مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۵، شماره ۳، پاییز ۹۴، صفحات ۱۶۳ تا ۱۸۲

Review Article

نقش lncRNA ها در پیدایش سرطان

محمدرضا نوری دلوئی[۱]، یگانه اسحق‌خانی[۲]

[۱] استاد، دکتری ژنتیک مولکولی پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] دانشجوی دکترای تخصصی ژنتیک پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سرطان، بیماری پیچیده‌ای است که بیان ژن در آن به صورت نامتعادل انجام می‌پذیرد. عامل‌های ژنتیکی درگیر در ایجاد سرطان، به نحو قابل‌توجهی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. با این وجود، شواهد نشان داده‌اند که بخش چشم‌گیری از عامل‌های مستعدکننده به سرطان را نمی‌توان به تغییر در توالی‌های کدکننده پروتئین نسبت داد. شناسایی شمار زیادی از RNAهای غیر کدکننده‌ی بلند (long non-coding RNAs یا lncRNAs) با طول بیشتر از ۲۰۰ جفت باز در انسان، به پرده‌برداری از جایگاه این مولکول‌ها در آسیب‌شناسی سرطان و نقش آن‌ها به عنوان اجزای مهم در تومورزایی، کمک شایانی نموده است. نقش lncRNAها به عنوان عامل‌های سرکوب‌گر تومور یا آنکوژن‌ها، در انواع متعددی از سرطان‌های شایع به اثبات رسیده است. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که چندین جایگاه خطر موثر در ایجاد سرطان، به lncRNAها رونویسی می‌شوند و رونوشت‌های حاصل، نقش‌های کلیدی در فرایند تومورزایی ایفا می‌کنند. در مقاله مروری چاپ شده در فصل گذشته از سوی نگارندگان، به تفضیل در مورد سازوکارهای بنیادی عملکرد lncRNAها در تنظیم بیان ژن در سطوح متفاوت اپی‌ژنتیکی، رونویسی، پس از رونویسی، و نیز برهم‌کنش این مولکول‌ها با سایر عامل‌های حیاتی تعیین کننده سرنوشت سلول، از جمله DNA، پروتئین‌ها و سایر RNAها بحث شد. با توجه به این‌که بخش قابل‌توجهی از آسیب‌شناسی سرطان، معطوف به lncRNAها است، مقاله‌ی مروری حاضر، به بررسی و بحث در مورد همراهی ویژه‌ی برخی از lncRNAها با سرطان‌های خاص، چگونگی تاثیر آن‌ها در سازوکارهای پیدایش سرطان، و اهمیت آن‌ها در کسب فرصت‌هایی جهت تشخیص و پیش‌آگهی سرطان پرداخته است.

واژگان کلیدی: *ncRNA، lncRNA، سرطان، تشخیص، پیش‌آگهی.*

مقدمه

مشابه ژن‌های کد کننده پروتئین، ژن‌های کد کننده ncRNA نیز می‌توانند به عنوان انکوژن‌های تومورزا و یا ژن‌های سرکوب‌گر تومور عمل کنند. برخی از ژن‌های کد کننده ncRNA بسیار حفظ شده (T-UCEs)، به وفور در جایگاه‌های شکننده و نواحی ژنومی مرتبط با سرطان (cancer-associated genomic regions یا CAGRs) یافت می‌شوند؛ از جمله نواحی بسیار کوچکی که در سرطان دست‌خوش تکثیر می‌شوند یا فقدان هتروزیگوسیتی در آن‌ها رخ می‌دهد (۱). آنالیزهای بیشتر، T-UCEها را به عنوان ژن‌های درگیر در پردازش و اتصال به RNA معرفی کرده‌اند (۲). هم‌چنین برخی از این عناصر، دارای توالی‌های مشابه با عناصر تقویت کننده رونویسی هستند و به صورت فزاینده‌هایی به سمت بخش دیگری از توالی DNA فراخوانده می‌شوند. گاهی رونوشت‌های حاصل از این ژن‌ها به عنوان عامل‌های آنتی‌سنس عمل کرده، و جایگاهای ژنی سرکوب‌گر تومور را خاموش می‌نمایند. شایان ذکر است که اتصال انتخابی برخی از این رونوشت‌ها به مجموعه‌های پروتئینی درگیر در فرایندهای اپی‌ژنتیکی و تغییردهنده حالت کروماتین، تاثیر بسیار چشم‌گیری بر بیان ژن می‌گذارد (۳).

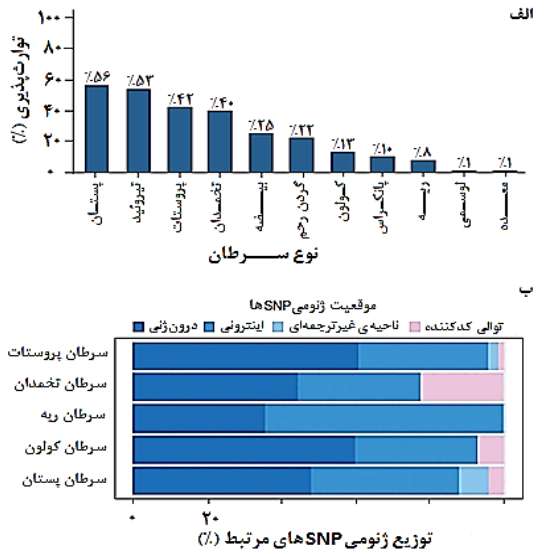
آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، محمدرضا نوری دلوئی (**email**: nooridaloii@sina.tums.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۴/۱۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۶/۲۳

