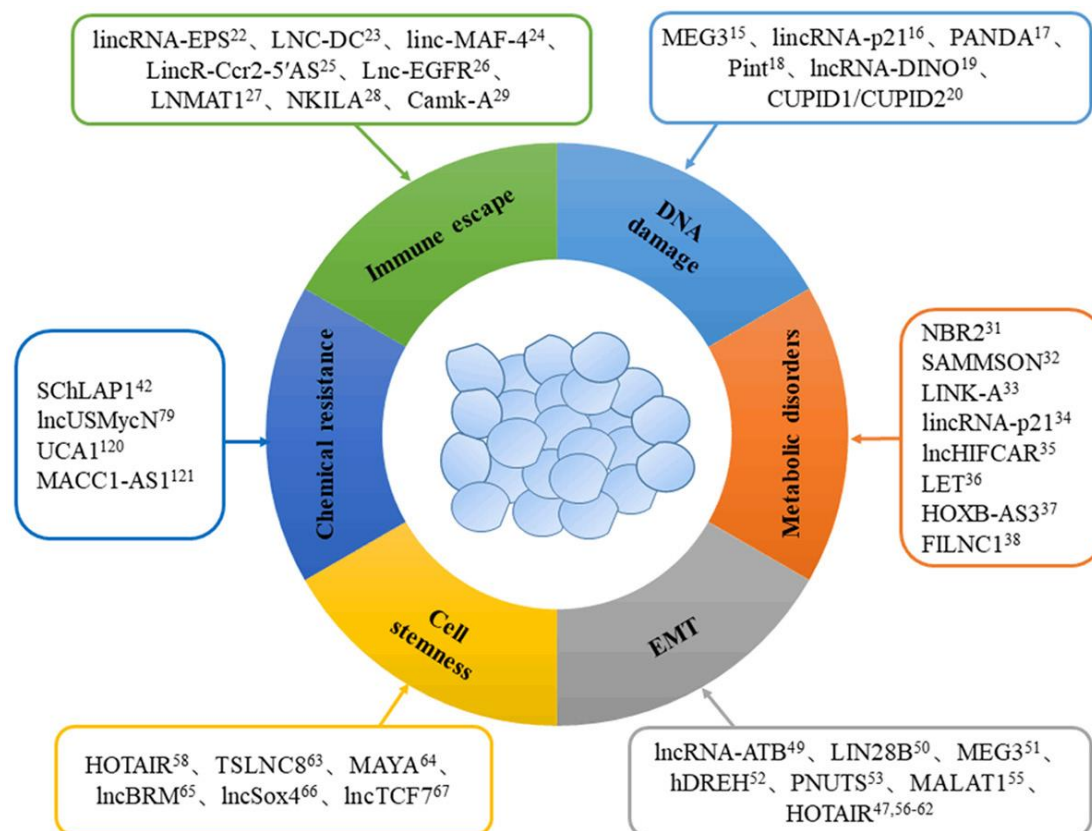
Ο καρκίνος συγκαταλέγεται στις πιο απειλητικές για τη ζωή ασθένειες και η νοσηρότητα και η θνησιμότητα που σχετίζονται με αυτόν, κατατάσσονται ως πρώτη ή δεύτερη μεταξύ των μη μεταδοτικών ασθενειών. (28) Σύμφωνα με τα νεότερα παγκόσμια στοιχεία για τον καρκίνο από το 2018, η νοσηρότητα και η θνησιμότητα του καρκίνου αυξάνονται κάθε χρόνο με την ταχεία αύξηση του πληθυσμού και το πρόβλημα της γήρανσης του πληθυσμού. Ο αριθμός των θανάτων από καρκίνο παγκοσμίως έφτασε τα 9,55 εκατομμύρια, με ποσοστό επίπτωσης 18,08 εκατομμύρια. (29) Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, έχει επιτευχθεί μεγάλη επιτυχία στη θεραπεία του καρκίνου. Ωστόσο, ο χρόνος επιβίωσης των περισσότερων καρκινοπαθών είναι ακόμα μικρός, ειδικά εκείνος των καρκινοπαθών με μεταστάσεις. Υπάρχει επείγουσα ανάγκη να κατανοήσουμε περισσότερα σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν την εξέλιξη του καρκίνου και να αναπτύξουν πιο αποτελεσματικές κλινικές στρατηγικές για τη θεραπεία του καρκίνου.

Αναδυόμενα στοιχεία δείχνουν ότι τα LncRNAs αποτελούν σημαντικό συστατικό της βιολογίας του όγκου. Η μη ρυθμιζόμενη έκφραση των LncRNAs στον καρκίνο σηματοδοτεί το φάσμα της εξέλιξης της νόσου (30) και μπορεί να χρησιμεύσει ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την κλινική πορεία των ασθενών. Τα περισσότερα καλά χαρακτηρισμένα LncRNAs μέχρι σήμερα δείχνουν λειτουργικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, συνήθως τόσο στη μεταγραφική και όχι στη μετα-μεταγραφική ρύθμιση. Αυτό μπορεί να συμβεί στοχεύοντας είτε παρακείμενα γονίδια (*cis*-ρύθμιση), είτε απομακρυσμένα γονίδια (*trans*-ρύθμιση). Πρόσφατα, ένας νέος τύπος μακρών ncRNAs σε ενισχυτές γονιδίων, που ονομάζονται eRNAs, φαίνεται να εμπλέκεται στη μεταγραφική ρύθμιση (31).

2.2 LncRNAs στην ογκογένεση και στην εξέλιξη του όγκου

Η ογκογένεση δεν χαρακτηρίζεται μόνο από την απεριόριστη αύξηση των καρκινικών κυττάρων, αλλά περιλαμβάνει επίσης πολλές βιολογικές διεργασίες, όπως: γονιδιωματική μετάλλαξη, βλάβη στο DNA, διαφυγή του ανοσοποιητικού συστήματος και μεταβολική διαταραχή. Τα LncRNAs

κατανέμονται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτόπλασμα και χρησιμεύουν ως σημαντικοί μετα-μεταγραφικοί μεταφραστικοί ρυθμιστές σε αυτές τις διαδικασίες.



Εικόνα 2.1. LncRNAs συμμετέχοντα στην ογκογένεση και κατά την μετάσταση του όγκου. Χωρίζονται σε έξι υπότυπους: α) Διαφυγή του ανοσοποιητικού συστήματος, β) βλάβη στο DNA, γ) μεταβολικές διαταραχές, δ) EMT, ε) κύτταρο, στ) χημική αντίσταση. (32)

2.2.1 Βλάβη DNA

Η βλάβη του DNA που προκαλείται από εξωγενείς παράγοντες και χημικές ουσίες ή ο μη φυσιολογικός κυτταρικός εντοπισμός του, θα μπορούσε να μεταδίδει επικίνδυνα σήματα στα κύτταρα (32) (**Εικόνα 2.1**). Η συσσωρευτική βλάβη στο DNA είναι ένα από τα σημεία εξέλιξης του όγκου. Πολλά μόρια συμμετέχουν στη δημιουργία ή την αναστολή της βλάβης του DNA.

Το p53, το οποίο έχει μελετηθεί εκτενώς ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο, παίζει σημαντικό ρόλο στη βλάβη του DNA. Το LncRNA MEG3 ενεργοποιεί το

p53 για να ασκήσει αντικαρκινική δράση. (33) Πολλά άλλα LncRNAs σχετίζονται με τις μεταγενέστερες δραστηριότητες του p53 (34-36). Όταν το DNA έχει υποστεί βλάβη, η μεταγραφή του μη κωδικοποιημένου προκαλούμενου από βλάβη LncRNA (DINO) ενεργοποιείται μέσω του p53, ελέγχοντας έτσι την απόκριση του κυτταρικού στρες μετά από βλάβη στο DNA. (37) Επιπλέον, η ειδική έκφραση του LncRNA-DINO ενεργοποιεί τη φθίνουσα πορεία σηματοδότησης και τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου απουσία βλάβης στο DNA (38) (**Εικόνα 2.1**). Επιπλέον, τα LncRNA-CCND1-upstream διαγονιδιακά ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA- 1 και 2 (CUPID1 και CUPID2) περιλαμβάνονται στην εξέλιξη του καρκίνου του μαστού με ρύθμιση της απόκρισης του κυτταρικού στρες σε βλάβη του DNA (39). Αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι τα LncRNAs ανταποκρίνονται στη βλάβη του DNA και μπορεί να εμπλέκονται στην επιδιόρθωση του DNA, το οποίο είναι θεμελιώδες ζήτημα για την καρκινογένεση.

2.2.2 Διαφυγή από το ανοσοποιητικό σύστημα

Η διαφυγή του ανοσοποιητικού συστήματος θεωρείται από καιρό ως ένα από τα χαρακτηριστικά εξέλιξης του καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να επηρεάσουν καταλλήλως τα μακροφάγα και τα T-ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs), σχηματίζοντας ένα αδιαπέραστο «εμπόδιο», για να ξεφύγουν από την απειλή των T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων. Τα LncRNAs έχουν τεκμηριωθεί να εμπλέκουν τις έμφυτες και επίκτητες αποκρίσεις του ανοσοποιητικού συστήματος διαμορφώνοντας την λειτουργική κατάσταση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (40-44). Για παράδειγμα, το lnc-EGFR προήγαγε τη διαφυγή των ηπατοκυτταρικών καρκινικών κυττάρων από την ανοσία του οργανισμού, διεγείροντας τη διαφοροποίηση των T-ρυθμιστικών κυττάρων (Tregs) (45). Στο μικροπεριβάλλον του όγκου, τα μακροφάγα που σχετίζονται με τον όγκο εμφανίζουν περιορισμένη φαγοκυτταρική λειτουργία και προάγουν την πρόοδο του καρκίνου. Το LncRNA μετάγραφο-1 (LNMAT1) που σχετίζεται με τις λεμφαδενικές μεταστάσεις και συμμετέχει στη ρύθμιση διαμέσου του CCL2 στρατολόγηση των μακροφάγων στον όγκο. (46) (**Εικόνα 2.1**)

Τα ογκοειδικά κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα (CTLs) και τα βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα (TH1) τύπου 1, ένα lncRNA (NKILA) που αλληλεπιδρά με τον NF-κΒ μπορεί να ενισχύσει την ευαισθησία των Τ-λεμφοκυττάρων στο μέσω ενεργοποίησης επαγόμενο κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από την μηχανική αναστολή του NF-κΒ μονοπατιού σηματοδότησης (47). Επιπλέον, το lncRNA CamK-A συμμετέχει στην αναδιαμόρφωση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου μέσω της ενεργοποίησης του μονοπατιού σηματοδότησης που ελέγχεται από το Ca²⁺.(48) **(Εικόνα 2.1)**

Συνολικά, αυτές οι ενδείξεις υποδηλώνουν ότι τα lncRNAs μπορεί να είναι βασικοί ρυθμιστές στην αναδιαμόρφωση του ανοσιακού μικροπεριβάλλοντος του όγκου.

2.2.3 Μεταβολικές διαταραχές

Οι κυτταρικές μεταβολικές διαταραχές αποτελούν από τα εμφανέστερα χαρακτηριστικά του καρκίνου. Οι μη φυσιολογικές κυτταρικές μεταβολικές διεργασίες όχι μόνο παρέχουν ενέργεια για τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, αλλά επίσης διατηρούν την κυτταρική ομοιόσταση αναστέλλοντας την παραγωγή οξειδωτικών ριζών. Συγκεκριμένα, η αναλογία των κυτταρικών μεταβολιτών ATP / AMP μεταβάλλεται από διάφορες διεγέρσεις. Το ενεργειακό στρες μπορεί να αυξήσει την αναλογία AMP / ATP που ενεργοποιεί την AMP-εξαρτώμενη πρωτεϊνική κινάση (AMPK). (49) **(Εικόνα 2.1)**

Υπό ενεργειακό στρες, το lncRNA του BRCA1 γονιδίου-2 (NBR2) ενεργοποίησε την AMPK μέσω άμεσης σύνδεσης με αυτήν. Η απενεργοποίηση του lncRNA-NBR2 οδηγεί σε διαταραχές του μεταβολισμού των κυττάρων και στη συνέχεια στην ενεργοποίηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. (50) Τα μιτοχόνδρια αποτελούν το ενεργειακό μεταβολικό κέντρο του κυττάρου και η ομοιόστασή τους επηρεάζεται επίσης από τα lncRNA. Το lncRNA-SAMMSON δεσμεύεται στην κύρια μιτοχονδριακή ρυθμιστική πρωτεΐνη-p32 σε κύτταρα μελανώματος και ενισχύει τη λειτουργία τους, προάγοντας τον καρκίνο. (51) **(Εικόνα 2.1)**

Επιπλέον, η γλυκόλυση που αντικαθιστά την οξειδωτική φωσφορυλίωση είναι ο κύριος τρόπος παραγωγής ενέργειας στα καρκινικά

κύτταρα. Ο επαγωγίμος από υποξία παράγοντας 1-άλφα (HIF-1α) παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτήν τη διαδικασία. Πρόσφατες μελέτες ανέφεραν αλληλεπίδραση μεταξύ των HIF-1α και lncRNAs. Το μακρύ διαγονιδιακό lncRNA για την ενεργοποίηση της κινάσης (LINK-A) ρυθμίζει τη φωσφορυλίωση του HIF-1α, διατηρώντας τη σταθερότητά του και ενεργοποιώντας το μεταγραφικό πρόγραμμα του HIF-1α για την προαγωγή της ογκογένεσης στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (TNBC). (52) Ο HIF-1α ρυθμίζει την έκφραση του lncRNA-p21 και συμμετέχει στην ογκογενετική δημιουργία μέσω του φαινομένου Warburg. (53) Το μακρύ μη κωδικοποιητικό συνενεργοποιητικό του HIF-1α RNA (LncHIFCAR) είναι ένας συν-ενεργοποιητής του HIF-1α, που οδηγεί στην εξέλιξη του καρκίνου του στόματος. (54) **(Εικόνα 2.1)**

Η αντίδραση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης αναστέλλεται κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού των όγκων και το ATP σχηματίζεται κυρίως από τη διάσπαση του πυροσταφυλικού οξέος από την γαλακτική αφυδρογονάση, δημιουργώντας ένα μικροπεριβάλλον υποξίας στο εσωτερικό του όγκου. Σε ένα υποξικό περιβάλλον, η δεακετυλάση της ιστόνης-3 αναστέλλει την έκφραση των χαμηλής έκφρασης lncRNA στον όγκο (LET), μειώνοντας την ακετυλίωση των ιστονών στην περιοχή του υποκινητή του lncRNA-LET; και η χαμηλή έκφραση του lncRNA-LET αποτελεί ένα βασικό βήμα στη σταθεροποίηση του πυρηνικής πρωτεΐνης του παράγοντα 90, προάγοντας έτσι την είσοδο των καρκινικών κυττάρων. (55) **(Εικόνα 2.1)**

Επιπλέον, το lncRNA HOXB-AS3 συμμετέχει στον μεταβολισμό του καρκίνου επηρεάζοντας την έκφραση ενός διατηρημένου πεπτιδίου 53-αμινοξέων (56), ενώ το lncRNA επαγόμενο από το FoxO μακρό μη κωδικοποιητικό RNA 1 (FILNC1) λειτουργεί ως καταστολέας του όγκου. Η μειωμένη ρύθμιση του FILNC1 ενισχύει το μεταβολισμό της γλυκόζης και την παραγωγή του γαλακτικού οξέος αυξάνοντας την έκφραση του c-Myc. (57) **(Εικόνα 2.1)**

Αυτές οι ενδείξεις υποδηλώνουν ότι τα lncRNAs εμπλέκονται σε πολλές πτυχές του μεταβολισμού των κυττάρων, όπως την παραγωγή ATP, το υποξικό περιβάλλον και τη ρύθμιση των επιπτώσεων του φαινομένου Warburg. Επομένως, αυτά τα lncRNAs μπορούν να χρησιμεύσουν ως πιθανοί

θεραπευτικοί στόχοι μέσω της αναστολής της παραγωγής ενέργειας στα κύτταρα του όγκου και του επαναπρογραμματισμού του μικροπεριβάλλοντος ανάπτυξης του όγκου.

2.3 LncRNAs εμπλεκόμενα σε μεταστατικό καρκίνο

Η μετάβαση μέσω επιθηλιακών μεσεγχυματικών κυττάρων (EMT) είναι μια πολύπλοκη βιολογική διαδικασία πολλαπλών βημάτων που ενορχηστρώνεται από μια ποικιλία μεταγραφικών παραγόντων μεταγραφής που επάγουν την EMT. Εν συντομία, επιθηλιακά κύτταρα μετατρέπονται σε μεσεγχυματικά κύτταρα, διευκολύνοντας έτσι την εισβολή και τη μετανάστευσή τους μέσω αιμοφόρων και λεμφικών αγγείων, και ως εκ τούτου συμμετέχουν στην μετάσταση μιας ποικιλίας καρκίνων. (58-61) Προηγούμενες μελέτες έχουν επίσης καταλήξει στο ότι τα lncRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση της EMT σε διάφορους όγκους. (62) **(Εικόνα 2.1)**

Ο παράγοντας TGF- β δρα ως αρχικός αγωνιστής του EMT. Προωθεί την κυτταρική μετανάστευση και κυτταρική εισβολή, επάγοντας την εμφάνιση EMT. (63) Το lncRNA που ενεργοποιείται από τον TGF- β (lncRNA-ATB) προκαλεί απομακρυσμένες μεταστάσεις στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, αυξάνοντας τη ρύθμιση των επιπέδων των πρωτεϊνών E-box με δομή δακτύλου ψευδαργύρου (ZEB1 και ZEB2) για τη διέγερση του καταρράκτη του EMT. (30) Επιπλέον, ο TGF- β προκαλεί την παραγωγή του LIN28B, το οποίο συμμετέχει στην ανάπτυξη του αδενοκαρκινώματος του παγκρεατικού πόρου (PDAC). (64) Το lncRNA-MEG3 συμμετέχει στο μονοπάτι σηματοδότησης του TGF- β μέσω τριτοταγών δομών RNA-DNA. (65) **(Εικόνα 2.1)**

Επιπλέον, το lncRNA-Dreh (hDREH) ρυθμίζει προς τα κάτω την παραγωγή της πρωτεΐνης X του ιού της ηπατίτιδας Β (HBx), η οποία είναι αναστολέας της EMT στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC). (66) Περαιτέρω μελέτες έχουν δείξει ότι ο μεταγραφικός παράγοντας PNUMS έχει το αντίστοιχο lncRNA-PNUMS, που εμπλέκεται στη μετάσταση του καρκίνου του μαστού επηρεάζοντας τη διαδικασία μέσω EMT. (67) **(Εικόνα 2.1)**

Το HOTAIR είναι επίσης γνωστό ότι προάγει τη μετάσταση διαφόρων καρκίνων, όπως ο καρκίνος του μαστού, ο καρκίνος του ήπατος και ο καρκίνος του παγκρέατος (62, 68-70). Ο TGF- β που εκκρίνεται από καρκινικούς

ινοβλάστες διεγείρει την έκφραση του HOTAIR σε καρκινικά κύτταρα για να ενεργοποιήσει τον καταρράκτη της οδού σηματοδότησης μέσω SMAD και στη συνέχεια προκαλεί τη διαδικασία EMT, προωθώντας τη μετάσταση του καρκίνου. (71) **(Εικόνα 2.1)**

Συνολικά, πολλά lncRNAs έχουν τεκμηριωθεί να συμμετέχουν στη ρύθμιση της διαδικασίας EMT κατά τη διάρκεια της μετάστασης ενός όγκου. Ωστόσο, το EMT αποτελεί μια περίπλοκη διαδικασία. Οι ρόλοι των lncRNAs στη διαδικασία της μετα-αγγειακής μετανάστευσης και της αγγειακής κυκλοφορίας απαιτούν περισσότερη εις βάθος έρευνα.