همراهی ژنتیکی lncRNAها و سرطان

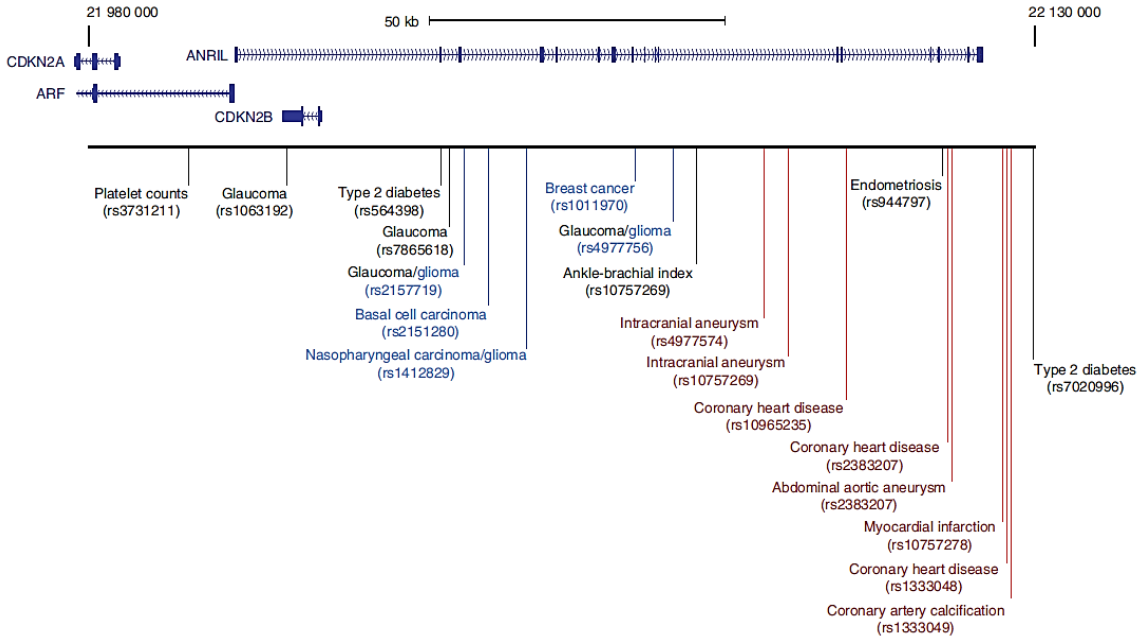
استعداد ابتلا به سرطان، تا اندازه‌ای ناشی از توارث عامل‌های ژنتیکی قابل‌توجهی است که بسته به نوع سرطان، متفاوت می‌باشند (۴، ۵) (شکل ۱-الف). به نحو شگفت برانگیزی، شمار زیادی از مطالعات همراهی گسترده ژنومی (GWAS)، جایگاه‌های خطر مرتبط با سرطان را در خارج از نواحی کد کننده پروتئین شناسایی کرده‌اند. برای نمونه، در یک سایت اینترنتی با نشانی http://www.genome.gov/gwastudies/، کاتالوگی از مطالعات GWAS وجود دارد که به کمک آن می‌توان SNPهای مرتبط با سرطان را در محتوای ژنوم، مورد ارزیابی قرار داد. از کل ۳۰۱ عدد SNP که تا سال ۲۰۱۳ در ارتباط با سرطان شناسایی شده بود، تنها ۱۲ عدد (۳/۳ درصد) با تغییر در توالی آمینواسیدی پروتئین همراه بوده، و نسبت بزرگی از آن‌ها در اینترون‌های ژن‌های کد کننده پروتئین (۴۰ درصد) یا در نواحی بین‌ژنی (۴۴ درصد) واقع بودند (شکل ۱- ب) (۴). این مشاهده بسیار پرسش برانگیز، موجب جهت‌گیری پژوهش‌های بسیار وسیع به سمت کشف عملکرد این جایگاه‌های غیر کدکننده و نقش آن‌ها در ایجاد سرطان شد. این مطالعات به شناسایی lncRNAهایی منجر شد که از جایگاه‌های غیر کد کننده خطرزا برای سرطان رونویسی می‌شوند، که SNPهای موجود در آن‌ها با استعداد ابتلا به سرطان همراه است. برای نمونه، یک SNP به شکل rs944289 در ناحیه‌ی 14q13.3 وجود دارد که همراهی بالایی با کارسینومای پاپیلاری تیروئید (PTC) دارد، و بر عملکرد یک lncRNA سرکوب‌گر تومور اثر می‌گذارد (۵). از طرفی دیگر، یک lncRNA سرکوب‌گر تومور به نام نامزد ۳ استعداد ابتلا به PTC (PTC susceptibility candidate 3 یا PTCSC3) که بیان آن به‌شدت در PTC کاهش می‌یابد، در این ناحیه شناسایی شده است. گزارش شده است که یک SNP موجود در این جایگاه، از اتصال پروتئین‌های C/EBP به پروموتر PTCSC3 ممانعت کرده و موجب کاهش بیان این lncRNA می‌شود. PTCSC3 که فعالیت سرکوب‌گری تومور دارد، بیان ژن‌های درگیر در همانندسازی و ترمیم DNA، مورفولوژی تومور، حرکت و مرگ سلول را کنترل می‌کند. این مطالعه، اولین دانشی بود که از ارتباط یک SNP مرتبط با سرطان با تغییر بیان یک lncRNA سرکوب‌گر تومور حاصل شد (۵).

ANRIL، یک lncRNA و دارای ژنی بزرگ به اندازه ۱۲۶ کیلوباز در مجاورت p14/ARF است، که در نقطه داغ GWAS مربوط به بسیاری از بیماری‌های پیچیده مانند دیابت نوع ۱، بیماری عروق کرونر و سرطان واقع شده است (۶). ANRIL با پروتئین‌های گروه پلی‌کامب میان‌کنش می‌دهد و احتمالا هیستون‌های سرکوب‌کننده‌ی رونویسی را به جایگاه p15/CDKN2B-p16/CDKN2A-p14/ARF اضافه کرده و تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد. از سویی دیگر، این lncRNA به عنوان آنتی‌سنس برای این خوشه‌ی ژنی عمل می‌کند (۷).



شکل ۱. توارث‌پذیری و توزیع ژنومی SNPها در سرطان. الف) اجزای توارث‌پذیر خطرزا برای سرطان‌های شایع را نشان می‌دهد. بر خلاف اینکه بسیاری از سرطان‌ها اجزای ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای دارند، هویت اکثر این عامل‌های خطر توارث‌پذیر در حال حاضر ناشناخته است (۸). ب) توزیع ژنومی (٪) SNPها را در انواع سرطان‌های انتخاب شده نشان می‌دهد. بخش عمده SNPهای مرتبط با سرطان در نواحی غیر کدکننده ژنوم (درون‌ژنی یا اینترونی) واقع شده‌اند و تنها شمار اندکی از آن‌ها در نواحی کد کننده یافت می‌شوند (۴).

نکته بسیار جالب توجه آن است که SNPهای مرتبط با بیماری‌های عروقی در سمت '۳، و SNPهای مرتبط با سرطان در در سمت '۵ رونوشت ANRIL نقشه‌برداری شده‌اند (شکل ۲). این امر، منعکس کننده نوع عمل ANRIL است. چندشکلی‌های حاضر در نواحی متفاوت رونوشت ANRIL ممکن است بر میان‌کنش‌های RNA-DNA یا RNA-پروتئین که برای خاموش‌سازی ژن به‌واسطه ANRIL ضروری هستند، تاثیر بگذارد. هم‌چنین این چندشکلی‌ها می‌توانند موجب تغییراتی در انتخاب مکان برنامه‌ریزی اپی‌ژنتیکی شوند که برای تسهیل میان‌کنش‌های لازم جهت عملکرد رگی و نیز تاثیر بر بقا و چرخه سلول، ضروری است. به احتمال زیاد،



شکل ۲. نقطه داغ GWAS در جایگاه ANRIL. چند SNP مرتبط با بیماری بر روی جایگاه ANRIL نقشه‌برداری شده‌اند که شامل سرطان‌های متفاوت (رنگ آبی)، و وضعیت‌های مرتبط با شرایط رگی (رنگ قرمز) هستند. چندشکلی‌های فردی ممکن است به شیوه‌ی متنوع بر عملکرد ANRIL تاثیر بگذارند و به بیماری‌های گوناگون منجر شوند (۴).

بسیاری از lncRNAهای رونویسی شونده از جایگاه‌های مرتبط با سرطان، به علت فراوانی کمی که دارند، قابل تشخیص یا تعیین ویژگی نیستند. حتی نواحی صحرای ژنی (Gene deserts- نواحی گسترده در ژنوم انسان که در برگیرنده هیچ ژنی نیستند) نیز می‌توانند کد کننده lncRNA باشند، چنان‌چه یک جایگاه در صحرای ژنی واقع در 8q24، یک lncRNA را کد می‌کند که در سرطان‌زایی پروستات درگیر است (۹). در سال ۲۰۱۲، روشی به نام RNA Capture-Seq توصیف شد که قادر به تشخیص رونوشت‌های کم‌بیان و بسیار ویژه بافت است (۱۰). زمانی‌که از این روش برای ارزیابی رونوشت‌های کد شده از صحراهای ژنی استفاده شد، شمار زیادی رونوشت با عملکرد ناشناخته شناسایی شدند. این روش، به تمرکز بر روی شناسایی نواحی مرتبط با سرطان که تولید کننده‌ی رونوشتهای غیر کدکننده نادر و تنظیم‌کننده‌های مهم در سرطان‌زایی هستند، کمک شایانی می‌کند. افزون بر این، این مطالعات پیشنهاد می‌کنند که بسیاری از جایگاه‌های خطر غیرکدکننده‌ی مرتبط با سرطان که به‌واسطه GWAS شناسایی شده اند، به lncRNAهایی با عملکردهای مهم تنظیمی در زیست‌شناسی سرطان رونویسی می‌شوند.

نقش‌های تنظیمی lncRNAها در سرطان: انکوژن‌ها یا ژن‌های سرکوبگر تومور

ncRNAهای درگیر در ایجاد سرطان، به‌واسطه تنوعی از فنون، از جمله روش‌های مبتنی بر ریزآرایه‌های بیانی (expression microarrays)، آرایه‌های فرش کننده (tiling arrays)، روش‌های توالی‌یابی نسل دوم (next generation sequencing) و آنالیز متیله‌شدن، شناسایی شده‌اند (۱۴-۱۱). استفاده از این روش‌ها، به کشف شماری از lncRNAها منجر شده، که ارتباط آشکاری بین بیان و وضعیت اپی‌ژنتیکی آن‌ها بافت‌های سرطانی وجود دارد. این مولکول‌ها با تنوع وسیعی از سازوکارهای عملکردی که تقریبا در هر جنبه از زیست‌شناسی سلول به چشم می‌خورند (۳)، در پیش‌برد یا مهار فرایند تومورزایی همکاری می‌کنند. شکل ۳، ارائه دهنده یک شمای کلی از نقش lncRNAها در سرطان‌زایی است. در ادامه، به معرفی چند نمونه از مهم‌ترین lncRNAها و چگونگی تاثیر آن‌ها در بروز سرطان می پردازیم.

نظر به نقش مرکزی lncRNAها در پیش‌برد و یا توسعه تومورزایی، به معرفی چند lncRNA و ارتباط گسترده بین بیان و عملکرد آن‌ها با سرطان می‌پردازیم:

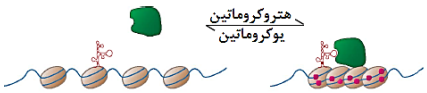
الف) تغییر حالت کروماتین

***ANRIL*:** مهار بیان لوکوس سرکوبگر تومور شامل ژن های INK4A-ARF-INK4b را موجب می شود. بیان آن در سرطان پروستات افزایش می یابد و به عنوان نقطه داغ در مطالعات متفاوت همراهی کل ژنومی این سرطان به شمار می رود.

***XIST*:** در غیرفعالسازی کروموزوم X درگیر است. بیان آن در رده های سلولی سرطان پستان، تخمدان و گردن رحم کاهش می یابد. سرطان خون را در موش سرکوب می کند.

***KCNQ1OT1*:** در سرطان کولورکتال، دستخوش از دست دادن نقش گذاری می شود.

***HOTAIR*:** بیان آن در سرطان پستان افزایش می یابد. متاستاز سرطان را تقویت می کند.



ب) همکاری در فعال کردن یا سرکوب کردن رونویسی

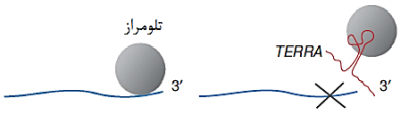
***LincRNA-p21*:** تنظیم‌گر پاسخ p53 به محض آسیب دیدن DNA است. بیان آن در رده های سلولی سرطان های متفاوت افزایش می یابد.

***H19*:** بیان آن در سرطان معده افزایش می یابد. بیان نابجای آن موجب تقویت تکثیر سلولی می شود.

***SRA*:** کمک-فعال کننده رونویسی گیرنده های استروئیدی است. بیان آن در تومورزایی پستان افزایش می یابد.

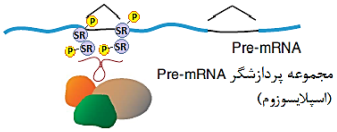
ج) مهار عملکرد پروتئین

***TERRA*:** تشکیل هتروکروماتین تلومری را تسهیل می کند، و عملکرد تلومراز را به واسطه اتصال مستقیم به آن مهار می کند. بیان آن به طور چشم گیر در تعداد زیادی از رده های سلولی سرطانی انسان، کاهش می یابد.