2.4 Κατηγορίες LncRNAs που σχετίζονται με καρκίνο

2.4.1 LncRNAs ως Ογκογόνα

1) H19

Το H19, είναι ένα από τα πρώτα lncRNAs που περιγράφεται ότι υπερεκφράζεται σε ένα ευρύ φάσμα τύπων καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του ηπατοκυτταρικού καρκίνου, του καρκίνου του παχέος εντέρου και του καρκίνου του μαστού, είναι ένα γονικά **αποτυπωμένο γονίδιο (imprinted gene)**, το οποίο αρχικά βρέθηκε να εκφράζεται σε εμβρυϊκούς ιστούς κατά την εξέλιξη του ποντικού και να αποσιωπείται στους περισσότερους ιστούς κατά τη γέννηση. (72, 73) Η απώλεια της γενετικής αποτύπωσης οδηγεί σε εκ νέου έκφραση του H19, η οποία σχετίζεται με πολλά στάδια της ογκογένεσης, όπως φαίνεται χρησιμοποιώντας διάφορα μοντέλα ποντικών και ανθρώπινες κυτταρικές σειρές. (74,75) Η μεταγραφή του H19 ελέγχεται εν μέρει από τον ογκοκατασταλτικό και κύριο ρυθμιστή του κυτταρικού κύκλου: p53, καθώς και από το πανταχού παρόν ογκογονίδιο myc. Η απώλεια της λειτουργίας του p53 ή η αύξηση της ρύθμισης του myc σε διάφορους καρκίνους σχετίζεται με αυξημένη έκφραση του H19 (76). Ελλείψει του αγρίου τύπου p53, το H19 μπορεί επίσης να αυξηθεί υπό την επίδραση του υποξικού στρες μέσω του παράγοντα HIF1-α. (77) Η ανάλυση των δεδομένων TCGA αποκάλυψε αυξημένα επίπεδα του H19 στον καρκίνο του παχέος εντέρου και του στομάχου, αλλά όχι σε άλλους τύπους καρκίνου. (78)

Ωστόσο, η υπερέκφραση του H19 cDNA έχει επίσης αποδειχθεί ότι οδηγεί σε μειωμένη ογκογονικότητα συγκεκριμένων ανθρώπινων ογκογονικών κυτταρικών σειρών in vivo. (79) Επιπλέον, σε ένα **μοντέλο ποντικού-Arc για καρκίνο του παχέος εντέρου**, τα ποντίκια με απενεργοποίηση του H19 αναφέρθηκε ότι ανέπτυξαν περισσότερους πολύποδες και ταχύτερη εμφάνιση ογκογένεσης από τα ποντίκια άγριου τύπου, αποκαλύπτοντας έναν κατασταλτικό ρόλο του H19 στη δημιουργία του όγκου. Τέτοια αποκλίνοντα αποτελέσματα βασιζόμενα στο αν το H19 μπορεί να λειτουργήσει ως ογκογόνο ή ως κατασταλτικό όγκο μπορεί να εξηγηθούν από την ετερογένεια στη γενετική βάση των όγκων, τη χρήση διαφορετικών μοντέλων συστημάτων (π.χ. διαγονιδιακά μοντέλα ποντικών σε σύγκριση με τις ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές), ή εναλλακτικά, ενδέχεται να αντανakλούν ένα διπλό ρόλο του H19 στην ογκογένεση; κάτι που μένει να αποδειχθεί.

Έχουν προταθεί αρκετές διαφορετικές οδοί για να εξηγήσουν πώς το H19 μπορεί να επηρεάσει την εξέλιξη του όγκου. Το H19 είναι πρόδρομος του microRNA (miR) -675 (80), που φαίνεται να στοχεύει την κατασταλτική πρωτεΐνη του όγκου του ρετινοβλαστώματος (RB) στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Σε αυτό το μοντέλο, τα αυξημένα επίπεδα του H19 οδηγούν σε αυξημένη έκφραση του miR-675 και μειωμένη έκφραση του RB, με τη σειρά τους προάγοντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου (81). Υπάρχουν τεκμηριωμένες ενδείξεις ότι το H19, εκτός από το ότι είναι πρόδρομος του miR-675, μπορεί να λειτουργήσει ως **ανταγωνιστικό ενδογενές RNA (ceRNA)** για πολλά διαφορετικά miRNAs (82). Γενικά, τα ceRNAs είναι lncRNAs που μπορούν να ανταγωνιστούν με mRNA για σύνδεση κοινών miRNAs, απομονώνοντας miRNAs από την κυτταρική δεξαμενή (83). Το H19 έχει προταθεί να λειτουργεί ως «σφουγγάρι» για πολλά διαφορετικά miRNA, όπως μέλη της οικογένειας let-7, μέλη της οικογένειας miR-200 (συμπεριλαμβανομένων των miR-141), καθώς και miR-138, miR-630, miR-138 και miR200a (82, 84). Αυτό το μοντέλο δράσης είναι σύμφωνο με τον κύριο κυτταροπλασματικό εντοπισμό του H19. (65)

Είναι λογικό να υποθέσουμε ότι τα αυξημένα επίπεδα του H19/ miR-675 σε διάφορους καρκίνους συμβάλλουν πιθανώς στον αυξημένο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και στην επιτυχή μετάσταση του

όγκου. Ως εκ τούτου, η στόχευση του H19 μπορεί να είναι μια ενδιαφέρουσα θεραπευτική προσέγγιση σε ένα ξεχωριστό σύνολο τύπων καρκίνου όπου αυτό το lncRNA μπορεί να δρα ως ογκογόνο.

2) HOTAIR:

Το αντιπληροφοριακό διαγονιδιακό RNA HOX (*HOTAIR*) μεταγράφεται από τον τόπο *HOXC* κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής ανάπτυξης του οργανισμού. Πρώιμες μελέτες έδειξαν ότι το *HOTAIR* έχει trans δράση μέσω της πρόσληψης του κατασταλτικού συμπλέγματος Polycomb 2 (PRC2), του συμπλέγματος LSD1 και του συμπλέγματος απομεθυλάσης CoREST / REST/ H3K4 στα γονίδια στόχους τους (86). Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες εγείρουν αντιπαραθέσεις σχετικά με τη λειτουργία και τα γονίδια-στόχους κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου (87). Το *HOTAIR* μπορεί να λειτουργήσει ως ογκογόνο σε πολλαπλούς τύπους όγκων, συμπεριλαμβανομένων του μαστού, του πνεύμονα, του ήπατος, του παγκρέατος και του παχέος εντέρου και προκαλεί εισβολή και μετάσταση του όγκου, αλλά μπορεί επίσης να λειτουργήσει ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης των ποσοστών επιβίωσης των ασθενών. (88-90) Επομένως, το *HOTAIR* μπορεί να αποδειχθεί πολύτιμος θεραπευτικός στόχος για τον καρκίνο, αλλά αυτό πρέπει να εξεταστεί.

3) LUNAR 1

Ένα άλλο παράδειγμα δυνητικού ογκογόνου lncRNA είναι το μη κωδικοποιητικό ενεργοποιητικό της Λευχαιμίας RNA 1 (LUNAR1), που αρχικά ταυτοποιήθηκε σε δέκα ασθενείς με T-ΟΛΛ (οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία T-λεμφοκυττάρων) και που φέρουν μετάλλαξη στο NOTCH1 (91). Το γονίδιο LUNAR1 βρίσκεται δίπλα στο γονίδιο του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα ινσουλίνης 1 (IGF1R), το οποίο είχε εμπλακεί προηγουμένως στην T-ΟΛΛ και είναι ο ίδιος ένας στόχος NOTCH1. (92) Η απενεργοποίηση του πυρηνικού LUNAR1 χρησιμοποιώντας είτε shRNAs, είτε αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs) έχει βρεθεί ότι οδηγεί σε καταστολή του IGF1R καθώς και σε μειωμένη ανάπτυξη των ανθρώπινων κυττάρων της T-ΟΛΛ, αμφότερα *in vitro* και σε μοντέλο αλλομοσχέυματος ποντικού (91). Η έκτοπη έκφραση του IGF1R διασώζει την πιθανή αναπτυξιακή έλλειψη,

υποδεικνύοντας ότι το LUNAR1 θα μπορούσε να ρυθμίσει την ανάπτυξη των κυττάρων της T-ΟΛΛ ενεργοποιώντας την cis-έκφραση IGF1R (91). Το LUNAR1 μπορεί να δεσμεύσει το ενισχυτικό στοιχείο του ιντρονίου του IGF1R, στρατολόγωντας το σύμπλεγμα Mediator, με αποτέλεσμα την πλήρη ενεργοποίηση του υποκινητή του IGF1R (91). Έτσι, η θεραπευτική στόχευση του LUNAR1 μπορεί να είναι μια βιώσιμη εναλλακτική λύση για τη στόχευση του IGF1R, όταν στοχεύουμε να μετριάσουμε τα αποτελέσματα της παρεκκλίνουσας σηματοδότησης του NOTCH σε κύτταρα T-ΟΛΛ (92); αλλά γ'αυτό θα απαιτηθούν περαιτέρω μελέτες.

4) MALAT1

Το άκρως συντηρημένο lncRNA του μεταστατικού αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα Transcript 1 (MALAT1), αναγνωρίστηκε αρχικά ως υπερεκφρασμένο σε ανθρώπινους όγκους πνευμόνων που εμφανίζουν υψηλότερη μεταστατική τάση και απώλεια του MALAT1 σε μοντέλο αλλομοσχεύματος ποντικού με καρκίνο του πνεύμονα, οδηγώντας σε μειωμένη μεταστατική τάση (93), και καθιερώνοντας το MALAT1 ως ογκογόνο. Στη συνέχεια, η αυξημένη έκφραση του MALAT1 έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με ογκογένεση σε διαφορετικούς τύπους καρκίνο (94) συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Η έκφραση του ανθρώπινου MALAT1 έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνεται έως 3-4 φορές στους όγκους του μαστού, καθώς και σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές ανθρώπινων όγκων μαστού, σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς ιστούς / κύτταρα, αντίστοιχα.(95) Επιπλέον, οι γονιδιακές μεταλλάξεις του MALAT1 εμφανίζονται συχνά σε πορογενείς όγκους μαστού (96).

Στους φυσιολογικούς ιστούς, το MALAT1 είναι ένα άφθονο πανταχού παρόν εκφραζόμενο lncRNA, μετα-μεταγραφικά επεξεργασμένο σε ένα μακρύ ~ 6.7kb πυρηνικά συγκρατημένο αντίγραφο και ένα tRNA που μοιάζει με μικρό RNA, και το οποίο μετατοπίζεται στο κυτταρόπλασμα (97). Έχουν προταθεί πολλαπλοί μηχανισμοί δράσης για το MALAT1, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης μέσω ματίσματος πριν από τη δημιουργία του mRNA, και η απενεργοποίησή του στα ανθρώπινα κύτταρα μπορεί να οδηγήσει σε διακοπή

του κυτταρικού κύκλου (98,99) ή ενεργοποίηση των γονιδίων στόχου E2F (100).

Τα Malat1 knockout ποντίκια παρουσιάζουν ένα κανονικό φαινότυπο: είναι γόνιμα και δεν εμφανίζουν κάποια σημαντική αλλαγή στη γονιδιακή τους έκφραση ή στο pro-mRNA μάτισμα, υποδεικνύοντας ότι Malat1 χρησιμεύει για τη φυσιολογική ανάπτυξη και τη βιωσιμότητα των ποντικών (101-103). Ωστόσο, η γενετική απενεργοποίηση ή η ASO απενεργοποίηση του Malat1 στο μοντέλο του καρκίνου του μαστού MMTV-PyMT, είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση εξαιρετικά διαφοροποιημένων πρωτογενών όγκων και σχεδόν 80% μείωση στη μετάσταση στον πνεύμονα. (104) Επομένως, το Malat1 πιθανώς λειτουργεί με τρόπο που εξαρτάται από το περιβάλλον για να παίξει έναν κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης τόσο στα μεταγραφικά όσο και στα μέταμεταγραφικά επίπεδα σε διάφορους καρκίνους. Η έλλειψη φαινοτύπου κατά την απώλεια ή την μείωση του Malat1 σε «φυσιολογικούς» ιστούς / κύτταρα πιθανότατα οφείλεται στο πλεόνασμά του, που μπορεί να απουσιάζει ή να είναι «μικρό» στα πλαίσια ενός καρκίνου, αν και αυτό δεν έχει αποδειχθεί άμεσα. Ωστόσο, από κοινού, αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι το MALAT1 μπορεί να αποτελεί κρίσιμο παράγοντα στην εξέλιξη του όγκου και η θεραπευτική του απενεργοποίηση μπορεί να αντιπροσωπεύει μια εξαιρετική επιλογή για την αντιμετώπιση της μεταστατικής νόσου. (104)

5) NEAT 1

Το NEAT1 (Nuclear enriched abundant transcript 1) είναι ένα άλλο lncRNA που εμπλέκεται στην ογκογένεση (105-107). Το NEAT1 έχει δειχθεί ότι διαμεσολαβεί στην πυρηνική κατακράτηση του mRNA της ιντερλευκίνης 8 (IL-8) σε μολυσμένα με ιό κύτταρα ποντικού. (47, 108-110) Αρκετές ομάδες ερευνητών έχουν δείξει ότι το NEAT1 είναι ένα γονίδιο στόχος του p53 και επιτρέπει την ογκογένεση in vivo, προάγοντας την επιβίωση των ογκογόνων κυττάρων όπως το ενεργοποιημένο *Kras* σε γενετικά τροποποιημένα μοντέλα ποντικών (107). Επιπλέον, η υψηλή έκφραση του *NEAT1*, αναφέρεται να συσχετίζεται με κακή πρόγνωση σε διαφορετικούς τύπους καρκίνων του ανθρώπου, όπως γλοίωμα, καρκίνος των ωοθηκών, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, μελάνωμα και καρκίνος του προστάτη (106, 107, 110). Η αύξηση

της ρύθμισης του NEAT1 στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του προστάτη παρέχει επίσης αντίσταση στους ανταγωνιστές των υποδοχέων των ανδρογόνων (AR), οδηγώντας σε φτωχότερο επιπολασμό της νόσου (106). Ωστόσο, μια πρόσφατη μελέτη προτείνει ότι το NEAT1 μπορεί επίσης να καταστέλλει τη μεταμόρφωση στα μεταλλαγμένα κύτταρα p53 (105). Συγκεκριμένα, η απώλεια της NEAT1 σχετιζόμενη αυξημένης ογκογονικότητας σε ένα με έλλειψη p53/ μεταλλαγμένο *Kras* μοντέλο ποντικού πορογενούς αδενοκαρκινώματος του παγκρέατος (105), υποδηλώνοντας ότι όπως το H19, το NEAT1 μπορεί να προκαλέσει μια λειτουργία ενός συγκεκριμένου πλαισίου προς προαγωγή ή καταστολή σχηματισμού ενός όγκου; επομένως, απαιτείται περαιτέρω μελλοντική αξιολόγησή του.

6) MaTAR

Μια πρόσφατη μελέτη, αναγνώρισε και χαρακτήρισε 30 lncRNAs που ονομάστηκαν RNAs-Mammary-Tumor Associated (MaTARs). (111) 21 MaTARs υπερεκφράζονται σημαντικά στον καρκίνο του μαστού στον άνθρωπο με βάση την ανάλυση δεδομένων TCGA, συχνά εξαρτώμενα από την κατάσταση του ορμονικού υποδοχέα (111). Μια ανεξάρτητη ASO-διαμεσολαβούμενη απενεργοποίηση των 20 MaTARs είχε ως αποτέλεσμα μειωμένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων όγκου μαστού σε ποντίκια και μειωμένη διεισδυτικότητά τους. (112)

Επιπλέον, ορισμένα MaTARs φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε άλλους τύπους καρκίνου: Το MaTAR1 (γνωστό και ως LINC00461 ή ECONEXIN) έχει βρεθεί ότι δρα ως ογκογόνο στο γλοιώμα (113). Το ανθρώπινο EXONEXIN / MaTAR1 προτάθηκε να δρά ως “σφουγγάρι” για το miR-411-5p, με τη σειρά του ρυθμίζοντας την τοποϊσομεράση-2 άλφα στις κυτταρικές σειρές ανθρώπινου γλοιώματος (114). Η αναστολή του υποτιθέμενου ογκογονιδίου χρησιμοποιώντας siRNAs είχε ως αποτέλεσμα μειωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Οι τρέχουσες μελέτες στοχεύουν να αποκαλύψουν τους μοριακούς μηχανισμούς δράσης αυτού και επιπλέον MaTARs, διερευνώντας τις δυνατότητές τους ως υποψήφιους θεραπευτικούς στόχους για διάφορους καρκίνους.

2.4.2 LncRNAs ως ρυθμιστές ογκογονιδίων

Ο πιο συχνός πολλαπλασιασμός **αριθμού αντιγράφων σωματικών κυττάρων** στον καρκίνο είναι ο πολλαπλασιασμός μέσω του ογκογόνου παράγοντα μεταγραφής MYC (115). Αρκετά lncRNAs έχουν εμπλακεί στη ρύθμιση της έκφρασης του myc, όπως τα: PVT1, PCAT1, CCAT1 και CCAT2. Εφόσον στο παρελθόν υπήρξαν θεραπευτικές απόπειρες που είχαν ως στόχο το myc άμεσα σε όγκους και δεν είχαν επιτυχία, αυτά τα ρυθμιστικά lncRNAs μπορούν να παρέχουν συναρπαστικούς νέους στόχους για τη διαμόρφωση της έκφρασης του myc ή της δραστηριότητας του MYC έμμεσα.

1) PVT1

Το Plasmacytoma Variant Translocation 1 (PVT1) βρίσκεται δίπλα στο MYC στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 8q24 και συνενισχύεται με το MYC στο 98% των καρκίνων. (116) Το PVT1-lncRNA σταθεροποιεί την πρωτεΐνη MYC στο μετα-μεταγραφικό στάδιο, με αποτέλεσμα τον αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ογκογονικότητα στα κύτταρα με ενισχυμένο MYC (117). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η παραγωγή πρωτεϊνών σύντηξης-PVT1 που προκύπτουν από αναδιατάξεις DNA που μπορούν να συμβάλουν στην ογκογένεση, όπως στην περίπτωση του χιμαιρικού γονιδίου PVT1-WWOX στο πολλαπλό μυέλωμα (118). Το WWOX (WW Domain Contain Oxidoreductase) έχει περιγραφεί ως κατασταλτικός όγκος που εμπλέκεται στη μεσολάβηση της απόπτωσης σε αρκετές κυτταρικές σειρές (119). Τα αντίγραφα σύντηξης-PVT1 απαντώνται συχνά σε άλλους τύπους καρκίνου, όπως το μυελόβλαστώμα, όπου τα γονίδια σύντηξης προκύπτουν από έναν **μηχανισμό ομοιάζον με χρωμοθρίψις (chromothripsis-like)** (120). Ο γενετικός τόπος PVT1 φιλοξενεί επίσης ένα σύμπλεγμα από έξι miRNAs (121, 122); η μειωμένη έκφραση ενός από αυτά, του miR-1204 σε κυτταρική σειρά μυελοβλαστώματος, οδηγεί σε μειωμένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων σε παρόμοια επίπεδα με εκείνα που επιτυγχάνονται μέσω της προκαλούμενης από siRNA απενεργοποίησης (νοκ-άουτ) του MYC. Σημειωτέον, ότι αυτό το αντιπολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα παρατηρείται μόνο σε κυτταρικές σειρές με συντήξεις PVT1-MYC (123). Η ακριβής σχέση μεταξύ PVT1 και c-MYC

απομένει να διερευνηθεί περαιτέρω, για τη χάραξη βέλτιστων θεραπευτικών στρατηγικών που να στοχεύουν το PVT1.