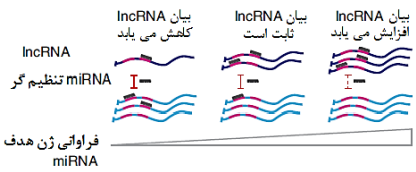
د) تغییرات پس از ترجمه

***MALAT1*:** پردازش متناوب را به واسطه تنظیم فسفریلاسیون و پراکندگی عامل های پردازشی سرینی/آرژنینی (پروتئین های SR) کنترل می کند، و مقادیر این پروتئین ها را در speckle های هسته ای تنظیم می کند. بیان آن در انواع متفاوت بافت های سرطانی افزایش می یابد، و حرکت و تکثیر سلولی را تقویت می کند.



هـ) تاثیر بر عملکرد miRNA

***PTENP1*:** ژن کاذب مشتق شده از ژن سرکوبگر تومور *PTEN* است. سطوح بیان *PTEN* را به واسطه رقابت با آن در اتصال به ریزRNA کنترل می کند. در بسیاری از سرطان های انسانی از بین می رود.

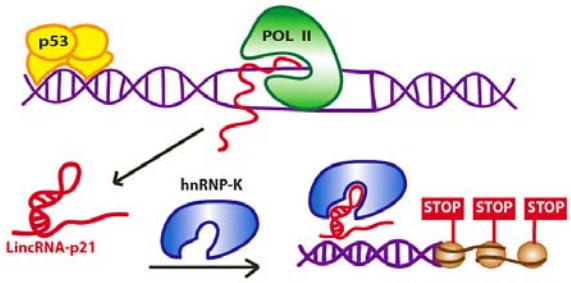


شکل ۳. نمایش سازوکارهای عمل lncRNAها در روند توسعه‌ی تومور (۴).

lncRNA-p21 که به‌واسطه پروتئین p^{53} تنظیم می‌شود و خود نیز فعالیت p^{53} را تقویت می‌کند، یک مهارکننده رونویسی وابسته به p^{53} است (۱۵). جایگاه کد کننده این مولکول، در فاصله‌ی حدود ۱۵ کیلوباز از فرادست ژن CDKN1A (P21) قرار دارد (۱۶). مهار عملکرد این مولکول، موجب تغییر بیان صدها ژن هدفی می‌شود که در مسیرهای راه اندازی آبشار آپوپتوز و یا تنظیم چرخه سلولی نقش دارند. فعالیت lncRNA-p21 در مهار رونویسی، از طریق میان‌کنش آن با عامل‌های رونویسی hnRNP-K محقق می‌شود (۱۶). (شکل ۴). افزون بر این، lncRNA-p21 با برقراری میان‌کنش‌های جفت بازی با مولکول mRNAی هدف، موجب غیرفعال شدن ریبوزوم‌ها و سرکوب ترجمه در بسیاری از سلول‌های عصبی و سلول‌های رده‌ی زاینده می‌شود (۱۷).

H19 قدیمی‌ترین lncRNA شناخته شده است و ژن آن تنها چند صد کیلوباز از جایگاه KCNQ1OT1 فاصله دارد و در کنار ژن عامل رشد شبه انسولین ۲ (IGF2) قرار دارد. بیان دوآللی H19 با کاهش رشد، و بیان دوآللی IGF2 با افزایش بیش از اندازه رشد جنین همراه است. بنابراین سازوکارهای ایجاد کننده تعادل بیانی بین این دو عامل، نقش چشم‌گیری در روند تکوین طبیعی جنین ایفا می‌کند و ناهنجاری‌های نقش‌گذاری در جایگاه IGF2/H19 با چند نوع بدخیمی ادراری-تناسلی همراه است (شکل ۶). در تومورهای ویلمز که

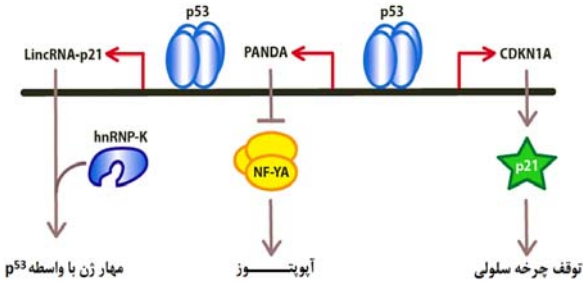
نئوپلاسم‌های دوران کودکی هستند و اغلب در سندرم بک-ویت-ویدمن (overgrowh syndrome یا سندرم رشد بیش از اندازه) به چشم می‌خورند، H19 بر روی هر دو کروموزوم خاموش می‌شود و IGF2 به صورت دوآللی بیان می‌گردد (۲۰).



شکل ۴. الگوی پیشنهادی برای نقش lncRNA-p21 در پاسخ رونویسی p^{53}. القای p^{53} و اتصال آن به پروموتر lncRNA-p21، با فعال شدن رونویسی lncRNA-p21 همراه است. lncRNA-p21 به hnRNP-K متصل می‌شود و همراه با آن، بیان ژن‌هایی را که به عنوان جزئی از پاسخ رونویسی p^{53} هستند، کاهش می‌دهد (۱۶).

PANDA (P21 Associated ncRNA DNA Damage Activated) که جایگاه کدکننده آن به فاصله‌ی ۵ کیلوباز از جایگاه آغاز رونویسی CDKN1A (P^{21}) قرار دارد، هنگام آسیب DNA و در پاسخ به P^{53}بیان می‌شود و نقش آن، دخالت در مسیرهای ضد آپوپتوزی است (شکل ۵) (۱۸). کاهش مقادیر PANDA، با القای بیان فعال‌کننده‌های آپوپتوز مانند APAF1، BIK و FAS همراه است. با وجود آن که CDKN1A در توقف چرخه‌ی سلول نقش دارد، PANDA موجب بقای سلول می‌شود. پروموتر ژن‌های مرگ سلولی، به‌واسطه ناحیه‌ای برای اتصال عامل رونویسی NF-YA شناخته می‌شوند که به‌طور ویژه‌ای در میان‌کنش با PANDA است. این میان‌کنش با مهار عملکرد PANDA همراه است. کاهش PANDA موجب افزایش فرصت NF-YA برای اتصال به پروموتر ژن‌های پیش آپوپتوزی مانند CCNB1، PUMA و NOXA می‌شود (۱۹).

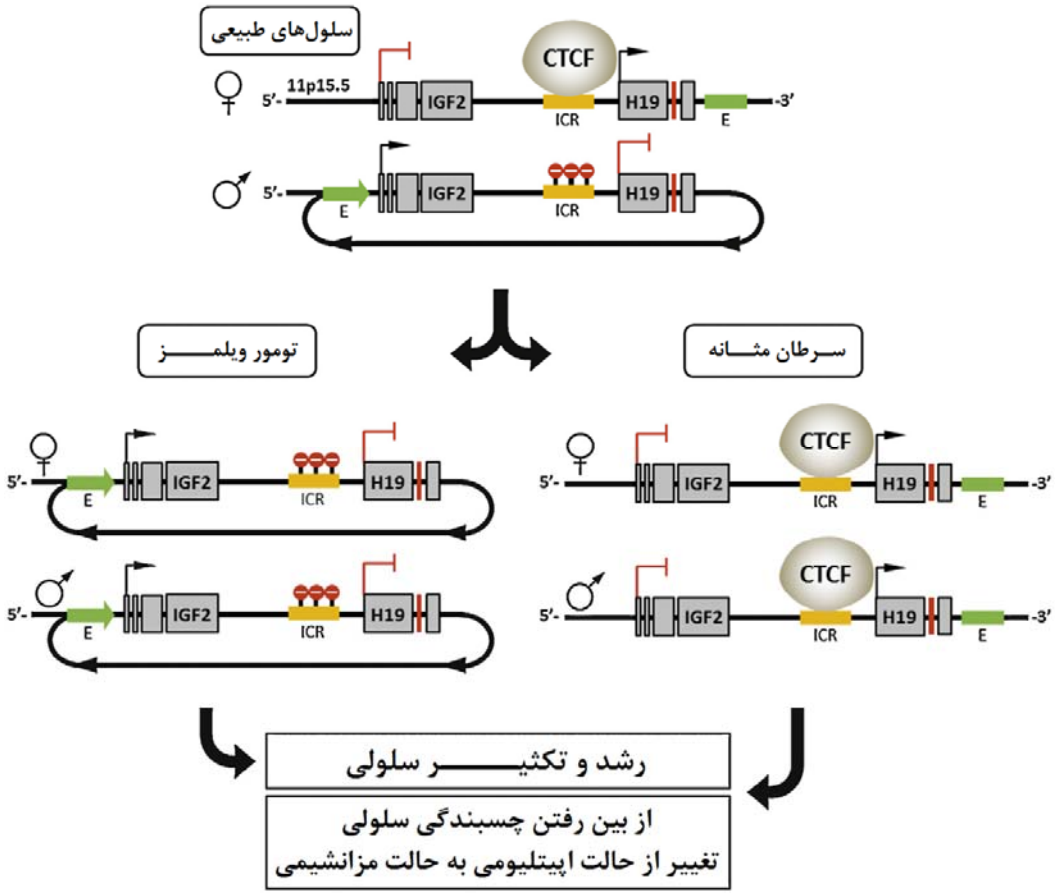
H19 بیان p^{53} را در سلول تحت تاثیر قرار می‌دهد. این lncRNA دارای چهار ناحیه‌ی اتصال به microRNA let-7 شامل let7a، let7b، let7g و let7i است که در تنظیم عملکرد آن نقش دارند (۲۱). در سال ۲۰۱۲ نشان داده شد که بیان نابجای H19 با افزایش تکثیر سلولی همراه است، در حالی‌که خاموش‌سازی آن به‌واسطه مولکول‌های siRNA، موجب همکاری آن در القای فرایند آپوپتوز می‌شود. در ادامه همین مطالعه، زمانی که H19 به سلول‌های سرطانی معده منتقل شد، کاهش قابل‌توجهی در فعالیت P^{53} مشاهده گردید. این یافته، بر این واقعیت تأکید داشت که تنظیم مثبت بیان H19، با تنظیم منفی P^{53} همراه است و H19 از این طریق در فرایند تومورزایی نقش دارد (۲۲).



شکل ۵. الگویی برای کنترل جایگاه CDKN2A توسط پروتئین P^{53} در پاسخ به آسیب DNA. CDKN1A، موجب توقف چرخه سلولی می‌شود. PANDA مسیر آپوپتوز را از طریق میان‌کنش با عامل NF-YA مسدود می‌کند. LncRNA-p21 در میان‌کنش با hnRNPK موجب خاموش‌سازی ژن‌ها می‌شود (۱۸).

به‌طور قابل ملاحظه‌ای، سطوح H19 القاشده به واسطه هیپوکسی در سرطان‌های هپاتوسلولار و مثانه، با افزایش بیان ژن‌های القاکننده رگ‌زایی، بقا و تکثیر سلولی همراه است (۲۵-۲۳). در برابر، miR-675 که از جایگاه H19 کد می‌شود، یک سرکوب‌گر تومور است که تکثیر سلولی را در پاسخ به تنش و کاهش گیرنده IGF1 مهار می‌کند (۲۶)، و این شیوه عملکرد، نشان‌دهنده چندگانگی عملکرد رونوشت‌های مشتق شده از جایگاه H19 است.

MEG3 از دیگر lncRNAهایی است که با P^{53} در ارتباط است. این lncRNA توسط ژن MEG3 (Maternally expressed gene 3) و در بسیاری از بافت‌های طبیعی مانند هیپوفیز بیان می‌شود. با این وجود، بیان MEG3 در فهرست در حال افزایشی از تومورهای انسانی اولیه و دودمان‌های سلولی توموری نیز دیده شده است (۳۰-۲۸). MEG3 با مهار پروتئین MDM2 که تخریب‌کننده P^{53} است، تجمع پروتئین P^{53} را القا، و رونویسی از پروموتر ژن‌های وابسته به P^{53} را تحریک می‌کند و به طور انتخابی بیان ژن‌های هدف P^{53} را تنظیم می‌نماید (۳۱). بنابراین MEG3 می‌تواند به عنوان یک lncRNA سرکوبگر تومور جدید تلقی شود (۳۲).