2) PCAT-1

Το Prostate Cancer Associated Transcript 1 (PCAT-1) αναγνωρίστηκε ως ενεργοποιητής κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον καρκίνο του προστάτη (124) και στη συνέχεια ανιχνεύθηκε σε διάφορους άλλους τύπους καρκίνου. Για παράδειγμα, τα υψηλά επίπεδα PCAT-1 βρέθηκαν να συσχετίζονται με μακρινή μετάσταση και χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης των ασθενών στον καρκίνο του παχέος εντέρου (125). Το PCAT-1 σε καρκινικές σειρές καρκίνου του προστάτη στον άνθρωπο τροποποιεί τη μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο, πιθανώς ενεργώντας ως μεταγραφικός καταστολέας σε ένα σύμπλεγμα με το κατασταλτικό σύμπλεγμα-2 (PRC2) (124). Το PCAT-1 έχει επίσης αποδειχθεί ότι λειτουργεί στο κυταρρόπλασμα, όπου, δρα ως ceRNA, καταργώντας τη δέσμευση του miR34-1 στα μεταγγραφα του MYC, με αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης MYC στα καρκινικά κύτταρα του προστάτη στον άνθρωπο (126). Από την άποψη αυτή, το PCAT-1 μπορεί να δρα παρόμοια με το PVT1 σταθεροποιώντας την πρωτεΐνη MYC μετα-μεταγραφικά, αν και πιθανώς, μέσω ενός διαφορετικού μηχανισμού. Το PCAT-1 έχει επίσης εμπλακεί στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA μειώνοντας τα επίπεδα RNA του BRCA2- ενός σημαντικού ογκοκατασταλτικού γονιδίου - με μετα-μεταγραφικό τρόπο (127). Η ίδια μελέτη έδειξε επίσης ότι η έκφραση του PCAT-1 μπορεί να χρησιμεύσει όχι μόνο ως προγνωστικός δείκτης αλλά και ενδεχομένως, ως δείκτης ευαισθησίας της PARP. (127) Αυτά τα δεδομένα αξίζουν περαιτέρω έρευνα.

3) CCAT1

Η έκφραση του Colon Cancer Associated Transcript 1 (CCAT1) (128), επίσης γνωστού ως CARLo-5 (71) ή onco-lncRNA-40 (129) συσχετίζεται με το σχετιζόμενο με τον καρκίνο πολυμορφισμό rs6983267, που βρίσκεται στην περιοχή του ενισχυτή του MYC στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 8q24, και σχετίζεται με αυξημένη ευαισθησία στον καρκίνο (128). Η απενεργοποίηση του CCAT1 (knockdown) in vitro χρησιμοποιώντας siRNAs είχε ως αποτέλεσμα μειωμένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων καρκίνου του παχέος

εντέρου λόγω διακοπής του κυτταρικού κύκλου στη G1 φάση, που προκαλείται από αύξηση του CDKN1A / p21. (128) Ο ακριβής μηχανισμός δράσης δεν είναι καλά κατανοητός για αυτό το lncRNA. Σημειωτέον, ότι το CCAT1 έχει δυναμικό ως βιοδείκτης καρκίνου του παχέος εντέρου καθώς μπορεί να ανιχνευθεί σε όλα τα στάδια της ογκογένεσης από προ-καρκινικές αλλοιώσεις έως μεταστατικές εστίες και είναι ανιχνεύσιμο στο περιφερικό αίμα του 40% των ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου (126, 129). Εκτός από τον καρκίνο του παχέος εντέρου, το CCAT1 αυξάνεται επίσης στους καρκίνους του προστάτη και του πνεύμονα (127, 128). Πρόσφατα, το CCAT1 έχει περιγραφεί ότι είναι πολύ ευαίσθητο στους **πρωτεϊνικούς αναστολείς BET** (bromodomain και extraterminal) όπως το JQ1, και προτάθηκε να είναι κλινικά σχετικός βιοδείκτης για ασθενείς που θα μπορούσαν να επωφεληθούν από τη θεραπεία με αναστολείς BET στον καρκίνο του παχέος εντέρου (130).

4) CCAT2

Όπως το CCAT1, το Colon Cancer Associated Transcript 2 (CCAT2) υπερεκφράζεται στον καρκίνο του παχέος εντέρου, βρίσκεται πριν το MYC και σχετίζεται με τον μονό νουκλεοτιδικό πολυμορφισμό (SNP) rs6983267 (131). Η υπερέκφραση του CCAT2 έχει βρεθεί ότι προάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε όγκους από αλλομοσχεύματα, οδηγώντας σε ποντίκια, σε μεγαλύτερο αριθμό ηπατικών μεταστάσεων σε σχέση με τους μάρτυρες (131). Το CCAT2, που βρίσκεται κυρίως στον πυρήνα, έχει επίσης αποδειχθεί ότι προκαλεί χρωμοσωμική αστάθεια (131). Επιπλέον, αυτό το lncRNA έχει αναφερθεί ότι αυξάνει την έκφραση του MYC ενισχύοντας τη σηματοδότηση Wnt μέσω του παράγοντα μεταγραφής TCF7L2, πιθανώς λόγω άμεσων αλληλεπιδράσεων μεταξύ του CCAT2 και του TCF7L2 (131). Τέλος, ανιχνεύθηκε και η αύξηση της CCAT2 σε άλλους τύπους καρκίνου όπως όγκους του μαστού, των πνευμόνων, του στομάχου και του οισοφάγου στον άνθρωπο (132), υποδηλώνοντας ότι αυτό το lncRNA μπορεί να έχει προ-καρκινικές ιδιότητες σε αρκετούς καρκίνους.

2.4.3 LncRNAs ως ογκοκαταστολείς

Δεν είναι όλα τα σχετιζόμενα με τον καρκίνο lncRNAs γενετικά υπερενεργοποιημένα ή υπερβολικά εκφρασμένα. Τα loss of function-μοντέλα

έχουν ταυτοποιήσει έναν αυξανόμενο αριθμό lncRNAs που μπορούν να δράσουν ως καταστολείς όγκων, μέσω της απενεργοποίησης και που συμβάλλει στην εμφάνιση του όγκου και / ή οδηγεί στην εξέλιξη του όγκου. Παρόλο που αυτά τα lncRNAs ενδέχεται να μην αποτελούν άμεσους στόχους για τις τρέχουσες διαθέσιμες θεραπευτικές παρεμβάσεις, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τη λειτουργία τους στο πλαίσιο των κύριων οδών σηματοδότησης του καρκίνου, καθώς και την αξία τους ως υποθετικοί προγνωστικοί δείκτες. Οι μελλοντικές θεραπευτικές εξελίξεις μπορεί να επιτρέψουν την επανενεργοποίηση ογκοκαταστολέων, συμπεριλαμβανομένων και των lncRNAs.

1) GAS5

Το Growth Arrest-Special Transcript 5 (GAS5) αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά ως ένα από τα έξι γονίδια που κατά προτίμηση εκφράστηκαν σε κύτταρα θηλαστικών που είχαν σταματήσει την ανάπτυξη (133). Το GAS5 είναι ένα από τα πιο εκφρασμένα lncRNAs, που υπάρχουν σε όλους τους ανθρώπινους ιστούς και, παρόμοια με το H19, εμπλέκεται στην εμβρυογένεση (134). Η έκφρασή του μειώνεται σημαντικά σε μια ποικιλία τύπων καρκίνου όπως ο καρκίνος του μαστού, του προστάτη, της ουροδόχου κύστης, του στομάχου, του παχέος εντέρου, του παγκρέατος και του τραχήλου της μήτρας (135). Επιπλέον, η έκφραση του GAS5 συσχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με κλινικο-παθολογικά χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος του όγκου, το στάδιο ή τη δυνατότητα μετάστασης (135). Σε μοριακό επίπεδο, το GAS5 δρα ως στόχος για τον υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών (GR), καταστέλλοντας έτσι την εξαρτώμενη από GR ρύθμιση γονιδίων σε HeLa και HepG2 κυτταρικές σειρές (136). Το GAS5 μπορεί να δεσμεύσει άλλους υποδοχείς στεροειδών ορμονών, όπως υποδοχείς ανδρογόνων και προγεστερόνης, οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο σε ορμονοεξαρτώμενους καρκίνους (137).

2) NORAD

Το μη κωδικοποιημένο RNA ενεργοποιούμενο από βλάβη του DNA (NORAD) διεγείρεται ως απόκριση σε βλάβη του DNA και αρχικά

αναγνωρίστηκε σε μια σειρά θεραπειών με **δοξορουβικίνη** σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου (138,139). Αυτό το lncRNA εκφράζεται με εξαρτώμενο από το p53 τρόπο, ύστερα από βλάβη του DNA σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου (138,139). Το NORAD εκφράζεται παντού, σε αφθονία και εξαιρετικά διατηρημένο (138). Ως κυτταροπλασματικό lncRNA λειτουργεί ως στόχος για τις πρωτεΐνες δέσμησης RNA PUMILIO 2 (PUM2) και, σε μικρότερο βαθμό, PUMILIO 1 (PUM1) σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου (138, 139). Αυτές οι πρωτεΐνες διεγείρουν τη αποαδενυλίωση και την απομάκρυνση των mRNA στόχων, οδηγώντας σε γονιδιακή καταστολή μετα-μεταγραφικά (140); και η απώλεια του NORAD απελευθερώνει τις πρωτεΐνες PUMILIO, προκαλώντας έτσι καταστολή των mRNA στόχων τους, πολλές από τις οποίες κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη μείωση, την αντιγραφή του DNA και την επισκευή του DNA (84). Ως εκ τούτου, η υπερδραστικότητα των PUM1 / 2 σε απενεργοποιημένου-NORAD κύτταρα οδηγεί σε χρωμοσωμική αστάθεια, ένας φαινότυπος που παρατηρείται συχνά κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του όγκου (138, 141). Επιπλέον, η αυξημένη **ανευπλοειδία που** παρατηρείται μετά την απώλεια του NORAD υποδηλώνει ότι αυτό το lncRNA θα μπορούσε να δράσει ως ογκοκαταστολέας (138).

2.4.4 LncRNAs που ρυθμίζουν ογκοκατασταλτικά γονίδια

Αρκετά lncRNAs μπορούν να επηρεάσουν σημαντικούς ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου, όπως τα p21 ή p53. Αυτά τα lncRNAs μπορούν έτσι να δράουν ως ογκογόνα ρυθμίζοντας βασικούς ογκοκαταστολείς στο κύτταρο.

1) ANRIL

Ο τόπος INK4B-ARF-INK4A στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 9p21 είναι ένα σύμπλεγμα γνωστών γονιδίων καταστολής όγκων, που συχνά διαγράφονται στον καρκίνο (142,143). Αυτός ο τόπος κωδικοποιεί τους p15-INK4B και p16-INK54A, δύο εξαρτώμενους από κυκλίνη αναστολείς κινάσης, καθώς και τον ARF, έναν ρυθμιστή της οδού p53. Αυτή η γονιδιωματική περιοχή φιλοξενεί επίσης το αντιπληροφοριακό RNA στο γενετικό τόπο "INK4"(ANRIL- επίσης γνωστό ως p15-AS ή CDKN2B-AS1), που αρχικά αναγνωρίστηκε στο οικογενές μελάνωμα και έκτοτε έχει αναφερθεί ως ογκογονίδιο στο γαστρικό καρκίνο, τον καρκίνο του μαστού, του πνεύμονα,

στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, μεταξύ άλλων (144, 145). Η έκφραση του INK4B-ARF-INK4AO τόπου ρυθμίζεται αυστηρά από τα σύμπλοκα πρωτεϊνών της ομάδας Polycomb (PcG) (89). Το ANRIL στρατολογεί το chromobox 7 (CBX7), ένα συστατικό του κατασταλτικού συμπλέγματος Polycomb 1 (PRC1), στον τόπο INK4B-ARF-INK4A, συμβάλλοντας έτσι στην επιγενετική καταστολή του σε καρκινικά κύτταρα του προστάτη στον άνθρωπο (146). Έτσι, η ογκογονική δραστηριότητα του ANRIL μπορεί να εξηγηθεί από την μεταγραφική cis- καταστολή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Η καταστροφή του ANRIL οδηγεί σε μειωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, κυτταρική μετανάστευση και / ή εισβολή και προωθεί την κυτταρική απόπτωση in vitro σε πολλούς επιθηλιακούς καρκίνους. Επιπλέον, η θεραπευτική αναστολή του ANRIL απελευθερώνει την καταστολή του γενετικού τόπου INK4B-ARF-INK4A, επανενεργοποιώντας έτσι την έκφραση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου.

2) LincRNA-p21

Ομοίως με το NORAD, η έκφραση του lincRNA-p21 μπορεί να προκληθεί μετά από βλάβη στο DNA με τρόπο που εξαρτάται από το p53 (147). Το LincRNA-p21, που βρίσκεται 16,7 kb πριν το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p21 (CDKN1A), μεταγράφεται κατά την anti-sense κατεύθυνση (72). Η έκφραση του LincRNA-p21 έχει συσχετιστεί με το στάδιο του όγκου και την μεταστατική ικανότητα στον καρκίνο του παχέος εντέρου (148). Επιπλέον, μπορεί να λειτουργήσει ως trans-μεταγραφικός καταστολέας με σύνδεση στο hnRNP-K (72), και μπορεί επίσης να ενισχύσει τη μεταγραφική δραστηριότητα του p53 δεσμεύοντας το **Mouse Double Minute(MDM2)** σε καρκινικά κύτταρα (149). Οι πρώτες μελέτες του lincRNA-p21 δεν ανίχνευσαν επίδραση της έκφρασης lincRNA-p21 στο γειτονικό γονίδιο p21 ή γενικά στον κυτταρικό κύκλο (72). Ωστόσο, μια πρόσφατη μελέτη που χρησιμοποιεί ποντίκια LincRNA-P21 LoxP υπό καθεστώς απενεργοποίησης (νοκ-άουτ) έδειξε ότι θα μπορούσε κατά κύριο λόγο να λειτουργήσει cis-ενεργοποιώντας το p21 και θέτοντας σε κίνδυνο το σημείο ελέγχου του κυτταρικού κύκλου G1 / S. Ωστόσο, δεν φαίνεται να επηρεάζει την απόπτωση ή να trans-ρυθμίζει τα γονίδια στόχους (147). Αυτή η διαφορά μπορεί να βασίζεται στη χρήση μεθόδων νοκ-άουτ που βασίζονται σε RNAi σε προηγούμενες μελέτες σε

σύγκριση με τη γονιδιακή διαγραφή, τονίζοντας τη σημασία των συμπληρωματικών προσεγγίσεων για την τροποποίηση και την αξιολόγηση της λειτουργίας των lncRNAs. Επιπλέον, το lincRNA-p21 έχει αναφερθεί ότι αλληλεπιδρά με το **HuR**, καταστέλλοντας τη μετάφραση της β-κατενίνης (CTNNB1) και του JunB σε καρκινικά κύτταρα του μαστού (94). Η ρύθμισή του τόσο σε μεταγραφικό όσο και σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο συνάδει με τον εντοπισμό του lincRNA-p21, που βρίσκεται στον πυρήνα καθώς και στο κυτταρόπλασμα (150).

Επιπλέον, το lincRNA-p21 έχει αποδειχθεί ότι ενεργοποιείται από υποξία και εμπλέκεται στην επαγόμενη από υποξία γλυκόλυση σε εμβρυϊκούς ινοβλάστες ποντικού, υποδηλώνοντας έναν ρόλο αυτού του lncRNA στη ρύθμιση της **επίδρασης Warburg** στον κυτταρικό μεταβολισμό (151). Συνοπτικά, τα τρέχοντα δεδομένα δείχνουν ότι το lincRNA-p21, μεταξύ των διαφόρων ρόλων του, εμπλέκεται στην τελειοποίηση του μεταγραφικού ρυθμιστικού δικτύου των p21 και / ή p53, δύο καλά μελετημένων ογκοκατασταλτικών γονιδίων.

Αρκετά άλλα lncRNAs, όπως το PANDA και το PINT ενεργοποιούνται από το p53 και μπορούν είτε να βελτιώσουν την μεταγραφική απόκριση του p53 είτε να το ανταγωνιστούν (152, 153). Κατά συνέπεια, η θεραπευτική στόχευση των lncRNAs σε αυτά τα μεταγραφικά δίκτυα και όχι οι ίδιοι οι ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου μπορεί να παρέχουν μια βιώσιμη εναλλακτική λύση για την παράκαμψη των περιορισμών στόχευσης αυτών των πρωτεϊνών.

2.4.5 Άλλα Long ncRNAs σχετιζόμενα με καρκίνο

1) eRNA.

Τα eRNA μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II σε ενεργούς ενισχυτές γονιδίων (154). Ωστόσο, σε αντίθεση με τα lncRNAs, δεν είναι πολυαδενυλιωμένα και επισημαίνονται με την υπογραφή H3K4me1 ιστόνης που υποδηλώνει περιοχές ενισχυτή (154) αντί για την υπογραφή H3K4me3 / H3K36me3 που σχετίζεται κλασικά με τα lncRNAs. Παρόλο που η έρευνα σχετικά με τα eRNAs είναι ακόμη σε πρώιμη φάση, ένας αναδυόμενος ρόλος για αυτά όσο αφορά στη σηματοδότηση ορμονών, διερευνάται ήδη. Οι

υποδοχείς πυρηνικών ορμονών, όπως το AR και το ER, είναι κρίσιμοι ρυθμιστές πολλών οδών ανάπτυξης των κυττάρων και είναι σημαντικοί σε πολλές περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη (AR), του μαστού (ER) και του θυρεοειδούς (PPAR). Μέχρι σήμερα, τα eRNA έχουν εμπλακεί πιο άμεσα στον καρκίνο του προστάτη, στον οποίο βοηθούν στη σηματοδότηση με AR και διατηρούνται από το *FOXA1*, ένα μεταγραφικό παράγοντα που συμμετέχει στην έκφραση γονιδίων σε διάφορους τύπους κυττάρων (155).

2) T-UCR.

Οι υπερσυντηρημένες περιοχές στο γονιδίωμα περιγράφηκαν αρχικά ως τμήματα μήκους > 200 bp με 100% διατήρηση αλληλουχίας μεταξύ ανθρώπων και τρωκτικών αλλά δεν αντιστοιχούν σε γνωστό γονίδιο (156). Επειδή τα υψηλά επίπεδα διατηρημένων αλληλουχιών είναι ορόσημα των αλληλουχιών που αντιστοιχούν σε εξώνια σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, οι υπερ-διατηρημένες περιοχές υποδηλώνουν έντονα την παρουσία είτε ενός γονιδίου είτε μιας ρυθμιστικής περιοχής, όπως ενός ενισχυτή. Στη συνέχεια, βρέθηκαν πολλές υπερσυντηρημένες αλληλουχίες να είναι μεταγραφικά δραστικές, ορίζοντας μια κατηγορία T-UCRs ως ncRNAs (157). Πολλά αντίγραφα από T-UCRs είναι πολυαδενυλιωμένα και σχετίζονται με το H3K4me3 στις περιοχές έναρξης της μετάφρασης τους (TSS), υποδεικνύοντας ότι πολλά είναι πιθανά lncRNAs, σύμφωνα με τον ορισμό τους (158).

Έντονη έκφραση των T-UCRs έχει παρατηρηθεί σε διάφορους τύπους καρκίνου, όπως το νευροβλάστωμα (158), τη λευχαιμία (157) και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (159). Πιο συγκεκριμένα, ένα γονίδιο T-UCR, που ονομάζεται *TUC338*, έχει αποδειχθεί ότι προάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε κυτταρικές σειρές ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (159); και το αντίγραφο *TUC338* εντοπίζεται στον πυρήνα, υποδηλώνοντας έναν ρόλο του στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (159). Οι Calin και συνεργάτες (157) έδειξαν περαιτέρω ότι τα T-UCRs είναι στόχοι για miRNA. Ενώ τα T-UCRs παραμένουν πτωχά χαρακτηρισμένα στο σύνολό τους, η περαιτέρω διερεύνηση του ρόλου και του μηχανισμού αυτών των ncRNAs πιθανότατα θα αποσαφηνίσει νέες πτυχές στη βιολογία του καρκίνου.