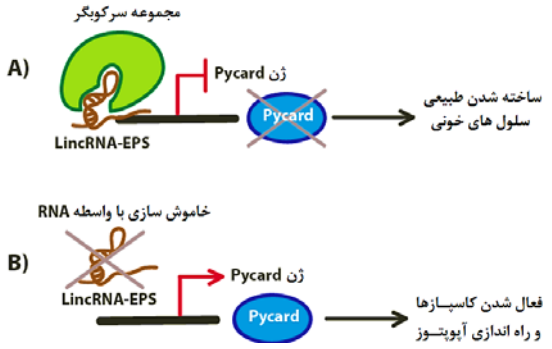


شکل ۶. نقش‌گذاری ژنومی در جایگاه 11p15.5 و در برگیرنده ژن‌های H19 و IGF2 در سلول‌های طبیعی، تومور ویلمز و سرطان مثانه. هر یک از فرایندهای خاموش‌شدن یا افزایش بیان جایگاه H19 می‌تواند موجب رشد تومور شود. در سلول‌های طبیعی، ژن‌های H19 و IGF2 به‌واسطه ناحیه کنترل نقش‌گذاری (ICR) از هم جدا شده‌اند، که در خلال دوران جنینی بیان هم‌زمان دوآللی دارند و تحت کنترل یک عنصر تقویت‌کننده‌ی مشترک در فرودست ژن H19 قرار گرفته‌اند. ICR بر روی کروموزوم پدری متیله می‌شود. بنابراین، تنظیم‌کننده رونویسی CTCF قادر به شناسایی آن نمی‌باشد. در چنین شرایطی، رونویسی از ژن H19 انجام نمی‌گیرد و عنصر تقویت‌کننده، به رونویسی از ژن IGF2 کمک می‌کند. در برابر، CTCF بر روی کروموزوم مادری به ICR متصل شده و موجب ابقای عنصر تقویت‌گر در مجاور H19 مادری و رونویسی از آن می‌شود. در تومورهای ویلمز، آلل های ژن H19 بر روی هر دو کروموزوم متیله می‌شود و این رویداد با بیان ژن IGF2 از هر دو آلل همراه است. چنین شرایطی، موجب تجمع پروتئین IGF2 و سرانجام تحریک رشد سلول می‌شود. در سرطان مثانه، ناحیه پروموتر ژن H19 و هم‌چنین ICR هایپومتیله می‌شود. از این رو، بیان IGF2 در هر دو آلل خاموش می‌شود و از سوی دیگر lncRNA H19 تجمع می‌یابد (۲۷).

LincRNA-EPS یکی از ۴۰۰ نوع lncRNA ای است که به طور موثر در زمان تمایز نهایی انواع سلول‌های خونی بیان می‌شوند. خاموش‌سازی این lncRNA از تمایز سلول‌های خونی و القای آپوپتوز در آن‌ها جلوگیری می‌کند. در عین حال، بیان نابجای آن با مهار آپوپتوز در سلول های خونی همراه است. LincRNA-EPS قادر به سرکوب بیان یک ژن پیش آپوپتوزی به نام Pycard است، و از این طریق موجب مهار آپوپتوز می‌شود (۳۴،۳۳). بیان Pycard نیز می‌تواند وابسته به P^{53} (در زمان تنش‌های سلولی و آغاز مسیر میتوکندریایی آپوپتوز و ایجاد شبکه P^{53}–BAX) (۳۵)، و یا مستقل از آن (در شرایط کمبود اکسیژن) (۳۶) باشد. مقادیر بالای Pycard موجب مهار تکثیر سلول‌های خونی و القای آپوپتوز یا تمایز در این سلول‌ها می شود. شکل ۷ نمایانگر این رخدادها است (۳۷).

Loc285194 از جمله lncRNA هایی است که به واسطه‌ی p^{53} فعال می‌شوند. این مولکول که LSAMP antisense RNA 3

نیز نام دارد، یک سرکوبگر بالقوه‌ی تومور است و عملکرد سرکوبگری تومور آن به‌واسطه‌ی آزمون از کار انداختن ژن (gene knockdown) به اثبات رسیده است. کاهش بیان این عامل در نمونه های سرطان کولون گزارش شده است (۳۸). مطالعات سال ۲۰۱۳ نشان داد که Loc285194، تنظیم کننده‌ی منفی miR-211 است و احتمالا از این طریق در مهار رشد سلول نقش دارد. به نحو جالبی، miR-211 در یک مسیر بازخورد منفی، بیان loc285194 را متوقف می‌سازد (۳۹).



شکل ۷. نقش بالقوه LincRNA-EPS در ساخت سلول‌های خونی. **A)** LincRNA-EPS در همراهی با مجموعه های سرکوبگر، ژن Pycard را سرکوب می‌کند و موجب مهار آپوپتوز در پیش‌سازهای سلول‌های خونی می‌شود. **B)** خاموش‌سازی LincRNA-EPS با رونویسی از ژن Pycard همراه است، و به فعال شدن کاسپازهای درون‌سلولی و القای آپوپتوز می‌انجامد (۳۷).

PTCSC3 که پیش از این نیز به آن اشاره شد، توسط ژن PTCS3 کد می‌شود و در استعداد ابتلا به کارسینومای پاپیلاری تیروئید نقش کلیدی دارد. Fan و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳، به بررسی تاثیر PTCSC3 بر روند رشد سلولی و آپوپتوز در سلول‌های سرطانی تیروئید پرداختند، و نشان دادند که افزایش سطح بیان PTCSC3 با توقف سلول‌ها در مرحله G0/G1 چرخه سلولی همراه بوده و به آپوپتوز سلول منجر می‌شود، در حالی‌که کاهش آن با ورود سلول‌ها به مرحله تکثیر و ایجاد تومور همراه است. این مطالعه نیز نشان داد که در سلول‌های سرطانی تیروئید، PTCSC3 با mir-574-5p در میان‌کنش است و افزایش بیان آن با کاهش شدید بیان mir-574-5p همراه است. PTCSC3 رقیب درون‌زاد mir-574-5p است، بدین ترتیب که آن را هدف قرار داده و با خنثی کردن عمل آن، رشد سلول و آپوپتوز در سرطان تیروئید را تنظیم می‌کند (۴۰).

PINT یک lncRNA هسته‌ای بیان شونده در همه بافت‌ها است که در سال ۲۰۱۳ شناسایی شده و به نحو موثری به‌واسطه‌ی P^{53} تنظیم می‌گردد. در سلول‌های موشی، Pint (p^{53} induced noncodingtranscript) با تنظیم بیان ژن‌های درگیر در مسیرهای TGF-β، MAPK و P^{53}، موجب تقویت تکثیر و بقای سلول می‌شود. در ادامه مشخص شد که Pint به طور مستقیم با مجموعه سرکوبگر پلی کامب ۲ میان‌کنش داده، و حضور آن برای عملکرد این مجموعه در هدف‌گیری ژن‌های ویژه، تری‌متیله شدن H3K27 و سرکوب بیان این ژن‌ها ضروری است. اورتولوگ انسانی Pint (PINT) نیز به واسطه P^{53} تنظیم می‌شود و بیان آن مانند مسیر P^{53} به طور چشم‌گیری مطابق با فعالیت همان مسیرهای سلولی است که مرتبط با عملکرد اورتولوگ موشی آن هستند. بیان PINT در تومورهای اولیه کولون کاهش می‌یابد، و بیان بالای آن از تکثیر سلول‌های توموری جلوگیری می‌کند. این فعالیت‌ها در مجموع، پیشنهاد کننده نقش احتمالی PINT در سرکوبگری تومور است (۴۱).

lncRNA-RoR یک lncRNA است که از طریق میان‌کنش با ریبونوکلئوپروتئین I هسته‌ای هتروژن (Heterogeneous nuclearribonucleoprotein I) (hnRNP I)، P^{53} را در پاسخ به آسیب به DNA سرکوب کرده و موجب مهار توقف چرخه سلولی و آپوپتوز می‌شود. بین بیان P^{53} و lncRNA-RoR یک حلقه بازخوردی خودتنظیمی وجود دارد، و سطوح افزایش یافته‌ی P^{53} با افزایش رونویسی lncRNA-RoR همراه است (۴۲).