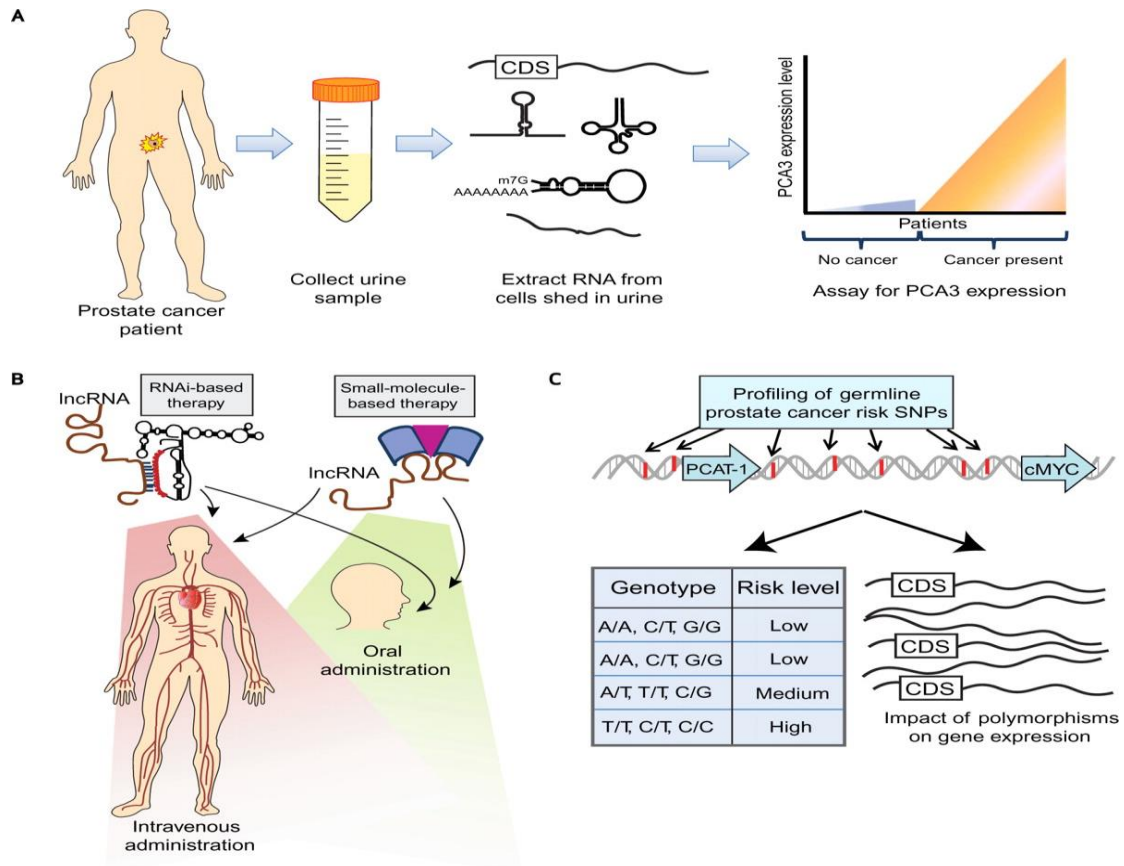
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Χρήση των lncRNAs στη διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου

3.1 Διαγνωστικοί βιοδείκτες lncRNAs

Για την κλινική ιατρική, τα lncRNA προσφέρουν αρκετά πιθανά οφέλη. Τα lncRNAs, όπως το *PCAT-1*, συνήθως εμφανίζουν περιορισμένα μοτίβα έκφρασης ιστο-ειδικά και αναλόγως του τύπου του καρκίνου (160). Αυτή η ιστοειδική έκφραση διακρίνει τα lncRNA από τα miRNAs και τα mRNAs που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, και τα οποία συχνά εκφράζονται σε πολλούς τύπους ιστών. Αν και ο υποκείμενος μηχανισμός για την ιστοειδικότητα των lncRNAs είναι ασαφής, πρόσφατες μελέτες επί της χρωματίνης δείχνουν συγκεκριμένα μοτίβα ιστού, τα οποία μπορεί να επηρεάσουν τη μεταγραφή των ncRNAs (80, 100). Δεδομένης αυτής της εξειδίκευσής τους, τα ncRNAs μπορεί να είναι ανώτεροι βιοδείκτες από πολλούς σημερινούς βιοδείκτες που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, τόσο για αναγνώριση του ιστού προέλευσης όσο και για την πρώιμη διάγνωση καρκίνου.

Ένα εξέχον παράδειγμα είναι το *PCA3*, ένα lncRNA που είναι ειδικό για τον προστάτη και έχει υπερεκφραστεί σημαντικά στον καρκίνο του προστάτη. Αν και η βιολογική λειτουργία του *PCA3* είναι ασαφής, η χρησιμότητά του ως βιοδείκτη οδήγησε στην ανάπτυξη μιας κλινικής διαγνωστικής δοκιμασίας του *PCA3* στον καρκίνο του προστάτη και αυτή η διαγνωστική δοκιμασία χρησιμοποιείται ήδη κλινικά (145,146). Σε αυτό το τεστ, το μετάγραφο του *PCA3* ανιχνεύεται σε δείγματα ούρων από ασθενείς με καρκίνο του προστάτη, τα οποία περιέχουν καρκινικά κύτταρα του προστάτη, και τα οποία διέρχονται μέσω της ουρήθρας. Επομένως, η παρακολούθηση του *PCA3* δεν απαιτεί επεμβατικές διαδικασίες (Εικόνα 3.1, 146). Το *PCA3* τεστ αντιπροσωπεύει την πιο αποτελεσματική-κλινικά- χρήση ενός lncRNA που σχετίζεται με τον καρκίνο και η ταχεία αναγνώριση αυτού - μόνο 10 χρόνια μεσολάβησαν μεταξύ της αρχικής του περιγραφής και της κλινικής του δοκιμής - υποδηλώνει ότι η χρήση των lncRNAs στην καθημερινή κλινική πράξη, ξεκινά. Μάλιστα, η αυξημένη ανίχνευση και άλλων εκφρασμένων εκφρασμένων lncRNAs -όπως η αύξηση του *HULC*, η οποία εμφανίζεται σε ηπατοκυτταρικά καρκινώματα- έχει επίσης παρατηρηθεί σε ορούς διαφόρων ασθενών (161). Ωστόσο, άλλα

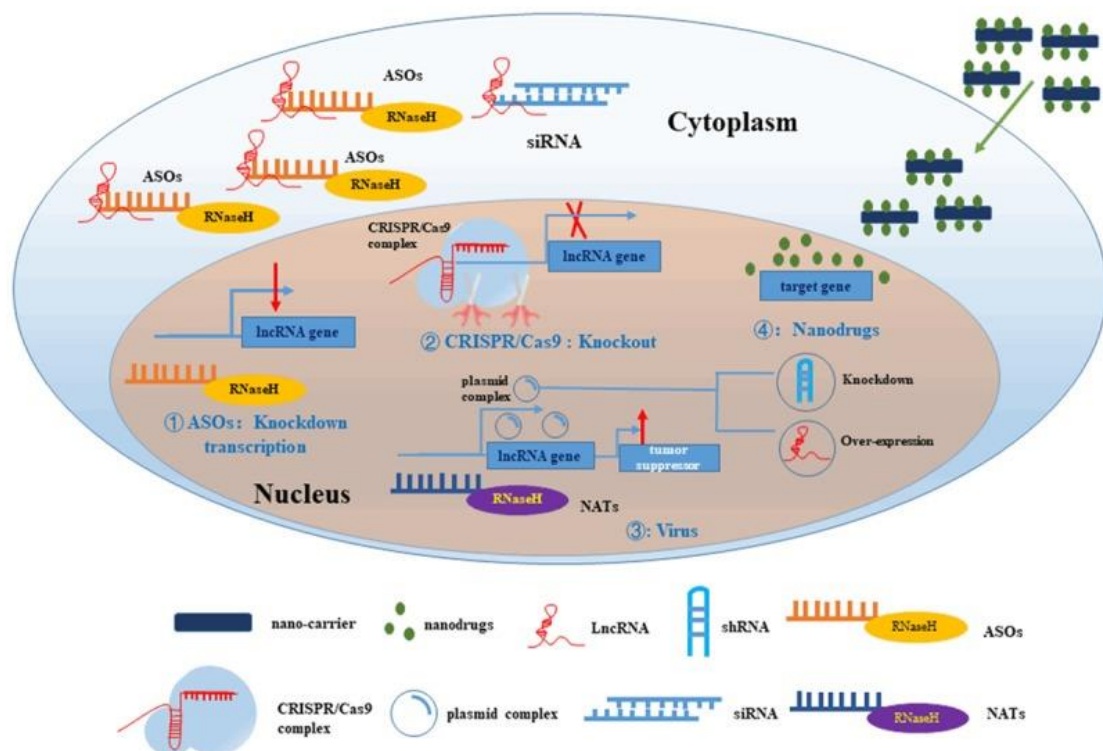
διαγνωστικά τεστ που βασίζονται στα lncRNAs δεν έχουν αναπτυχθεί για ευρεία χρήση.



Εικόνα 3.1: Κλινικές χρήσεις των lncRNAs. **A.** Το τεστ PCA3 στα ούρα, ως βιοδείκτης για τον καρκίνο του προστάτη χρησιμοποιεί μια μη επεμβατική προσέγγιση στη διάγνωση της νόσου συλλέγοντας δείγματα ούρων από ασθενείς, με απομόνωση νουκλεϊκών οξέων από κύτταρα στο ίζημα των ούρων και ποσοτικοποιώντας την έκφραση PCA3. **B.** Οι θεραπείες που βασίζονται σε lncRNAs μπορούν να στοχεύουν το lncRNA χρησιμοποιώντας είτε παρεμβαλλόμενο RNA (RNAi), το οποίο χρησιμοποιεί ομολογία αλληλουχιών μεταξύ του θεραπευτικού μορίου lncRNA και του RNAi, είτε θεραπεία με χρήση μικρού μορίου που αλληλεπιδρά με το lncRNA. Αυτές οι θεραπευτικές δυνατότητες μπορεί να είναι κατάλληλες για συστηματική θεραπεία είτε ενδοφλεβίως, είτε με από του στόματος χορήγηση. **Γ.** Οι Μελέτες συσχέτισης με όλο το ανθρώπινο γονιδίωμα (Genome-wide association studies-GWAS) μπορούν να μας αναδείξουν πολυμορφισμούς που προβλέπουν τον κλινικό κίνδυνο ενός ασθενούς για ανάπτυξη ασθενειών, για απόκριση σε μια θεραπεία ή την επιθετικότητα μιας νόσου, παρέχοντας παράλληλα μοριακές πληροφορίες για την επίδραση των πολυμορφισμών στην γονιδιακή έκφραση βασικών γονιδίων. (CDS: κωδικοποιητική ακολουθία) (12)

3.2 Θεραπείες που βασίζονται σε lncRNAs

Τα μη κωδικοποιητικά μακρά RNAs παίζουν σημαντικό ρόλο στην ογκογένεση και στην εξέλιξη του όγκου (86). Τα lncRNAs μπορεί να είναι πολλά υποσχόμενοι στόχοι για τον έλεγχο του καρκίνου. Έχουν καταβληθεί ορισμένες προσπάθειες για τη θεραπεία μέσω lncRNA σε ζωικά μοντέλα μέσω διαφόρων μεθόδων. Ωστόσο, αυτές οι προσεγγίσεις μπορούν να συνοψιστούν σε τέσσερις τύπους που στοχεύουν τα lncRNAs στη θεραπεία του καρκίνου (Εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2:Στόχευση των lncRNAs για τη θεραπεία του καρκίνου. **1)** Απενεργοποίηση (knock-out) των μεταγραφικών επιπέδων των κυτταροπλασματικών και πυρηνικών lncRNAs μέσω των ASOs που επιτυγχάνεται μέσω αποικοδόμησής των από την RNaseH. **2)** CRISPR-cas9 στρατηγική απενεργοποίησης (knock-out) των lncRNAs μέσω συγκεκριμένου gDNA. **3)** Δύο μέθοδοι ιϊκής θεραπείας, ενθυλακώμενα shRNA ή διαμεσολαβούμενη από lncRNAs απενεργοποίηση ή αυξημένη έκφραση lncRNAs στόχων, ή μέσω των NATs μείωση της έκφρασης των lncRNAs, που αυξάνει έτσι την έκφραση γειτονικών ογκοκατασταλτικών γονιδίων. **4)** Νανο-μεταφορέας προσροφημένος σε νανο-φάρμακα που μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα ύστερα από συγκεκριμένη διέγερση. (12)

3.2.1 Αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs)

Τα αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs), τα οποία μπορούν να σχηματίσουν δομή DNA-RNA με RNA στόχο μέσω των κανόνων ζευγαρώματος των βάσεων, μπορούν να προκαλέσουν αποικοδόμηση του RNA που προκαλείται από την Rnase-H. Τα ASOs έχουν δοκιμαστεί κλινικά για στόχευση των mRNAs στον καρκίνο (162). Όπως έχει προαναφερθεί, η έκφραση των lncRNAs ρυθμίζει την ογκογένεση και την εξέλιξη του όγκου (163-167). Η στόχευση των lncRNAs από τα ASOs μπορεί να είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος για τη θεραπεία του καρκίνου.

Η απενεργοποίηση (knock-out) του MALAT1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1) από τα ASOs ανέστειλε σημαντικά την ανάπτυξη και τη μετάσταση των όγκων, και συγκεκριμένα του καρκίνου του μαστού (168) και του καρκίνου του πνεύμονα (169). Ο καρκίνος του προστάτη είναι ήπιος στους περισσότερους ασθενείς, ενώ μόνο ένα μικρό ποσοστό ασθενών εμφανίζει σαφή επιδείνωση των συμπτωμάτων. (170, 171) Μία μελέτη διαπίστωσε ότι ένα μικρό ποσοστό ασθενών με υψηλή έκφραση του SchLAP1 (lncRNA second chromosome locus associated with prostate-1) εμφάνισε σημαντικά περιορισμένη εμφάνιση του όγκου και μεταστατική του ικανότητα, μετά από τη ρύθμιση του lncRNA-SchLAP1 μέσω μεσολάβησης των ASOs (162), παρέχοντας διέξοδο για την κλινική θεραπεία του κακοήθους καρκίνου του προστάτη. Επιπλέον, η στόχευση του lnc-USMycN από το LNA-ASO ανέστειλε σημαντικά το σχηματισμό όγκων σε ποντίκια με νευροβλάστωμα (172).

Λόγω της κακής διεισδυτικότητας των ASOs μέσω των μεμβρανών, τα ASOs περιορίζονται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και είναι δύσκολο για αυτά να διαχειριστούν τα lncRNAs (173). Αν και πρόσφατες μελέτες έχουν καταδείξει την αφθονία της RNase-H μέσα στον πυρήνα, είναι ακόμη δύσκολο να ληφθούν ακριβή θεραπευτικά αποτελέσματα αυτής. Η διασύνδεση των ASOs με την νανοτεχνολογία μπορεί να είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος για το μέλλον (**Εικόνα 3.2**).

3.2.2 Τεχνική CRISPR / Cas9 για επεξεργασία του γονιδιώματος

Ως τεχνολογία για τροποποίηση του DNA σε στοχευμένα γονιδια, το CRISPR / Cas9 λαμβάνει επίσης μεγάλης προσοχής στη θεραπεία του καρκίνου. Πρόσφατες μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι το CRISPR / Cas9 μπορεί να σταματήσει επιτυχώς τη μεταγραφή γενετικών τόπων που εκφράζουν lncRNAs (174,175). Το CRISPR / Cas9 στόχευσε τη μεταγραφική θέση ενός υποκινητή γονιδίων για να σταματήσει τη μεταγραφή (176). Μελέτες έχουν δείξει ότι περισσότεροι από 16.000 υποκινητές lncRNAs στο ανθρώπινο γονιδίωμα θα μπορούσαν να στοχοποιηθούν από οδηγούς RNAs (177).

Το σύστημα CRISPR / Cas9 έχει χρησιμοποιηθεί για τη στόχευση χρωμοσωμικού DNA σε καρκινικά κύτταρα και ζωικά μοντέλα καρκίνου. Για παράδειγμα, η απενεργοποίηση (knock out) των lncRNA-NEAT1 και lncRNA-MALAT1 ανέστειλε σημαντικά τη μεταστατική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων.(178,179) Το LncRNA-NEAT1 εμπλέκεται στη ρύθμιση της γονιδιακής απόκρισης στο στρες που προκαλείται από την αντιγραφή των καρκινικών κυττάρων και στη χημειοευαισθησία των καρκινικών κυττάρων. Η απενεργοποίηση (knock-out) του LncRNA-NEAT1 προκαλεί την ευαισθησία των προκαρκινικών κυττάρων μέσω ενεργοποίησης του κυτταρικού θανάτου που προκαλείται από βλάβη στο DNA και προάγει την τοξική δράση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων στα καρκινικά κύτταρα (178).

Ένα άλλο lncRNA- το lncRNA-GMAN- είναι ένα μακρό μη κωδικοποιητικό RNA που σχετίζεται με τη μεταστατική ικανότητα του καρκίνου του στομάχου. Το GMAN εκφράζεται ιδιαίτερα σε καρκινικά κύτταρα του στομάχου και σχετίζεται με κακή πρόγνωση (180). Ένα καλά σχεδιασμένο πείραμα σε πειραματόζωα, και συγκεκριμένα σε ποντίκια, διαπίστωσε ότι η μεταφορά ενός γονιδιακού συστήματος CRISPR / Cas9 που στοχεύει το GMAN κατέστειλε σημαντικά τη μεταστατική δράση των καρκινικών κυττάρων του στομάχου και βελτίωσε τη συνολική επιβίωση (180).

Πολλά lncRNAs εκφράζονται ειδικά στους διάφορους ιστούς και ακόμη και σε διάφορους ανθρώπους. Ως εκ τούτου, είναι κλινικά δυνατό να γίνεται εξατομικευμένη θεραπεία ανάλογα με την κατάσταση των ασθενών. Παρόλο που το CRISPR / Cas9 έχει ευρεία προσαρμοστικότητα και ειδικότητα στόχων

ως “επεξεργαστής του γονιδιώματος” θεωρητικά, συμβάντα αποτυχίας εκπλήρωσης του στόχου μπορούν ακόμη να συμβούν σε διάφορες κλινικές εφαρμογές (181, 182) Ως εκ τούτου, οι ογκολόγοι θα πρέπει να είναι πιο προσεκτικοί στο σχεδιασμό της θεραπείας μέσω γονιδιακής επεξεργασίας. Τώρα, η κλινική χρήση του συστήματος CRISPR / Cas9 που στοχεύει το lncRNA για τη θεραπεία του καρκίνου μπορεί να είναι ασαφής. (183) (Εικόνα 3.2).

3.2.3 Ιικοί φορείς

Ως μέθοδος επιμόλυνσης ως παρεμβαλόμενα RNA (RNAi), οι ιικοί φορείς περιλαμβάνουν κυρίως ανασυνδυασμένους φορείς αδενοϊού (adeno-virus), φακοϊού (lenti-virus) και ρετροϊού (retro-virus). Το RNAi είναι μια βιολογική διαδικασία απενεργοποίησης ειδικών γονιδίων μέσω εξουδετέρωσης ενός στοχευμένου RNA από ένα εξωγενές δίκλωνο RNA, που βρέθηκε για πρώτη φορά στο *Caenorhabditis elegans* (184-186), και το οποίο συνδυάζει παρεμβαλλόμενο RNA (siRNAs) και μικρό RNA σχηματισμού φουρκέτας (shRNAs). Παρά την εξειδίκευσή του, η αποτελεσματικότητα του siRNA είναι παροδική λόγω της αστάθειάς του, ενώ το shRNA μπορεί να προσφέρει ένα ανθεκτικό και μακροχρόνιο αποτέλεσμα *in vivo* (187-190).