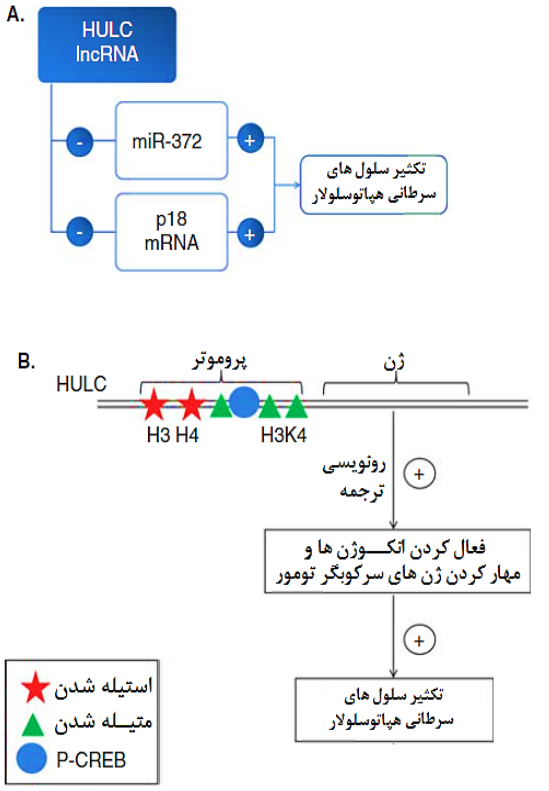
بیان رونوشت ۱ آدنوکارسینومای شش مرتبط با متاستاز (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) (***MALAT1*** یا ***NEAT2***) (۴۳) به طور ویژه در مثانه، کلیه و زیرمجموعه‌ای از سرطان‌های پروستات، افزایش می‌یابد (۴۷-۴۴). MALAT1 در کارسینومای اوروتلیال، بیان بیش از اندازه نشان می‌دهد و فرایندهای تکثیر، مهاجرت و بقای سلول را القا می‌کند. این lncRNA در شرایط *in vitro*، با فعال نمودن سیگنال‌دهی wnt، موجب ارتقای تغییر از حالت اپیتلیومی به حالت مزانشیمی می‌شود (۴۵، ۴۶). در کارسینومای سلول کلیوی (renal cell carcinoma)، MALAT1 با ژن TFEB که یک عامل رونویسی تنظیم‌گر مسیرهای تکوینی را کد می‌کند، ادغام می‌شود. در طی این ادغام، تمامیت توالی کد کننده ژن TFEB حفظ می‌شود، اما قرار گرفتن این ژن در کنار ژن MALAT1، با افزایش مخرب سطوح پروتئین TFEB و پیشرفت سرطان همراه است (۴۸، ۴۹). همچنین MALAT1 در فعال‌سازی مستقیم بیان ژن درگیر است. این lncRNA

همراه با یک lncRNA دیگر به نام TUG1 (taurine upregulated gene 1)، رفت و آمد مجموعه سرکوب‌گر پلی‌کامب را بین فضاهای هسته میانجی‌گری می‌کند و موجب فعال‌سازی یا سرکوب ژن‌های کنترل رشد می‌گردد (۵۰). به‌طور قابل توجهی، بیان TUG1 نیز در کارسینوماهای ادراری-تناسلی افزایش می‌یابد و بیان بالای این lncRNA در مراحل پیشرفته سرطان دیده شده است. خاموش شدن ژن TUG1 در کارسینومای ادراری-تناسلی موجب مهار تکثیر و القای آپوپتوز می‌شود، که این امر تاییدی بر عملکرد انکوژنی کارسینوماهای ادراری-تناسلی است (۵۱).

UCA1 یک lncRNA تحت عنوان "lncRNA مرتبط با سرطان یوروتلیال" (Urothelial carcinoma-associated1) است. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان داد که UCA1 در میان‌کنش با شکل فسفریله hnRNP I، یک مجموعه ریبونوکلئوپروتئینی را تشکیل داده، و پایداری‌اش از این طریق افزایش می‌یابد. hnRNP I ترجمه‌ی P^{27} (Kip1) را به‌واسطه میان‌کنش با ناحیه 5'UTR از mRNAی آن افزایش می‌دهد، اما میان‌کنش UCA1 با hnRNPI، سطوح پروتئین P^{27} را از طریق مهار رقابتی کاهش می‌دهد. در ادامه، با کمک گرفتن از فن ریزآرایه و بررسی ارتباط بین P^{27} و UCA1، مشخص شد که UCA1 یک انکوژن مهم در سرطان پستان است (۵۲).

افزایش بیان UCA1، فعالیت کینازی MAPK ERK1/2 و PI3-K/AKT را افزایش می‌دهد، که خود با افزایش کمک-فعال-کننده رونویسی P300 همراه است. P300 رونویسی را از طریق بازآرایی کروماتین تنظیم می‌کند و بیان و فسفریلاسیون پروتئین CREB را که ارتقادهنده سرطان‌زایی و تهاجم تومور است را افزایش می‌دهد (۵۳،۵۴). بیان افزایش‌یافته یکی از ایزوفرم‌های UCA1 به نام UCA1a (CUDR) در سلول‌های سرطانی مثانه دیده شده است و پیشنهاد می‌کند که UCA1a می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی جدید برای سرطان مثانه به شمار رود (۵۵).