Συγκεκριμένα, η εφαρμογή αδενοϊικών φορέων είναι πολύ πιο εκτεταμένη και υπάρχουν διάφορες κλινικές μελέτες (191-193) Οι αδενοϊικοί φορείς (AAV) είναι δομές μη επικαλυμμένου, μονόκλωνου DNA (194). Ο αδενοϊικός φορέας (AAV) είναι ένα αποτελεσματικό γονιδιακό σύστημα μεταφοράς, κυρίως λόγω της μη παθογονικότητάς του, απαλλαγμένο από την ανοσοαπόκριση και με σταθερότητα σε ζωντανά κύτταρα (195) Μετά από έλεγχο σε μεγάλης κλίμακα, έχουν αναπτυχθεί πιο ιδανικοί αδενοϊικοί φορείς (AAV) για τα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα (196) Οι αδενοϊικοί φορείς (AAV) έθεσαν μια σταθερή βάση για την κλινική θεραπεία των όγκων στοχεύοντας το lncRNA.

Υπήρξαν πολλές αναφορές σχετικά με τη χρήση των shRNAs για τη στόχευση των lncRNAs στη θεραπεία του καρκίνου. Σε μια πρόσφατη μελέτη, η knockdown κυτταρική σειρά του lncRNA-BCAR4- που κατασκευάστηκε με

επιμόλυνση με φακοϊούς (lenti-viruses)- ανέστειλε σημαντικά τη δημιουργία μεταστάσεων σε καρκίνο του μαστού in vivo σε ποντίκια (197). Επιπλέον, η επιμόλυνση του HOTAIRshRNA με ένα ρετροϊό σε κυτταρική σειρά καρκίνου του στομάχου ανέστειλε σημαντικά την ενδοπεριτοναϊκή εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων (198). Διαπιστώθηκε επίσης ότι η απενεργοποίηση του lncRNA-PNUTS από ένα σύστημα αδενοϊικού φορέα θα μπορούσε να μειώσει το σχηματισμό πρωτοπαθούς καρκίνου του μαστού και μεταστάσεων μέσω της αναστολής της έκφρασης του μεταστατικού Ki-67 (160) (**Εικόνα 3.2**).

Από την άλλη, ορισμένα lncRNAs με ογκοκατασταλτική λειτουργία, εκφράζονται σε χαμηλά επίπεδα σε όγκους. Θα ήταν εφικτό λοιπόν, να αυξηθεί η έκφραση αυτών των lncRNAs για να επιτευχθεί η θεραπεία του καρκίνου. Η επιμόλυνση από ιούς, ως η κύρια μέθοδος για την ακριβή μετάδοση του πλασμιδιακού shRNA στη θέση στόχο, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη διαμόλυνση lncRNA πλασμιδίων που έχουν συντεθεί εξωγενώς σε καρκινικά κύτταρα ώστε να αυξηθεί η παραγωγή των αντίστοιχων lncRNAs. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω πειραματικά δεδομένα για την επαλήθευση της σκοπιμότητας και της πρακτικότητας αυτής της μεθόδου (**Εικόνα 3.2**).

Υπάρχει επίσης μια μικρή κατηγορία ειδικών μη κωδικοποιητικών RNA στο ανθρώπινο γονιδίωμα, τα φυσικά αντιπληροφοριακά RNAs (NATs), τα οποία ανήκουν στα μη κωδικοποιητικά RNA και είναι αντινοσηματικά για το γονίδιο που κωδικοποιεί για πρωτεΐνη (199). Μελέτες έχουν δείξει ότι η αναστολή της έκφρασης των NATs μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση γειτονικών / αλληλεπικαλυπτόμενων κωδικοποιητικών γονιδίων (200,201). Επομένως, είναι δυνατόν να εφαρμοστεί μια μέθοδος όπως η ASO για την απενεργοποίηση των NATs που γεινιάζουν ή αλληλεπικαλύπτονται με ορισμένα ογκοκατασταλτικά γονίδια, όπως τα: CDKN2B (ANRIL) και CDKN1A (P21-AS) (202,203) και στη συνέχεια η αύξηση της έκφρασής τους για τη θεραπεία του καρκίνου (**Εικόνα 3.2**).

Αν και η επιμόλυνση ιϊκών φορέων έχει επιτύχει εξαιρετικά θεραπευτικά αποτελέσματα στη βασική έρευνα, η πολυπλοκότητα αυτών στην εφαρμογή τους στις κλινικές δοκιμές είναι αξιοσημείωτη. (204,205) Επομένως, ο έλεγχος

της δόσης τους και η πιθανότητα των ιογενών λοιμώξεων θα πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη σε μελλοντικές εφαρμογές τους.

3.2.4 Νανοϊατρική

Αφού προτάθηκε τη δεκαετία του 1990, η νανοτεχνολογία κατέκτησε σταδιακά εξέχουσα θέση λόγω του μικρού μεγέθους της, της βιοαποικοδομησιμότητάς της, της ικανότητάς της να συνδυάζεται ομοιοπολικά με μια μεγάλη ποικιλία φαρμάκων μικρού μοριακού βάρους και της ικανότητας επίτευξης πυρηνικών στόχων. Κατά συνέπεια, η δυναμική της στη θεραπεία του καρκίνου και των σχετικών ασθενειών έχει σταδιακά αναπτυχθεί.

Η νανοϊατρική αποτελείται συνήθως από τέσσερις κύριες δομές: φάρμακο, θεραπευτικός στόχος, παράγοντας απεικόνισης και συνδέτης. Στην ταξινόμηση των νανοϊατρικών φαρμάκων τρίτης γενιάς, πέντε τύποι νανοφαρμάκων έχουν προταθεί με βάση την ειδική αντίσταση του καρκίνου, συμπεριλαμβανομένων των ακόλουθων:

- Νανοσωματίδια με βάση τα λιπίδια (λιποσώματα), τα οποία είναι κυστίδια με βάση τα λιπίδια που είναι ικανά να μεταφέρουν ωφέλιμα φορτία είτε σε ένα υδατικό διαμέρισμα είτε ενσωματωμένο στη λιπιδική διπλή στιβάδα και έχουν χρησιμοποιηθεί προηγουμένως σε συνδυασμό με την πακλιταξέλη για να στοχεύσουν τον ανθρώπινο υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER2) σε κλινικές δοκιμές (206)
- Τα νανοσωματίδια και τα μικκύλια -με βάση τα πολυμερή- αποτελούνται από βιοαποικοδομήσιμα ή φυσικά πολυμερή ομοιοπολικά διασυνδεδεμένα με θεραπευτικά σωματίδια. Μεταξύ αυτών των νανοσωματιδίων και μικκυλίων, δύο πολυμερή -τα: πολυλακτίδιο (PLA) και πολυ (λακτίδιο-συν-γλυκολίδιο) (PLGA)- έχουν χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση νανοφαρμάκων εγκεκριμένων από την FDA (207)
- Τα δενδριμερή είναι καλά καθορισμένες σφαιρικές δομές με κεντρικό πυρήνα αποτελούμενο από πολλαπλά διακλαδισμένα πολυμερή. Έχουν διεξαχθεί διάφορες κλινικές δοκιμές με τη χρήση σύνθετων δομών-δενδριμερών για τη μεταφορά της πακλιταξέλης στη στοχευμένη θεραπεία του καρκίνου του μαστού και του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα

(208)

- Τα νανοσωματίδια με βάση τον άνθρακα απελευθερώνουν κυρίως σωματίδια φαρμάκου στο κυτταρόπλασμα μέσω διείσδυσης της κυτταρικής μεμβράνης με τη δημιουργία οπών σε αυτή. Επομένως, τα συστατικά υλικά των νανοσωματιδίων με βάση τον άνθρακα πρέπει να είναι λεπτού και μικρού μεγέθους, καθώς και βιοαποικοδομήσιμα. Προηγούμενες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει αυτό το υλικό για τη θεραπεία του καρκίνου (209)
- Μεταλλικά και μαγνητικά νανοσωματίδια, όπως νανοσωματίδια χρυσού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά μικρών μορίων, όπως: πρωτεϊνών, και μπορούν να απελευθερώσουν ομοιοπολικά δεσμευμένα φάρμακα μέσω φωτοφυσικών ιδιοτήτων, όπως: ο παράγοντας νέκρωσης όγκου α (TNF α) που συνδέεται -ως κολλοειδές- με χρυσό για τη θεραπεία συμπαγών όγκων (210,211).

Αν και οι επιστήμονες έχουν αναπτύξει ποικίλες νανοφαρμακευτικές ουσίες, η ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων σε πολλαπλά φάρμακα (MDR) εξακολουθεί να αποτελεί θεραπευτική πρόκληση. Η P-γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων, μπορεί να ενεργοποιήσει την είσοδο αντικαρκινικών φαρμάκων εντός των καρκινικών κυττάρων, οδηγώντας σε σημαντική μείωση της δραστηριότητας του φαρμάκου. Ομοίως, τα lncRNAs μπορούν επίσης να ρυθμίσουν την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων σε διαφορετικούς τύπους φαρμάκων. Το lncRNA που σχετίζεται με τον ουροθηλιακό καρκίνο- 1 (UCA1) εμπλέκεται στη χημική αντίσταση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης ρυθμίζοντας το Wnt6 (212) και το lncRNA MACC1-AS1 εμπλέκεται στη χημική αντίσταση του καρκίνου του στομάχου μέσω οξειδωσης των λιπαρών οξέων (213).

Επιπλέον, έχει δημιουργηθεί ένα σύστημα για τη σταθερή μεταφορά των νανοφαρμάκων στον πυρήνα. Μηχανικά, το νανο-φάρμακο συνδέεται με το νανο-μεταφορέα μέσω ενός απταμερούς, το οποίο διευκολύνει τη διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών και στη συνέχεια αποσυνδέει το νανο-φάρμακο από το νανο-μεταφορέα εντός του κυτταροπλάσματος, μέσω εφαρμογής ακτινοβολίας κοντά στο υπέρυθρο (NIR) (700-900 nm) (214)-

μπαίνοντας τελικά έτσι στον πυρήνα (214) Δεδομένου ότι η πλειονότητα των lncRNAs βρίσκονται στον πυρήνα των κυττάρων, μέσω αυτού του συστήματος, τα πυρηνικά lncRNAs μπορούν να στοχεύονται με ακρίβεια και αποτελεσματικότητα για να επιτυγχάνεται το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα. **(Εικόνα 3.2)**

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Μελλοντικές κατευθύνσεις

4.1 Ορισμός του lncRNA ως συστατικό του ανθρώπινου γονιδιώματος

Προχωρώντας, είναι σαφές ότι η συστηματική ταυτοποίηση και ανάλυση των lncRNAs, καθώς και τα μοτίβα έκφρασής τους στους ανθρώπινους ιστούς και στις ασθένειες, είναι σημαντική για την αποσαφήνιση της μοριακής βιολογίας του υποκείμενου καρκίνου. Οι προσπάθειες αυτές θα διευκολυνθούν από μεγάλης κλίμακας μελέτες RNA-Seq ακολουθούμενες από *ab initio* ή *de novo* ακολουθία δεδομένων για την ανακάλυψη lncRNAs (215).

Ωστόσο, όλο και περισσότερο εκτιμάται ότι ένας αριθμός αναγνωρισμένων αλλά μη χαρακτηρισμένων μεταγραφών, αποτελούν σημαντικά lncRNAs. Το *HOTTIP* είναι ένα τέτοιο παράδειγμα (216). Παρομοίως, τα αλληλεπιδρούμενα με STAU1-lncRNAs που περιγράφονται από τον Gong και τους συνεργάτες του (80) βρέθηκαν επίσης να περιέχουν σαφείς Alu επαναλήψεις. Αν και αυτά τα παραδείγματα αντιμετωπίστηκαν ως μη κωδικοποιόντα γονίδια, είναι επίσης πιθανό ότι άλλα αναγνωρισμένα γονίδια, που αναφέρονται σε πρώιμες μελέτες ως κωδικοποιόντα πρωτεΐνες - αλλά μη μελετημένα πειραματικά- αποτελούν μη επισημασμένα ncRNA γονίδια. Αυτά μπορεί να περιλαμβάνουν τα γενικά γονίδια "ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης" (ORF) (όπως γονίδια LOCxxx ή CxxORFxx) που δεν έχουν μελετηθεί λεπτομερώς.

Υποστηρίζοντας αυτήν την ιδέα, οι Dinger et al. (217) πρόσφατα υποστήριξαν την ιδέα ότι η διάκριση- μέσω βιοπληροφορικής- μεταξύ γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και μη κωδικοποιόντων γονιδίων μπορεί να είναι δύσκολη; και ότι οι παραδοσιακές υπολογιστικές μέθοδοι για να γίνει αυτό μπορεί να είναι ανεπαρκείς σε πολλές περιπτώσεις. Για παράδειγμα, το *XIST* ταυτοποιήθηκε αρχικά ως γονίδιο που κωδικοποιεί πρωτεΐνη επειδή έχει ένα πιθανό, αχρησιμοποίητο ORF σχεδόν 300 αμινοξέων (218). Πρόσθετες περαιτέρω επιπλοκές περιλαμβάνουν την αυξανόμενη έκφραση των μεταγραφών mRNA που λειτουργούν τόσο κωδικοποιώντας μια πρωτεΐνη όσο και σε επίπεδο RNA; και οι οποίες θα υποστηρίζουν τις υποθέσεις δέσμευσης των miRNAs που θέτουν οι Poliseno και συνεργάτες (81, και πολύ μικρών ORF (κωδικοποιητικά πεπτιδία <10 kDa) (219).

4.2 Διασαφήνιση του ρόλου των συντηρημένων lncRNAs

Γενικά, τα περισσότερα εξόνια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες είναι πολύ συντηρημένα και τα περισσότερα lncRNAs είναι ελάχιστα συντηρημένα. Αυτό δεν είναι πάντα αλήθεια: τα T-UCRs είναι βασικά παραδείγματα διατηρημένων ncRNAs. Ωστόσο, η μεγάλη πλειοψηφία των lncRNAs εμφανίζουν σημαντική απόκλιση στην αλληλουχία τους μεταξύ των ειδών, και τα lncRNAs που είναι ισχυρά συντηρημένα, συχνά εμφανίζουν αυτή τη συντηρημένη ακολουθία σε μια περιορισμένη μόνο περιοχή του μεταγράφου και όχι στο υπόλοιπο του γονιδίου.

Αυτό το ερώτημα έχει προκαλέσει πολλές υποθέσεις, πολλές από τις οποίες έχουν αξία. Μικρές συντηρημένες περιοχές θα μπορούσαν να υποδεικνύουν λειτουργικές περιοχές ενός δεδομένου ncRNA, όπως μια θέση σύνδεσης για πρωτεΐνες, miRNAs, mRNAs ή γονιδιωματικό DNA. Η ανάπτυξη άφθονων ειδών ncRNAs θα μπορούσε επίσης να υποδηλώνει εξελικτική πρόοδο καθώς αναπτύσσονται διάφορα είδη. Προς υποστήριξη αυτής της τελευταίας πρότασης, πολλοί ερευνητές σχολίασαν ότι τα σύνθετα γονιδιώματα των θηλαστικών (όπως το ανθρώπινο γονιδίωμα) έχουν ένα τεράστιο αυξημένο μη κωδικοποιητικό DNA στο γονιδίωμά τους σε σύγκριση με τους μονοκύτταρους οργανισμούς και τα νηματοειδή, ενώ τα συμπληρωματικά γονίδια που κωδικοποιούν για πρωτεΐνες ποικίλλουν λιγότερο κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ειδών (220).

Για τα lncRNAs, το ζήτημα της συντηρημένης αλληλουχίας είναι υψίστης σημασίας. Ωστόσο, είναι πλέον καθιερωμένο ότι τα ανεπαρκώς συντηρημένα lncRNAs μπορεί να είναι βιολογικά σημαντικά, αλλά δεν είναι σαφές εάν αυτά τα lncRNA αντιπροσωπεύουν εξειδικευμένα χαρακτηριστικά για κάθε είδος ή αν δεν έχουν βρεθεί λειτουργικά ομόλογά τους. Για παράδειγμα, το AIR περιγράφηκε αρχικά σε ποντίκια τη δεκαετία του 1980, αλλά ένα ανθρώπινο ομόλογό του δεν είχε εντοπιστεί μέχρι το 2008 (221).

Επιπλέον, ακόμη και lncRNAs με σχετικά υψηλά συντηρημένες περιοχές, όπως το HOTAIR, μπορεί να έχουν ειδική λειτουργία για κάθε είδος. Πράγματι, μια μελέτη του *HOTAIR* ποντικού (mHOTAIR) έδειξε ότι το mHOTAIR δεν ρυθμίζει τον τόπο *HoxD* και δεν εκφράζει τις λειτουργίες που

παρατηρούνται σε ανθρώπινα κύτταρα (222). Άλλα ncRNAs που παρατηρήθηκαν σε ποντίκια, όπως το linc-p21, δείχνουν επίσης περιορισμένη ομολογία αλληλουχιών στις παραλλαγές τους στον άνθρωπο και μπορεί επίσης να έχουν διαφορετικές λειτουργίες. Αυτό μπορεί να υποστηρίξει υποθέσεις ταχείας εξέλιξης των lincRNAs κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των θηλαστικών. Επιπλέον, αυτό μπορεί να υποδηλώνει είτε ότι τα lincRNAs μπορεί να έχουν λειτουργίες ανεξάρτητες από τα συντηρημένα πρωτεϊνικά σύμπλοκα (τα οποία έχουν συγκριτικά στατικές λειτουργίες καθ' όλη την εξέλιξη) ή ότι τα lincRNAs μπορεί να προσαρμοστούν ώστε να συνεργάζονται με διαφορετικές πρωτεϊνικές ομάδες στα διαφορετικά είδη.

4.3 Προσδιορισμός σωματικών μεταλλάξεων των lincRNAs στον καρκίνο

Μέχρι σήμερα, η σωματική μετάλλαξη των lincRNAs στον καρκίνο δεν έχει διερευνηθεί καλά. Αν και πολλά lincRNAs εμφανίζουν αλλοιωμένα επίπεδα έκφρασής τους στον καρκίνο, δεν είναι σαφές σε ποιο βαθμό οι καρκίνοι στοχεύουν συγκεκριμένα lincRNAs για ενίσχυση / έλλειψη γονιδιώματος, σωματικές μεταλλάξεις ή άλλες στοχευμένες μεταβολές.

Σε αρκετά παραδείγματα, τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα lincRNAs μπορεί να είναι στόχος σωματικών μεταλλάξεων στον καρκίνο. Για παράδειγμα, περίπου το 50% των καρκίνων του προστάτη εμφανίζουν γονιδιακές συντήξεις των παραγόντων μεταγραφής της οικογένειας ETS (ERG, ETV1, ETV4, ETV5), οι οποίοι γενικά έχουν ως αποτέλεσμα τη μετατόπιση ενός υποκινητή που ρυθμίζεται από τα ανδρογόνα για να οδηγήσει στην αύξηση της έκφρασης του γονιδίου ETS (223). Ένας ασθενής βρέθηκε αρχικά να έχει μια μετατόπιση-ETV1 σε μια διαγονιδιακή περιοχή που ρυθμίζεται από ανδρογόνα (224), η οποία στη συνέχεια βρέθηκε να κωδικοποιεί ένα ειδικό για τον προστάτη lincRNA (PCAT-14) (116), δημιουργώντας έτσι γονιδιακή σύντηξη μεταξύ του lincRNA και του ETV1. Παρομοίως, έχει αναφερθεί γονιδιακή σύντηξη γονιδίου GAS5-BCL6, που προκύπτει από χρωμοσωμική μετατόπιση και διατηρώντας την πλήρη κωδικοποιητική αλληλουχία του *BCL6*, σε ασθενή με B-Non Hodgkin λέμφωμα (225). Τέλος, οι Poliseno και οι συνεργάτες (130) έδειξαν ότι το PTEN-pseudogene (PTENP1), διαγράφεται γονιδιακά σε καρκίνο προστάτη και

παχέος εντέρου, οδηγώντας σε μη φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης αυτών των γονιδίων.

Αυτά τα αρχικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι σωματικές μεταλλάξεις των lncRNAs συμβάλλουν στη δυσρυθμισμένη λειτουργία τους στον καρκίνο, αν και οι περισσότερες μελέτες μέχρι σήμερα προσδιορίζουν τις μεταβολές της γονιδιακής έκφρασης ως την κύρια αλλαγή στη λειτουργία των lncRNAs. Ωστόσο, η μελέτη των μεταλλαγμένων lncRNAs στον καρκίνο θα είναι ένας τομέας μεγάλης σημασίας σε μελλοντικές έρευνες, επειδή αρκετά εξέχοντα ογκογόνα, όπως το KRAS, δεν δείχνουν ουσιαστική αλλαγή στο επίπεδο έκφρασης της πρωτεΐνης σε μεταλλαγμένα κύτταρα σε σύγκριση με μη μεταλλαγμένα.

4.4 Χαρακτηρισμός RNA-δομικών μοτίβων

Ακριβώς όπως τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεταφράζονται σε συγκεκριμένα πρωτεϊνικά μοτίβα που μεσολαβούν σε διαφορετικές λειτουργίες (π.χ. περιοχή κινάσης), τα μόρια RNA έχουν περίπλοκες και ειδικές δομές. Μεταξύ των πιο γνωστών δομών RNA είναι ο σχεδιασμός στελέχους-βρόχου-στελέχους μιας φουρκέτας, που είναι αναπόσπαστο μέρος για τη δημιουργία miRNA (226). Οι RNA δομές είναι επίσης γνωστό ότι είναι απαραίτητες για τη σύνδεση με πρωτεΐνες, ιδιαίτερα τις PRC2 πρωτεΐνες (227). Ωστόσο, τα προφίλ των δομών των lncRNAs είναι ελάχιστα κατανοητά. Αν και είναι σαφές ότι η δομή των lncRNAs είναι σημαντική για τη λειτουργία τους, λίγα μόρια RNA είναι καλά χαρακτηρισμένα. Επιπλέον, είναι πιθανό οι περιοχές των RNA να εμφανίζονται στο επίπεδο της δευτερεύουσας δομής, επειδή οι αλληλουχίες των lncRNAs είναι πολύ διαφορετικές; αλλά μπορεί να σχηματίσουν παρόμοιες δευτερεύουσες δομές μετά από αναδίπλωση του RNA (228).

Για το σκοπό αυτό, τόσο οι βιοπληροφορικές όσο και οι πειραματικές εξελίξεις αρχίζουν να αντιμετωπίζουν αυτά τα θέματα. Αν και έχουν προταθεί πολυάριθμοι υπολογιστικοί αλγόριθμοι για την πρόβλεψη δομών RNA (228), ίσως η πιο δραματική εξέλιξη σε αυτόν τον τομέα ήταν η ανάπτυξη μεθόδων RNA-Seq για την ανίχνευση των πτυχών της δομής των RNA. Πρόσφατα, οι Frag-Seq και PARS-Seq χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των δομών

RNA με επεξεργασία δειγμάτων RNA με συγκεκριμένες RNases που διασπούν το RNA σε εξαιρετικά επιλεγμένες δομικές θέσεις. (229, 230) Αυτά τα τμήματα RNA στη συνέχεια υποβάλλονται σε επεξεργασία και προσδιορίζονται οι αλληλουχίες τους για να προσδιοριστούν οι θέσεις νουκλεοτιδίων όπου διασπάστηκαν τα μεταγραφημένα RNA; εκφράζοντας έμμεσα μια δευτερογενή δομή. Αυτός ο τομέας της έρευνας υπόσχεται να δώσει σημαντικά αποτελέσματα για τη συνολική μηχανική της λειτουργίας των lncRNAs.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Matsubara K, Okubo K. Identification of new genes by systematic analysis of cDNAs and database construction. *Curr Opin Biotechnol.* 1993; 4:672–7. [PubMed: 7764463]
- 2) Liang F, Holt I, Pertea G, Karamycheva S, Salzberg SL, Quackenbush J. Gene index analysis of the human genome estimates approximately 120,000 genes. *Nat Genet.* 2000; 25:239–40. [PubMed: 10835646]
- 3) Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001; 409:860–921. [PubMed: 11237011]
- 4) Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, Guigo R, Gingeras TR, Margulies EH, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature.* 2007; 447:799–816. [PubMed: 17571346]
- 5) van Dijk EL, Chen CL, d'Aubenton-Carafa Y, Gourvennec S, Kwapisz M, Roche V, et al. XUTs are a class of Xrn1-sensitive antisense regulatory non-coding RNA in yeast. *Nature.* 2011; 475:114–7. [PubMed: 21697827]
- 6) Kapranov P, Cheng J, Dike S, Nix DA, Dutttagupta R, Willingham AT, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science.* 2007; 316:1484–8. [PubMed: 17510325]
- 7) Huarte M, Rinn JL. Large non-coding RNAs: missing links in cancer? *Hum Mol Genet.* 2010; 19:R152–61. [PubMed: 20729297]
- 8) Pauli A, Rinn JL, Schier AF. Non-coding RNAs as regulators of embryogenesis. *Nat Rev Genet.* 2011; 12:136–49. [PubMed: 21245830]
- 9) Prensner JR, Iyer MK, Balbin OA, Dhanasekaran SM, Cao Q, Brenner JC, et al. Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies

PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression. *Nat Biotechnol.* 2011

10) Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer.* 2011; 10:38. [PubMed: 21489289]

11) Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger M, Mattick JS. Non-coding RNAs: regulators of disease. *J Pathol.* 2010; 220:126–39. [PubMed: 19882673]

12) Prensner JR, Chinnaiyan AM. The Emergence of lncRNAs in Cancer Biology. *Cancer Discov* 2011 Oct;1(5):391-407. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0209.

13) Cao Q, Mani RS, Ateeq B, Dhanasekaran SM, Asangani IA, Prensner JR, et al. Coordinated Regulation of Polycomb Group Complexes through microRNAs in Cancer. *Cancer Cell.* 2011; 20:187–99. [PubMed: 21840484]

14) He Y, Vogelstein B, Velculescu VE, Papadopoulos N, Kinzler KW. The antisense transcriptomes of human cells. *Science.* 2008; 322:1855–7. [PubMed: 19056939]

15) Faulkner GJ, Kimura Y, Daub CO, Wani S, Plessy C, Irvine KM, et al. The regulated retrotransposon transcriptome of mammalian cells. *Nat Genet.* 2009; 41:563–71. [PubMed: 19377475]

16) Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, Feldser D, et al. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature.* 2009; 458:223–7. [PubMed: 19182780]

17) Kim TK, Hemberg M, Gray JM, Costa AM, Bear DM, Wu J, et al. Widespread transcription at neuronal activity-regulated enhancers. *Nature.* 2010; 465:182–7. [PubMed: 20393465]

18) Calin GA, Liu CG, Ferracin M, Hyslop T, Spizzo R, Sevignani C, et al. Ultraconserved regions encoding ncRNAs are altered in human leukemias and carcinomas. *Cancer Cell.* 2007; 12:215–29. [PubMed: 17785203]

19) Braconi C, Valeri N, Kogure T, Gasparini P, Huang N, Nuovo GJ, et al. Expression and functional role of a transcribed noncoding RNA with an

ultraconserved element in hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108:786–91. [PubMed: 21187392]

20) Brown CJ, Ballabio A, Rupert JL, Lafreniere RG, Grompe M, Tonlorenzi R, et al. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature*. 1991; 349:38–44. [PubMed: 1985261]

21) Bartolomei MS, Zemel S, Tilghman SM. Parental imprinting of the mouse H19 gene. *Nature*. 1991; 351:153–5. [PubMed: 1709450]

22) Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, Gough J, Frith MC, Maeda N, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*. 2005; 309:1559–63. [PubMed: 16141072]

23) Cheng J, Kapranov P, Drenkow J, Dike S, Brubaker S, Patel S, et al. Transcriptional maps of 10 human chromosomes at 5-nucleotide resolution. *Science*. 2005; 308:1149–54. [PubMed: 15790807]

24) Trapnell C, Williams BA, Pertea G, Mortazavi A, Kwan G, van Baren MJ, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nat Biotechnol*. 2010; 28:511–5. [PubMed: 20436464]

25) Guttman M, Garber M, Levin JZ, Donaghey J, Robinson J, Adiconis X, et al. Ab initio reconstruction of cell type-specific transcriptomes in mouse reveals the conserved multi-exonic structure of lincRNAs. *Nat Biotechnol*. 2010; 28:503–10. [PubMed: 20436462]

26) Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat Biotechnol*. 2011; 29:644–52. [PubMed: 21572440]

27) Guttman M, Donaghey J, Carey BW, Garber M, Grenier JK, Munson G, et al. lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation. *Nature*. 2011

28) GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global,

regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *Lancet* 2015; 385: 117171.

29) Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA and Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394424.

30) Iyer MK, Niknafs YS, Malik R, Singhal U, Sahu A, Hosono Y, Barrette TR, Prensner JR, Evans JR, Zhao S, Poliakov A, Cao X, Dhanasekaran SM, Wu YM, Robinson DR, Beer DG, Feng FY, Iyer HK and Chinnaiyan AM. The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nat Genet* 2015; 47: 199-208.

31) Wang KC and Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell* 2011; 43: 904-914.

32) Jiang MC, Ni JJ, Cui WY, Wang BY, Zhuo W. Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities- Review Article. *Am J Cancer Res* 2019;9(7):1354-1366.

33) Zhou Y, Zhong Y, Wang Y, Zhang X, Batista DL, Gejman R, Ansell PJ, Zhao J, Weng C and Klibanski A. Activation of p53 by MEG3 noncoding RNA. *J Biol Chem* 2007; 282: 2473124742.

34) Huarte M, Guttman M, Feldser D, Garber M, Koziol MJ, Kenzelmann-Broz D, Khalil AM, Zuk O, Amit I, Rabani M, Attardi LD, Regev A, Lander ES, Jacks T and Rinn JL. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell* 2010; 142: 409-419.

35) Hung T, Wang Y, Lin MF, Koegel AK, Kotake Y, Grant GD, Horlings HM, Shah N, Umbricht C, Wang P, Wang Y, Kong B, Langerod A, BorresenDale AL, Kim SK, van de Vijver M, Sukumar S, Whitfield ML, Kellis M, Xiong Y, Wong DJ and Chang HY. Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters. *Nat Genet* 2011; 43: 621-629.

- 36) Marin-Bejar O, Marchese FP, Athie A, Sanchez Y, Gonzalez J, Segura V, Huang L, Moreno I, Navarro A, Monzo M, Garcia-Foncillas J, Rinn JL, Guo S and Huarte M. Pint lincRNA connects the p53 pathway with epigenetic silencing by the Polycomb repressive complex 2. *Genome Biol* 2013; 14: R104.
- 37) Schmitt AM, Garcia JT, Hung T, Flynn RA, Shen Y, Qu K, Payumo AY, Peres-da-Silva A, Broz DK, Baum R, Guo S, Chen JK, Attardi LD and Chang HY. An inducible long noncoding RNA amplifies DNA damage signaling. *Nat Genet* 2016; 1370-1376.
- 38) Betts JA, Moradi Marjaneh M, Al-Ejeh F, Lim YC, Shi W, Sivakumaran H, Tropee R, Patch AM, Clark MB, Bartonicek N, Wiegman AP, Hillman KM, Kaufmann S, Bain AL, Gloss BS, Crawford J, Kazakoff S, Wani S, Wen SW, Day B, Moller A, Cloonan N, Pearson J, Brown MA, Mercer TR, Waddell N, Khanna KK, Dray E, Dinger ME, Edwards SL and French JD. Long noncoding RNAs CUPID1 and CUPID2 mediate breast cancer risk at 11q13 by modulating the response to DNA damage. *Am J Hum Genet* 2017; 101: 255-266.
- 39) Heward JA and Lindsay MA. Long non-coding RNAs in the regulation of the immune response. *Trends Immunol* 2014; 35: 408-419.
- 40) Atianand MK, Hu W, Satpathy AT, Shen Y, Ricci EP, Alvarez-Dominguez JR, Bhatta A, Schattgen SA, McGowan JD, Blin J, Braun JE, Gandhi P, Moore MJ, Chang HY, Lodish HF, Caffrey DR and Fitzgerald KA. A long noncoding RNA lincRNA-EPS acts as a transcriptional brake to restrain inflammation. *Cell* 2016; 165: 1672-1685.
- 41) Wang P, Xue Y, Han Y, Lin L, Wu C, Xu S, Jiang Z, Xu J, Liu Q and Cao X. The STAT3-binding long noncoding RNA linc-DC controls human dendritic cell differentiation. *Science* 2014; 344: 310-313.
- 42) Ranzani V, Rossetti G, Panzeri I, Arrigoni A, Bonnal RJ, Curti S, Guarini P, Provasi E, Sugliano E, Marconi M, De Francesco R, Geginat J, Bodega B, Abrignani S and Pagani M. The long intergenic noncoding RNA landscape of human lymphocytes highlights the regulation of T cell

differentiation by lincMAF-4. *Nat Immunol* 2015; 16: 318-325.

43) Hu G, Tang Q, Sharma S, Yu F, Escobar TM, Muljo SA, Zhu J and Zhao K. Expression and regulation of intergenic long noncoding RNAs during T cell development and differentiation. *Nat Immunol* 2013; 14: 1190-1198.

44) Jiang R, Tang J, Chen Y, Deng L, Ji J, Xie Y, Wang K, Jia W, Chu WM and Sun B. The long noncoding RNA Inc-EGFR stimulates T-regulatory cells differentiation thus promoting hepatocellular carcinoma immune evasion. *Nat Commun* 2017; 8: 15129.

45) Chen C, He W, Huang J, Wang B, Li H, Cai Q, Su F, Bi J, Liu H, Zhang B, Jiang N, Zhong G, Zhao Y, Dong W and Lin T. LNMAT1 promotes lymphatic metastasis of bladder cancer via CCL2 dependent macrophage recruitment. *Nat Commun* 2018; 9: 3826.

46) Huang D, Chen J, Yang L, Ouyang Q, Li J, Lao L, Zhao J, Liu J, Lu Y, Xing Y, Chen F, Su F, Yao H, Liu Q, Su S and Song E. NKILA lncRNA promotes tumor immune evasion by sensitizing T cells to activation-induced cell death. *Nat Immunol* 2018; 19: 1112-1125.

47) Sang LJ, Ju HQ, Liu GP, Tian T, Ma GL, Lu YX, Liu ZX, Pan RL, Li RH, Piao HL, Marks JR, Yang LJ, Yan Q, Wang W, Shao J, Zhou Y, Zhou T and Lin A. LncRNA CamK-A regulates Ca²⁺ signaling-mediated tumor microenvironment remodeling. *Mol Cell* 2018; 72: 71-83, e77.

48) Hardie DG, Ross FA and Hawley SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13: 251-262.

49) Liu X, Xiao ZD, Han L, Zhang J, Lee SW, Wang W, Lee H, Zhuang L, Chen J, Lin HK, Wang J, Liang H and Gan B. LncRNA NBR2 engages a metabolic checkpoint by regulating AMPK under energy stress. *Nat Cell Biol* 2016; 18: 431-442.

50) Leucci E, Vendramin R, Spinazzi M, Laurette P, Fiers M, Wouters J, Radaelli E, Eyckerman S, Leonelli C, Vanderheyden K, Rogiers A, Hermans E, Baatsen P, Aerts S, Amant F, Van Aelst S, van den Oord J, de Strooper B,

Davidson I, Lafontaine DL, Gevaert K, Van-desompele J, Mestdagh P and Marine JC. Melanoma addiction to the long non-coding RNA SAMMSON. *Nature* 2016; 531: 518-522.

51) Lin A, Li C, Xing Z, Hu Q, Liang K, Han L, Wang C, Hawke DH, Wang S, Zhang Y, Wei Y, Ma G, Park PK, Zhou J, Zhou Y, Hu Z, Zhou Y, Marks JR, Liang H, Hung MC, Lin C and Yang L. The LINK-A lncRNA activates normoxic HIF1alpha signalling in triple-negative breast cancer. *Nat Cell Biol* 2016; 18: 213-224.

52) Yang F, Zhang H, Mei Y and Wu M. Reciprocal regulation of HIF-1alpha and lincRNA-p21 modulates the warburg effect. *Mol Cell* 2014; 53: 88-100.

53) Shih JW, Chiang WF, Wu ATH, Wu MH, Wang LY, Yu YL, Hung YW, Wang WC, Chu CY, Hung CL, Changou CA, Yen Y and Kung HJ. Long noncoding RNA LncHIFCAR/MIR31HG is a HIF-1alpha co-activator driving oral cancer progression. *Nat Commun* 2017; 8: 15874.

54) Yang F, Huo XS, Yuan SX, Zhang L, Zhou WP, Wang F and Sun SH. Repression of the long noncoding RNA-LET by histone deacetylase 3 contributes to hypoxia-mediated metastasis. *Mol Cell* 2013; 49: 1083-1096.

55) Huang JZ, Chen M, Chen, Gao XC, Zhu S, Huang H, Hu M, Zhu H and Yan GR. A peptide encoded by a putative lncRNA HOXB-AS3 suppresses colon cancer growth. *Mol Cell* 2017; 68: 171-184, e176.

56) Xiao ZD, Han L, Lee H, Zhuang L, Zhang Y, Baddour J, Nagrath D, Wood CG, Gu J, Wu X, Liang H and Gan B. Energy stress-induced lncRNA FILNC1 represses c-Myc-mediated energy metabolism and inhibits renal tumor development. *Nat Commun* 2017; 8: 783.

57) Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease: old views and new perspectives. *Int J Dev Biol* 2009; 53: 1541-1547.

58) Nieto MA, Huang RY, Jackson RA and Thiery JP. EMT: 2016. *Cell* 2016; 166: 21-45.

- 59) Kalluri R and Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428.
- 60) Thiery JP, Acloque H, Huang RY and Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139: 871-890.
- 61) Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S and Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464: 1071-1076.
- 62) Akhurst RJ and Hata A. Targeting the TGFbeta signalling pathway in disease. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11: 790-811.
- 63) Ottaviani S, Stebbing J, Frampton AE, Zagorac S, Krell J, de Giorgio A, Trabulo SM, Nguyen VTM, Magnani L, Feng H, Giovannetti E, Funel N, Gress TM, Jiao LR, Lombardo Y, Lemoine NR, Heeschen C and Castellano L. TGF-beta induces miR-100 and miR-125b but blocks let7a through LIN28B controlling PDAC progression. *Nat Commun* 2018; 9: 1845.
- 64) Mondal T, Subhash S, Vaid R, Enroth S, Uday S, Reinius B, Mitra S, Mohammed A, James AR, Hoberg E, Moustakas A, Gyllenstein U, Jones SJ, Gustafsson CM, Sims AH, Westerlund F, Gorab E and Kanduri C. MEG3 long noncoding RNA regulates the TGF-beta pathway genes through formation of RNA-DNA triplex structures. *Nat Commun* 2015; 6: 7743.
- 65) Huang JF, Guo YJ, Zhao CX, Yuan SX, Wang Y, Tang GN, Zhou WP and Sun SH. Hepatitis B virus X protein (HBx)-related long noncoding RNA (lncRNA) down-regulated expression by HBx (Dreh) inhibits hepatocellular carcinoma metastasis by targeting the intermediate filament protein vimentin. *Hepatology* 2013; 57: 1882-1892.
- 66) Grelet S, Link LA, Howley B, Obellianne C, Palanisamy V, Gangaraju VK, Diehl JA and Howe PH. A regulated PNUTS mRNA to lncRNA splice switch mediates EMT and tumour progression. *Nat Cell Biol* 2017; 19: 1105-

1115.

67) Pádua Alves C, Fonseca AS, Muys BR, de Barros E Lima Bueno R, Bürger MC, de Souza JE, Valente V, Zago MA, Silva WA Jr. Brief report: the lincRNA hotair is required for epithelial-to-mesenchymal transition and stemness maintenance of cancer cell lines. *Stem Cells* 2013; 31: 2827-2832.

68) Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F and Zheng SS. Overexpression of long noncoding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1243-1250.

69) Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, Kim S and Safe S. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene* 2013; 32: 1616-1625.

70) Ren Y, Jia HH, Xu YQ, Zhou X, Zhao XH, Wang YF, Song X, Zhu ZY, Sun T, Dou Y, Tian WP, Zhao XL, Kang CS and Mei M. Paracrine and epigenetic control of CAF-induced metastasis: the role of HOTAIR stimulated by TGF- α 1 secretion. *Mol Cancer* 2018; 17: 5.

71) Zhang J, Li Z, Liu L, Wang Q, Li S, Chen D, Hu Z, Yu T, Ding J, Li J, Yao M, Huang S, Zhao Y and He X. Long noncoding RNA TSLNC8 is a tumor suppressor that inactivates the interleukin-6/ STAT3 signaling pathway. *Hepatology* 2018; 67: 171-187.

72) Davis RL, et al. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*. 1987; 51:987–1000. [PubMed: 3690668]

73) Bartolomei MS, et al. Parental imprinting of the mouse H19 gene. *Nature*. 1991; 351:153–155. [PubMed: 1709450]

74) Berteaux N, et al. H19mRNA-like Noncoding RNA Promotes Breast Cancer Cell Proliferation through Positive Control by E2F1. *Journal of Biological Chemistry*. 2005; 280:29625–29636. [PubMed: 15985428]

75) Gabory A, et al. H19 acts as a trans regulator of the imprinted gene network controlling growth in mice. *Development*. 2009; 136:3413–3421.

[PubMed: 19762426]

76) Dugimont T, et al. The H19 TATA-less promoter is efficiently repressed by wild-type tumor suppressor gene product p53. *Oncogene*. 1998; 16:2395–2401. [PubMed: 9620557]

77) Matouk IJ, et al. The oncofetal H19 RNA connection: hypoxia, p53 and cancer. *Biochimica et biophysica acta*. 2010; 1803:443–451. [PubMed: 20117150]

78) Weidle UH, et al. Long Non-coding RNAs and their Role in Metastasis. *CGP*. 2017; 14:143–160.

79) Hao Y, et al. Tumour-suppressor activity of H19 RNA. *Nature*. 1993; 365:764–767. [PubMed: 7692308] 23. Gabory A, et al. H19 acts as a trans regulator of the imprinted gene network controlling growth in mice. *Development*. 2009; 136:3413–3421. [PubMed: 19762426]

80) Yoshimizu T, et al. The H19 locus acts in vivo as a tumor suppressor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008; 105:12417–12422.

81) Tsang WP, et al. Oncofetal H19-derived miR-675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2009; 31:350–358. [PubMed: 19926638]

82) Poliseno L, et al. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*. 2010; 465:1033–1038. [PubMed: 20577206]

83) Kallen AN, et al. The Imprinted H19 LncRNA Antagonizes Let-7 MicroRNAs. *Molecular Cell*. 2013; 52:101–112. [PubMed: 24055342]

84) Brannan CI, et al. The product of the H19 gene may function as an RNA. *Mol Cell Biol*. 1990; 10:28–36. [PubMed: 1688465]

85) Rinn JL, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*. 2007; 129:1311–1323. [PubMed: 17604720]

- 86) Selleri L, et al. A Hox-Embedded Long Noncoding RNA: Is It All Hot Air? *PLoS Genet.* 2016; 12:e1006485. [PubMed: 27977680]
- 87) Endo H, et al. Enhanced Expression of Long Non-Coding RNA HOTAIR Is Associated with the Development of Gastric Cancer. *PLoS ONE.* 2013; 8:e77070. [PubMed: 24130837]
- 88) Gupta RA, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature.* 2010; 464:1071–1076. [PubMed: 20393566]
- 89) Kogo R, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res.* 2011; 71:6320–6326. [PubMed: 21862635]
- 90) Trimarchi T, et al. Genome-wide mapping and characterization of Notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia. *Cell.* 2014; 158:593–606. [PubMed: 25083870]
- 91) Medyouf H, et al. High-level IGF1R expression is required for leukemia-initiating cell activity in T-ALL and is supported by Notch signaling. *The Journal of Experimental Medicine.* 2011; 208:1809–1822. [PubMed: 21807868]
- 92) Ji P, et al. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene.* 2003; 22:8031–8041. [PubMed: 12970751]
- 93) Gutschner T, et al. The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res.* 2013; 73:1180–1189. [PubMed: 23243023]
- 94) Gutschner T, et al. MALAT1 — a paradigm for long noncoding RNA function in cancer. *Journal of Molecular Medicine.* 2013; 91:791–801. [PubMed: 23529762]
- 95) Guffanti A, et al. A transcriptional sketch of a primary human breast cancer by 454 deep sequencing. *BMC Genomics.* 2009; 10:163. [PubMed:

19379481]

- 96) Ellis MJ, et al. Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition. *Nature*. 2012; 486:353–360. [PubMed: 22722193]
- 97) Wilusz JE, et al. 3' end processing of a long nuclear-retained noncoding RNA yields a tRNA-like cytoplasmic RNA. *Cell*. 2008; 135:919–932. [PubMed: 19041754]
- 98) Tripathi V, et al. Long noncoding RNA MALAT1 controls cell cycle progression by regulating the expression of oncogenic transcription factor B-MYB. *PLoS Genet*. 2013; 9:e1003368. [PubMed: 23555285]
- 99) Tripathi V, et al. The Nuclear-Retained Noncoding RNA MALAT1 Regulates Alternative Splicing by Modulating SR Splicing Factor Phosphorylation. *Molecular Cell*. 2010; 39:925–938. [PubMed: 20797886]
- 100) Yang L, et al. ncRNA- and Pc2 methylation-dependent gene relocation between nuclear structures mediates gene activation programs. *Cell*. 2011; 147:773–788. [PubMed: 22078878]
- 101) Zhang B, et al. The lncRNA Malat1 is dispensable for mouse development but its transcription plays a cis-regulatory role in the adult. *Cell Rep*. 2012; 2:111–123. [PubMed: 22840402]
- 102) Eissmann M, et al. Loss of the abundant nuclear non-coding RNA MALAT1 is compatible with life and development. *RNA Biol*. 2012; 9:1076–1087. [PubMed: 22858678]
- 103) Nakagawa S, et al. Malat1 is not an essential component of nuclear speckles in mice. *RNA*. 2012; 18:1487–1499. [PubMed: 22718948]
- 104) Arun G, et al. Differentiation of mammary tumors and reduction in metastasis upon Malat1lncRNA loss. *Genes Dev*. 2016; 30:34–51. [PubMed: 26701265]
- 105) Mello SS, et al. Neat1 is a p53-inducible lincRNA essential for transformation suppression. *Genes Dev*. 2017; 31:1095–1108. [PubMed: 28698299]

- 106) . Chakravarty D, et al. The oestrogen receptor alpha-regulated lncRNA NEAT1 is a critical modulator of prostate cancer. *Nat Commun.* 2014; 5:5383. [PubMed: 25415230]
- 107) Adriaens C, et al. p53 induces formation of NEAT1 lncRNA-containing paraspeckles that modulate replication stress response and chemosensitivity. *Nature Medicine.* 2016; 22:861–868.
- 108) Sunwoo H, et al. MEN epsilon/beta nuclear-retained non-coding RNAs are up-regulated upon muscle differentiation and are essential components of paraspeckles. *Genome Research.* 2009; 19:347–359. [PubMed: 19106332]
- 109) . Sasaki YTF, et al. MENepsilon/beta noncoding RNAs are essential for structural integrity of nuclear paraspeckles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106:2525–2530. [PubMed: 19188602]
- 110) Imamura K, et al. Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspeckle mediates IL8 expression upon immune stimuli. *Molecular Cell.* 2014; 53:393–406. [PubMed: 24507715]
- 111) Diermeier SD, et al. Mammary Tumor-Associated RNAs Impact Tumor Cell Proliferation, Invasion, and Migration. *CellReports.* 2016; 17:261–274.
- 112) Diermeier S, Spector D. Antisense Oligonucleotide-mediated Knockdown in Mammary Tumor Organoids. *BIO-PROTOCOL.* 2017:7.
- 113) Deguchi S, et al. Oncogenic effects of evolutionarily conserved noncoding RNA ECONEXIN on gliomagenesis. *Oncogene.* 2017; 36:4629–4640. [PubMed: 28368417]
- 114) Beroukhir R, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature.* 2010; 463(7283):899–905. [PubMed: 20164920]
- 115) Shtivelman E, Bishop JM. The PVT gene frequently amplifies with MYC in tumor cells. *Mol Cell Biol.* 1989; 9:1148–1154. [PubMed: 2725491]
- 116) Tseng YY, et al. PVT1 dependence in cancer with MYC copy-number increase. *Nature.* 2014; 512:82–86. [PubMed: 25043044]

- 117) Nagoshi H, et al. Frequent PVT1 Rearrangement and Novel Chimeric Genes PVT1-NBEA and PVT1-WWOX Occur in Multiple Myeloma with 8q24 Abnormality. *Cancer Res.* 2012; 72:4954– 4962. [PubMed: 22869583]
- 118) Aqeilan RI, et al. Functional association between Wwox tumor suppressor protein and p73, a p53 homolog. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101:4401–4406. [PubMed: 15070730]
- 119) Northcott PA, et al. Subgroup-specific structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes. *Nature.* 2012; 488:49–56. [PubMed: 22832581]
- 120) Beck-Engeser GB, et al. Pvt1-encoded microRNAs in oncogenesis. *Retrovirology.* 2008; 5:4. [PubMed: 18194563]
- 121) Huppi K, et al. The Identification of MicroRNAs in a Genomically Unstable Region of Human Chromosome 8q24. *Molecular Cancer Research.* 2008; 6:212–221. [PubMed: 18314482]
- 122) Prensner JR, et al. Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression. *Nat Biotechnol.* 2011; 29:742–749. [PubMed: 21804560]
- 123) Xie X, et al. Long non-coding RNAs in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2016; 7:5226–5239. [PubMed: 26637808]
- 124) Prensner JR, et al. The Long Non-Coding RNA PCAT-1 Promotes Prostate Cancer Cell Proliferation through cMyc. *Neoplasia.* 2014; 16:900–908. [PubMed: 25425964]
- 125) Prensner JR, et al. PCAT-1, a Long Noncoding RNA, Regulates BRCA2 and Controls Homologous Recombination in Cancer. *Cancer Res.* 2014; 74:1651–1660. [PubMed: 24473064]
- 126) Nissan A, et al. Colon cancer associated transcript-1: A novel RNA expressed in malignant and pre-malignant human tissues. *Int J Cancer.* 2012; 130:1598–1606. [PubMed: 21547902]
- 127) Kim T, et al. Long-range interaction and correlation between MYC enhancer and oncogenic long noncoding RNA CARLo-5. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences. 2014; 111:4173– 4178.

128) Cabanski CR, et al. Pan-cancer transcriptome analysis reveals long noncoding RNAs with conserved function. *RNA Biol.* 2015; 12:628–642. [PubMed: 25864709]

129) Alaiyan B, et al. Differential expression of colon cancer associated transcript1 (CCAT1) along the colonic adenoma-carcinoma sequence. *BMC Cancer.* 2013; 13:196. [PubMed: 23594791]

130) McClelland ML, et al. CCAT1 is an enhancer-templated RNA that predicts BET sensitivity in colorectal cancer. *Journal of Clinical Investigation.* 2016; 126:639–652. [PubMed: 26752646]

131) Ling H, et al. CCAT2, a novel noncoding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer. *Genome Research.* 2013; 23:1446–1461. [PubMed: 23796952]

132) Zhang D, et al. Long noncoding RNA CCAT2 promotes breast tumor growth by regulating the Wnt signaling pathway. *OncoTargets and Therapy.* 2015; doi: 10.2147/OTT.S90485

133) Schneider C, et al. Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells. *Cell.* 1988; 54:787–793. [PubMed: 3409319]

134) Hudson WH, et al. Conserved sequence-specific lincRNA-steroid receptor interactions drive transcriptional repression and direct cell fate. *Nat Commun.* 2014; 5:5395. [PubMed: 25377354]

135) Pickard M, Williams G. Molecular and Cellular Mechanisms of Action of Tumour Suppressor GAS5 LncRNA. *Genes.* 2015; 6:484–499. [PubMed: 26198250]

136) Kino T, et al. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Science Signaling.* 2010; 3:ra8. [PubMed: 20124551]

137) Hudson WH, et al. Conserved sequence-specific lincRNA-steroid receptor interactions drive transcriptional repression and direct cell fate. *Nat*

Commun. 2014; 5:5395. [PubMed: 25377354]

138) Lee S, et al. Noncoding RNA NORAD Regulates Genomic Stability by Sequestering PUMILIO Proteins. *Cell*. 2016; 164:69–80. [PubMed: 26724866]

139) Tichon A, et al. A conserved abundant cytoplasmic long noncoding RNA modulates repression by Pumilio proteins in human cells. *Nat Commun*. 2016; 7:1–10.

140) Miller MA, Olivas WM. Roles of Puf proteins in mRNA degradation and translation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*. 2010; 2:471–492. [PubMed: 21957038]

141) Rajagopalan H, et al. The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3:695–701. [PubMed: 12951588]

142) Nobori T, et al. Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature*. 1994; 368:753–756. [PubMed: 8152487]

143) Popov N, Gil J. Epigenetic regulation of the INK4b-ARF-INK4a locus. *Epigenetics*. 2014; 5:685–690.

144) Pasmant E, et al. Characterization of a Germ-Line Deletion, Including the Entire INK4/ARF Locus, in a Melanoma-Neural System Tumor Family: Identification of ANRIL, an Antisense Noncoding RNA Whose Expression Coclusters with ARF. *Cancer Res*. 2007; 67:3963–3969. [PubMed: 17440112]

145) Gil J, Peters G. Regulation of the INK4b-ARF-INK4a tumour suppressor locus: all for one or one for all. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006; 7:667–677. [PubMed: 16921403]

146) Yap KL, et al. Molecular Interplay of the Noncoding RNA ANRIL and Methylated Histone H3 Lysine 27 by Polycomb CBX7 in Transcriptional Silencing of INK4a. *Molecular Cell*. 2010; 38:662–674. [PubMed: 20541999]

147) Dimitrova N, et al. LincRNA-p21 activates p21 in cis to promote Polycomb target gene expression and to enforce the G1/S checkpoint. *Molecular Cell*. 2014; 54:777–790. [PubMed: 24857549]

- 148) Zhai H, et al. Clinical Significance of Long Intergenic Noncoding RNA-p21 in Colorectal Cancer. *Clinical Colorectal Cancer*. 2013; 12:261–266. [PubMed: 24012455]
- 149) Wu G, et al. LincRNA-p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis, and atherosclerosis by enhancing p53 activity. *Circulation*. 2014; 130:1452–1465. [PubMed: 25156994]
- 150) Yoon JH, et al. LincRNA-p21 Suppresses Target mRNA Translation. *Molecular Cell*. 2012; 47:648–655. [PubMed: 22841487]
- 151) Yang F, et al. Reciprocal regulation of HIF-1alpha and lincRNA-p21 modulates the Warburg effect. *Molecular Cell*. 2014; 53:88–100. [PubMed: 24316222]
- 152) Hung CL, et al. A long noncoding RNA connects c-Myc to tumor metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014; 111:18697–18702.
- 153) Marín-Béjar O, et al. Pint lincRNA connects the p53 pathway with epigenetic silencing by the Polycomb repressive complex 2. *Genome Biol*. 2013; 14:R104. [PubMed: 24070194]
- 154) Kim TK, Hemberg M, Gray JM, Costa AM, Bear DM, Wu J, et al. Widespread transcription at neuronal activity-regulated enhancers. *Nature*. 2010; 465:182–7. [PubMed: 20393465]
- 155) Wang D, Garcia-Bassets I, Benner C, Li W, Su X, Zhou Y, et al. Reprogramming transcription by distinct classes of enhancers functionally defined by eRNA. *Nature*. 2011; 474:390–4. [PubMed: 21572438]
- 156) Bejerano G, Pheasant M, Makunin I, Stephen S, Kent WJ, Mattick JS, et al. Ultraconserved elements in the human genome. *Science*. 2004; 304:1321–5. [PubMed: 15131266]
- 157) Calin GA, Liu CG, Ferracin M, Hyslop T, Spizzo R, Sevignani C, et al. Ultraconserved regions encoding ncRNAs are altered in human leukemias and carcinomas. *Cancer Cell*. 2007; 12:215–29. [PubMed: 17785203]

- 158) Mestdagh P, Fredlund E, Pattyn F, Rihani A, Van Maerken T, Vermeulen J, et al. An integrative genomics screen uncovers ncRNA T-UCR functions in neuroblastoma tumours. *Oncogene*. 2010; 29:3583–92. [PubMed: 20383195]
- 159) Braconi C, Valeri N, Kogure T, Gasparini P, Huang N, Nuovo GJ, et al. Expression and functional role of a transcribed noncoding RNA with an ultraconserved element in hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108:786–91. [PubMed: 21187392]
- 160) Prensner JR, Iyer MK, Balbin OA, Dhanasekaran SM, Cao Q, Brenner JC, et al. Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression. *Nat Biotechnol*. 2011
- 161) Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer*. 2011; 10:38. [PubMed: 21489289]
- 162) Buller HR, Bethune C, Bhanot S, Gailani D, Monia BP, Raskob GE, Segers A, Verhamme P, Weitz JI; FXI-ASO TKA Investigators. Factor XI antisense oligonucleotide for prevention of venous thrombosis. *N Engl J Med* 2015; 372: 232-240.
- 163) Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, Geary RS, Baker BF, Graham MJ, Croke RM and Witztum JL. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med* 2014; 371: 2200-2206.
- 164) Hong D, Kurzrock R, Kim Y, Woessner R, Younes A, Nemunaitis J, Fowler N, Zhou T, Schmidt J, Jo M, Lee SJ, Yamashita M, Hughes SG, Fayad L, Piha-Paul S, Nadella MV, Mohseni M, Lawson D, Reimer C, Blakey DC, Xiao X, Hsu J, Revenko A, Monia BP and MacLeod AR. AZD9150, a next-generation antisense oligonucleotide inhibitor of STAT3 with early evidence of clinical activity in lymphoma and lung cancer. *Sci Transl Med* 2015; 7: 314ra185.
- 165) Meng L, Ward AJ, Chun S, Bennett CF, Beaudet AL and Rigo F.

Towards a therapy for angelman syndrome by targeting a long non-coding RNA. *Nature* 2015; 518: 409-412.

166) Ling H, Fabbri M and Calin GA. MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2013; 12: 847-865.

167) Arun G, Diermeier S, Akerman M, Chang KC, Wilkinson JE, Hearn S, Kim Y, MacLeod AR, Krainer AR, Norton L, Brogi E, Egeblad M and Spector DL. Differentiation of mammary tumors and reduction in metastasis upon Malat1 lncRNA loss. *Genes Dev* 2016; 30: 34-51.

168) Gutschner T, Hammerle M, Eissmann M, Hsu J, Kim Y, Hung G, Revenko A, Arun G, Stenrup M, Gross M, Zornig M, MacLeod AR, Spector DL and Diederichs S. The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res* 2013; 73: 1180-1189.

169) Etzioni R, Cha R, Feuer EJ and Davidov O. Asymptomatic incidence and duration of prostate cancer. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 775-785.

170) Cooperberg MR, Moul JW and Carroll PR. The changing face of prostate cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 8146-8151.

171) Liu PY, Erriquez D, Marshall GM, Tee AE, Polly P, Wong M, Liu B, Bell JL, Zhang XD, Milazzo G, Cheung BB, Fox A, Swarbrick A, Huttelmaier S, Kavallaris M, Perini G, Mattick JS, Dinger ME and Liu T. Effects of a novel long noncoding RNA, lncUSMycN, on N-Myc expression and neuroblastoma progression. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106.

172) Astriab-Fisher A, Sergueev D, Fisher M, Shaw BR and Juliano RL. Conjugates of antisense oligonucleotides with the tat and antennapedia cell-penetrating peptides: effects on cellular uptake, binding to target sequences, and biologic actions. *Pharm Res* 2002; 19: 744-754.

173) Koch L. Functional genomics: screening for lncRNA function. *Nat Rev Genet* 2017; 18: 70.

174) Gilbert LA, Horlbeck MA, Adamson B, Villalta JE, Chen Y, Whitehead

EH, Guimaraes C, Panning B, Ploegh HL, Bassik MC, Qi LS, Kampmann M and Weissman JS. Genomescale CRISPR-mediated control of gene repression and activation. *Cell* 2014; 159: 647-661.

175) Thakore PI, D'Ippolito AM, Song L, Safi A, Shivakumar NK, Kabadi AM, Reddy TE, Crawford GE and Gersbach CA. Highly specific epigenome editing by CRISPR-Cas9 repressors for silencing of distal regulatory elements. *Nat Methods* 2015; 12: 1143-1149.

176) Liu SJ, Horlbeck MA, Cho SW, Birk HS, Malatesta M, He D, Attenello FJ, Villalta JE, Cho MY, Chen Y, Mandegar MA, Olvera MP, Gilbert LA, Conklin BR, Chang HY, Weissman JS and Lim DA. CRISPRi-based genome-scale identification of functional long noncoding RNA loci in human cells. *Science* 2017; 355.

177) Adriaens C, Standaert L, Barra J, Latil M, Verfaillie A, Kalev P, Boeckx B, Wijnhoven PW, Radaelli E, Vermi W, Leucci E, Lapouge G, Beck B, van den Oord J, Nakagawa S, Hirose T, Sablina AA, Lambrechts D, Aerts S, Blanpain C and Marine JC. p53 induces formation of NEAT1 lncRNA-containing paraspeckles that modulate replication stress response and chemosensitivity. *Nat Med* 2016; 22: 861-868.

178) Mendell JT. Targeting a long noncoding RNA in breast cancer. *N Engl J Med* 2016; 374: 2287-2289.

179) Zhuo W, Liu Y, Li S, Guo D, Sun Q, Jin J, Rao X, Li M, Sun M, Jiang M, Xu Y, Teng L, Jin Y, Si J, Liu W, Kang Y and Zhou T. Long noncoding RNA GMAN, up-regulated in gastric cancer tissues, is associated with metastasis in patients and promotes translation of Ephrin A1 by competitively binding GMAN-AS. *Gastroenterology* 2019; 156: 676-691, e611.

180) Yang H, Wang H, Shivalila CS, Cheng AW, Shi L and Jaenisch R. One-step generation of mice carrying reporter and conditional alleles by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* 2013; 154: 1370-1379.

181) Cho SW, Kim S, Kim Y, Kweon J, Kim HS, Bae S and Kim JS. Analysis of off-target effects of CRISPR/Cas-derived RNA-guided endonucleases and

nickases. *Genome Res* 2014; 24: 132-141.

182) Tsai SQ and Joung JK. Defining and improving the genome-wide specificities of CRISPR-Cas9 nucleases. *Nat Rev Genet* 2016; 17: 300-312.

183) Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE and Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-811.

184) Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K and Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411: 494-498.

185) Brummelkamp TR, Bernards R and Agami R. A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells. *Science* 2002; 296: 550-553.

186) Zuber J, McJunkin K, Fellmann C, Dow LE, Taylor MJ, Hannon GJ and Lowe SW. Toolkit for evaluating genes required for proliferation and survival using tetracycline-regulated RNAi. *Nat Biotechnol* 2011; 29: 79-83.

187) Fellmann C, Hoffmann T, Sridhar V, Hopfgartner B, Muhar M, Roth M, Lai DY, Barbosa IA, Kwon JS, Guan Y, Sinha N and Zuber J. An optimized microRNA backbone for effective single-copy RNAi. *Cell Rep* 2013; 5: 1704-1713.

188) Gu S, Jin L, Zhang Y, Huang Y, Zhang F, Valdmanis PN and Kay MA. The loop position of shRNAs and pre-miRNAs is critical for the accuracy of dicer processing in vivo. *Cell* 2012; 151: 900-911.

189) Watanabe C, Cuellar TL and Haley B. Quantitative evaluation of first, second, and third generation hairpin systems reveals the limit of mammalian vector-based RNAi. *RNA Biol* 2016; 13: 25-33.

190) Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, Robbie S, Henderson R, Balaggan K, Viswanathan A, Holder GE, Stockman A, Tyler N, Petersen-Jones S, Bhattacharya SS, Thrasher AJ, Fitzke FW, Carter BJ, Rubin GS, Moore AT and Ali RR. Effect of gene therapy on visual function in leber's congenital

amaurosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 2231-2239.

191) Gaudet D, Methot J, Dery S, Brisson D, Essiembre C, Tremblay G, Tremblay K, de Wal J, Twisk J, van den Bulk N, Sier-Ferreira V and van Deventer S. Efficacy and long-term safety of alipogene tiparvovec (AAV1-LPLS447X) gene therapy for lipoprotein lipase deficiency: an open-label trial. *Gene Ther* 2013; 20: 361369.

192) Bennett J, Ashtari M, Wellman J, Marshall KA, Cyckowski LL, Chung DC, McCague S, Pierce EA, Chen Y, Bennicelli JL, Zhu X, Ying GS, Sun J, Wright JF, Auricchio A, Simonelli F, Shindler KS, Mingozzi F, High KA and Maguire AM. AAV2 gene therapy readministration in three adults with congenital blindness. *Sci Transl Med* 2012; 4: 120ra115.

193) Schaffer DV, Koerber JT and Lim KI. Molecular engineering of viral gene delivery vehicles. *Annu Rev Biomed Eng* 2008; 10: 169-194.

194) Kaepffel C, Beattie SG, Fronza R, van Logtenstein R, Salmon F, Schmidt S, Wolf S, Nowrouzi A, Glimm H, von Kalle C, Petry H, Gaudet D and Schmidt M. A largely random AAV integration profile after LPLD gene therapy. *Nat Med* 2013; 19: 889-891.

195) Lisowski L, Dane AP, Chu K, Zhang Y, Cunningham SC, Wilson EM, Nygaard S, Grompe M, Alexander IE and Kay MA. Selection and evaluation of clinically relevant AAV variants in a xenograft liver model. *Nature* 2014; 506: 382-386.

196) Xing Z, Lin A, Li C, Liang K, Wang S, Liu Y, Park PK, Qin L, Wei Y, Hawke DH, Hung MC, Lin C and Yang L. lncRNA directs cooperative epigenetic regulation downstream of chemokine signals. *Cell* 2014; 159: 1110-1125.

197) Endo H, Shiroki T, Nakagawa T, Yokoyama M, Tamai K, Yamanami H, Fujiya T, Sato I, Yamaguchi K, Tanaka N, Iijima K, Shimosegawa T, Sugamura K and Satoh K. Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e77070.

- 198) Katayama S, Tomaru Y, Kasukawa T, Waki K, Nakanishi M, Nakamura M, Nishida H, Yap CC, Suzuki M, Kawai J, Suzuki H, Carninci P, Hayashizaki Y, Wells C, Frith M, Ravasi T, Pang KC, Hallinan J, Mattick J, Hume DA, Lipovich L, Batalov S, Engström PG, Mizuno Y, Faghihi MA, Sandelin A, Chalk AM, Mottagui-Tabar S, Liang Z, Lenhard B, Wahlestedt C; RIKEN Genome Exploration Research Group; Genome Science Group (Genome Network Project Core Group); FANTOM Consortium. Antisense transcription in the mammalian transcriptome. *Science* 2005; 309: 1564-1566.
- 199) Faghihi MA and Wahlestedt C. Regulatory roles of natural antisense transcripts. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 637-643.
- 200) Modarresi F, Faghihi MA, Lopez-Toledano MA, Fatemi RP, Magistri M, Brothers SP, van der Brug MP and Wahlestedt C. Inhibition of natural antisense transcripts in vivo results in gene-specific transcriptional upregulation. *Nat Biotechnol* 2012; 30: 453-459.
- 201) Yap KL, Li S, Munoz-Cabello AM, Raguz S, Zeng L, Mujtaba S, Gil J, Walsh MJ and Zhou MM. Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell* 2010; 38: 662-674.
- 202) Dimitrova N, Zamudio JR, Jong RM, Soukup D, Resnick R, Sarma K, Ward AJ, Raj A, Lee JT, Sharp PA and Jacks T. LincRNA-p21 activates p21 in cis to promote polycomb target gene expression and to enforce the G1/S checkpoint. *Mol Cell* 2014; 54: 777-790.
- 203) Anderson EM, Birmingham A, Baskerville S, Reynolds A, Maksimova E, Leake D, Fedorov Y, Karpilow J and Khvorova A. Experimental validation of the importance of seed complement frequency to siRNA specificity. *RNA* 2008; 14: 853-861.
- 204) Burchard J, Jackson AL, Malkov V, Needham RH, Tan Y, Bartz SR, Dai H, Sachs AB and Linsley PS. MicroRNA-like off-target transcript regulation by siRNAs is species specific. *Rna* 2009; 15: 308-315.
- 205) Mattheolabakis G, Rigas B and Constantinides PP. Nanodelivery

strategies in cancer chemotherapy: biological rationale and pharmaceutical perspectives. *Nanomedicine (Lond)* 2012; 7: 1577-1590.

206) Webster DM, Sundaram P and Byrne ME. Injectable nanomaterials for drug delivery: carriers, targeting moieties, and therapeutics. *Eur J Pharm Biopharm* 2013; 84: 1-20.

207) Fabbro C, Ali-Boucetta H, Da Ros T, Kostarelos K, Bianco A and Prato M. Targeting carbon nanotubes against cancer. *Chem Commun (Camb)* 2012; 48: 3911-3926.

208) Libutti SK, Paciotti GF, Byrnes AA, Alexander HR Jr, Gannon WE, Walker M, Seidel GD, Yuldasheva N and Tamarkin L. Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 6139-6149.

209) Yang T, Choi MK, Cui FD, Lee SJ, Chung SJ, Shim CK and Kim DD. Antitumor effect of paclitaxel-loaded PEGylated immunoliposomes against human breast cancer cells. *Pharm Res* 2007; 24: 2402-2411.

210) Markman JL, Rekechenetskiy A, Holler E and Ljubimova JY. Nanomedicine therapeutic approaches to overcome cancer drug resistance. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65: 1866-1879.

211) Fan Y, Shen B, Tan M, Mu X, Qin Y, Zhang F and Liu Y. Long non-coding RNA UCA1 increases chemoresistance of bladder cancer cells by regulating wnt signaling. *FEBS J* 2014; 281: 1750-1758.

212) He W, Liang B, Wang C, Li S, Zhao Y, Huang Q, Liu Z, Yao Z, Wu Q, Liao W, Zhang S, Liu Y, Xiang Y, Liu J and Shi M. MSC-regulated lncRNA MACC1-AS1 promotes stemness and chemoresistance through fatty acid oxidation in gastric cancer. *Oncogene* 2019; 38: 4637-4654.

213) Huang X, El-Sayed IH, Qian W and El-Sayed MA. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. *J Am Chem Soc* 2006; 128: 2115-2120.

214) Qiu L, Chen T, Ocsoy I, Yasun E, Wu C, Zhu G, You M, Han D, Jiang J,

Yu R and Tan W. A celltargeted, size-photocontrollable, nuclear-uptake nanodrug delivery system for drug-resistant cancer therapy. *Nano Lett* 2015; 15: 457463.

215) Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat Biotechnol.* 2011; 29:644–52. [PubMed: 21572440]

216) Wang KC, Yang YW, Liu B, Sanyal A, Corces-Zimmerman R, Chen Y, et al. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature.* 2011; 472:120– 4. [PubMed: 21423168]

217) Dinger ME, Pang KC, Mercer TR, Mattick JS. Differentiating protein-coding and noncoding RNA: challenges and ambiguities. *PLoS Comput Biol.* 2008; 4:e1000176. [PubMed: 19043537]

218) Borsani G, Tonlorenzi R, Simmler MC, Dandolo L, Arnaud D, Capra V, et al. Characterization of a murine gene expressed from the inactive X chromosome. *Nature.* 1991; 351:325–9. [PubMed: 2034278]

219) Kondo T, Plaza S, Zanet J, Benrabah E, Valenti P, Hashimoto Y, et al. Small peptides switch the transcriptional activity of Shavenbaby during *Drosophila* embryogenesis. *Science.* 2010; 329:336– 9. [PubMed: 20647469]

220) Taft RJ, Pheasant M, Mattick JS. The relationship between non-protein-coding DNA and eukaryotic complexity. *Bioessays.* 2007; 29:288–99. [PubMed: 17295292]

221) Yotova IY, Vlatkovic IM, Pauler FM, Warczok KE, Ambros PF, Oshimura M, et al. Identification of the human homolog of the imprinted mouse Air non-coding RNA. *Genomics.* 2008; 92:464–73. [PubMed: 18789384]

222) Schorderet P, Duboule D. Structural and functional differences in the long non-coding RNA hotair in mouse and human. *PLoS Genet.* 2011; 7:e1002071. [PubMed: 21637793]

223) Prensner JR, Chinnaiyan AM. Oncogenic gene fusions in epithelial carcinomas. *Curr Opin Genet Dev.* 2009; 19:82–91. [PubMed: 19233641]

- 224) Tomlins SA, Laxman B, Dhanasekaran SM, Helgeson BE, Cao X, Morris DS, et al. Distinct classes of chromosomal rearrangements create oncogenic ETS gene fusions in prostate cancer. *Nature*. 2007; 448:595–9. [PubMed: 17671502]
- 225) Nakamura Y, Takahashi N, Kakegawa E, Yoshida K, Ito Y, Kayano H, et al. The GAS5 (growth arrest-specific transcript 5) gene fuses to BCL6 as a result of t(1;3)(q25;q27) in a patient with Bcell lymphoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 2008; 182:144–9. [PubMed: 18406879]
- 226) Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in Cancer. *Annu Rev Med*. 2009; 60:167–79. [PubMed: 19630570]
- 227) Zhao J, Sun BK, Erwin JA, Song JJ, Lee JT. Polycomb proteins targeted by a short repeat RNA to the mouse X chromosome. *Science*. 2008; 322:750–6. [PubMed: 18974356]
- 228) Wan Y, Kertesz M, Spitale RC, Segal E, Chang HY. Understanding the transcriptome through RNA structure. *Nat Rev Genet*. 2011; 12:641–55. [PubMed: 21850044]
- 229) Underwood JG, Uzilov AV, Katzman S, Onodera CS, Mainzer JE, Mathews DH, et al. FragSeq: transcriptome-wide RNA structure probing using high-throughput sequencing. *Nat Methods*. 2010; 7:995–1001. [PubMed: 21057495]
- 230) Kertesz M, Wan Y, Mazor E, Rinn JL, Nutter RC, Chang HY, et al. Genome-wide measurement of RNA secondary structure in yeast. *Nature*. 2010; 467:103–7. [PubMed: 20811459]

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πολλές μελέτες έχουν τεκμηριώσει ότι τα lncRNAs παίζουν βασικό ρόλο στην ογκογένεση και την εξέλιξη του όγκου. Συγκεκριμένα, η μη φυσιολογική έκφραση των lncRNAs μπορεί να συνοδεύει μια βλάβη στο DNA, μια διαφυγή από την επιτήρηση του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και μεταβολικές διαταραχές στα καρκινικά κύτταρα. Η ποικιλομορφία και η ετερογένεια των lncRNAs καθιστούν την περίπλοκη διαδικασία της ογκογένεσης ακόμη πιο ενδιαφέρουσα.

Επιπλέον, τα lncRNAs συνδέονται επίσης έντονα με το EMT, καθώς και με τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Αυτά τα ευρήματα μαζί κάνουν τα lncRNAs ένα βασικό συστατικό της μεταστατικής ικανότητας του όγκου. Επομένως, η στόχευση των lncRNAs θα μπορούσε να είναι μια κατάλληλη κλινική προσέγγιση στη θεραπεία του καρκίνου.

Η συνδυαστική θεραπεία έχει σημειώσει μεγάλη πρόοδο στην κλινική θεραπεία των όγκων. Ο συνδυασμός χειρουργικής επέμβασης με χημειοθεραπεία ή η εμφάνιση συγκεκριμένων στοχευμένων φαρμάκων, βελτίωσε περαιτέρω το ποσοστό επιβίωσης των ασθενών. Πρόσφατα, με τα σημαντικά κλινικά επιτεύγματα στην ανοσοθεραπεία μέσω της εφαρμογής του PD1 / PD-L1, οι περισσότερες ιδέες των ερευνητών επικεντρώνονται στην αναζωογόνηση της κατασταλμένης κυτταρικής ανοσίας των ασθενών μέσω της ανοσοθεραπείας; η οποία βρίσκεται στο επίκεντρο της έρευνας για τον καρκίνο. Ως μέρος της ανοσολογικής διαφυγής των καρκινικών κυττάρων, τα lncRNAs μπορούν να παρέχουν νέα εικόνα για τη μελλοντική θεραπεία του καρκίνου σε συνδυασμό με την ανοσοθεραπεία.

Η ταχεία ανάπτυξη μιας νέας γενιάς εργαλείων επεξεργασίας γονιδίων καθιστά δυνατή τη στόχευση των lncRNAs μέσα στα καρκινικά κύτταρα. Η θεραπεία με ASO ή CRISPR / Cas9 έχει ήδη δείξει τη σκοπιμότητα της χρήσης γονιδιακής επεξεργασίας για τη θεραπεία του καρκίνου, αλλά το γεγονός της ασταθούς αποτελεσματικότητάς τους μέχρι τώρα στην κλινική πράξη, θα πρέπει να αξιολογείται προσεκτικά πριν από την περαιτέρω εφαρμογή τους. Επιπλέον, ο συνδυασμός της νανοτεχνολογίας και της βιοπληροφορικής επιταχύνει την ανάπτυξη νέων νανοσωματιδίων καθώς και

τη βελτιστοποίησή τους υπό κλινικές καταστάσεις μέσω της σε βάθος ανάλυσης των λειτουργιών τους και της κατανομής των lncRNAs. Η εμφάνιση νέων θεραπευτικών στρατηγικών για τον καρκίνο παγκοσμίως, δίνει υποσχέσεις για τη θεραπεία του καρκίνου, μιας από τις πιο σοβαρές ανθρώπινες ασθένειες.

SUMMARY

Numerous studies have documented that lncRNA plays a key role in tumorigenesis and tumor progression. In particular, abnormal lncRNA expression may accompany DNA damage, immune escape as well as cellular metabolic disorders in cancer cells. The diversity and heterogeneity of lncRNAs make the complicated tumorigenesis process even more intriguing.

In addition, lncRNA is also strongly associated with EMT, as well as the regulation of cell stemness. These findings together make lncRNA a solid component of tumor metastasis. Therefore, targeting lncRNA could be an opportune clinical approach in cancer treatment.

Combination therapy has made great progress in the clinical treatment of tumors. Combining surgery with chemotherapy, or the emergence of specific targeted-drugs, has further improved the survival rate of patients. Recently, with the significant clinical achievements in immunotherapy of PD1/PD-L1, ideas focusing on the re-stimulation of the suppressed cellular immunity of patients through immunotherapy have been under the limelight of cancer research. As a part of the immune escape of cancer cells, lncRNAs may provide new insight for future cancer treatment combined with immunotherapy.

The rapid development of a new generation of gene-editing tools makes it possible to target lncRNA inside tumor cells. ASOs or CRISPR/Cas9-based therapy has already shown the feasibility of gene editing in treating cancer, but their off-target event or unstable efficiency due to the spatiotemporal specificity of lncRNA should also be carefully evaluated before further application. Moreover, the combination of nanotechnology and bioinformatics accelerates new nanoparticle development as well as its optimization under clinical conditions via the deep analysis of lncRNA functions and distribution. The emergence of new cancer therapeutic strategies worldwide exhibits promise in the treatment of cancer, one of the most serious human diseases.