برخی lncRNAها دارای توالی مکمل با ژن‌های هدفشان هستند و به عنوان یک آنتی‌سنس برای آن‌ها عمل می‌کنند. ژن هدف می‌تواند یک ژن کدکننده ریزRNA و یا پروتئین باشد. برای نمونه، ***HULC*** (highly upregulated in liver cancer) می‌تواند بیان ژن miRNA372 (miR-372) و نیز ژن سرکوبگر تومور P18 را کاهش دهد و موجب افزایش تکثیر سلول‌های سرطان هپاتوسلولار شود (۵۶ و ۵۷). HULC اولین lncRNA ویژه سلول‌های کبدی بود که در سال ۲۰۰۷ شناسایی شد (۵۸). بیان HULC تا ۳۳ برابر در هپاتیت B افزایش می‌یابد و تا کنون مهم‌ترین عامل آغازی در ایجاد سرطان هپاتوسلولار بوده است (۵۷). در مقاله مروری چاپ شده در سال ۲۰۱۴، سازوکارهای عملکرد HULC به عنوان مهم‌ترین عامل آغازکننده سرطان هپاتوسلولار، به تصویر کشیده است (۵۹) (شکل ۸).



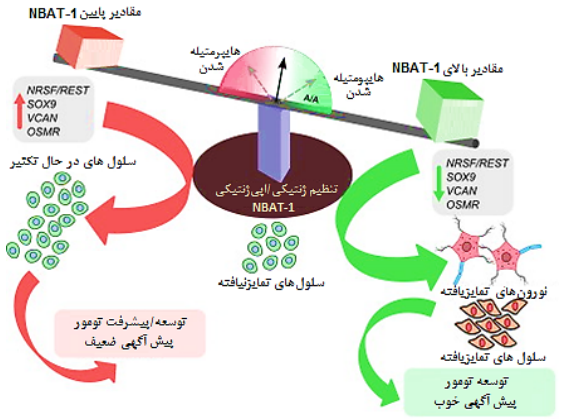
شکل ۸. سازوکارهای اپی‌ژنتیکی HULC lncRNA در سلول‌های سرطانی هپاتوسلولار. **A:** HULC دارای توالی‌های مکمل برای هدف‌گیری ژن‌های سرکوب‌گر تومور miR-372 و P18 است و می‌تواند به عنوان یک آنتی‌سنس از بیان این ژن‌ها جلوگیری کند. **B:** تغییرات هیستونی در نواحی پروموتر بسیاری از lncRNAها، موجب بیان نابجای آن‌ها می‌شود. این سازوکار به‌واسطه فراخوانی پروتئین‌های تنظیم‌گر هیستون‌ها، و به منظور ایجاد تغییر در ساختار هیستونی ژن‌های هدف صورت می‌پذیرد. برای نمونه، میان‌کنش بین CREB (cAMP responsive element-binding protein) فسفریله و جایگاه‌های اتصال به CREB در نزدیکی ناحیه پروموتر ژن HULC، موجب افزایش بیان این ژن می‌شود. مکان‌های ویژه‌ای در درون ناحیه‌ی پروموتر ژن HULC، حساسیت قابل‌توجهی نسبت به استیله شدن (در هیستون‌های H3 و H4) و متیله‌شدن (در H3K4) داشته، و این تغییرات یکی پس از دیگری موجب حساس و حساس‌تر شدن ناحیه پروموتر HULC نسبت به CREB فسفریله می‌شود. افزون بر این، بیان بالای HULC از عملکرد miR-372 که سرکوب‌گر CREB است، جلوگیری می‌کند و موجب تشدید فرایندهای آغاز و پیشرفت تکثیر سلول‌های سرطانی هپاتوسلولار می‌شود (۵۹).

در بررسی کل‌ژنومی تغییرات تعداد نسخه در سلول‌های سوماتیک، مشخص شد که تعداد نسخه برخی از lncRNAها در سرطان‌های متفاوت، تغییر می‌کند. مقاله‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان داد که یک lncRNA به نام **FAL1** (focallyamplified lncRNA) که ژن آن بر روی کروموزوم ۱ قرار دارد، lncRNAای است که تعداد نسخه و بیان آن با سرطان پروستات مرتبط می‌باشد. FAL1 با سرکوب‌گر اپی‌ژنتیکی BMI1 همراه می‌شود و پایداری آن را به منظور رونویسی تعدادی از ژن‌ها، از جمله CDKN2A تعدیل می‌کند. فعالیت انکوژنی FAL1 تا حدودی به توانایی آن در سرکوب کردن P^{21} بر می‌گردد (۶۰).

HOTAIR یک lncRNA با نقش بحرانی در تنظیم اپی‌ژنتیکی سرطان است. مطالعات نشان داده‌اند که HOTAIR، بیان ژن‌های HOX انسانی را به صورت trans در یک مقیاس گسترده ژنومی، و به‌واسطه همراهی با مجموعه‌های تغییردهنده کروماتین شامل PRC2، LSD1 و COREST/REST تنظیم می‌کند (۶۳-۶۱). HOTAIR به عنوان یک راهنما و نیز به مثابه یک چارچوب برای هدایت این مجموعه‌ها به سمت ژن‌های هدف درون‌زاد آن‌ها می‌شود. مجموعه LSD1/COREST، لیزین ۴ هیستون H3 را دمتیله می‌کند و PRC2 عمل متیله کردن لیزین ۲۷ هیستون H3 را انجام می‌دهد. این رویدادها موجب غیرفعال شدن ژن‌های هدف HOTAIR می‌شوند (۶۳). بیان HOTAIR به طور قابل توجهی در تومورهای پستان افزایش می‌یابد، و اندازه‌گیری سطوح آن، شاخص تعیین کننده‌ای در تشخیص تومورهای پستانی اولیه، احتمال رخداد متاستاز و بقای بیمار است (۶۴). miR-34a نوعی ریزRNA است که می‌تواند موجب کاهش پایداری HOTAIR شود؛ فرایندی که در ایجاد سرطان پروستات نقش دارد (۶۵).

هم‌چنین، در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳، نقش جدیدی برای HOTAIR در جلوگیری از فرایند پیری سلولی معرفی شد. این مطالعه نشان داد که بیان HOTAIR در سلول‌های پیش‌رونده به سمت پیری، به طور چشم‌گیر افزایش می‌یابد. این مولکول به عنوان یک داربست، میان‌کنش بین پروتئین‌های Ataxin-1 و Snurportin-1 را به ترتیب با عامل‌های Mex3b و Dzip3 تسهیل می‌کند. این میان‌کنش، Ataxin-1 و Snurportin-1 را به سوبستراهایی برای آنزیم یوبی‌کوئیتین‌لیگاز تبدیل می‌کند و در نهایت موجب افزایش یوبی‌کوئیتینه شدن و تخریب آن‌ها می‌شود. نتیجه‌ی این تخریب، جلوگیری از پیری زودهنگام سلول است، هر چند که سازوکار دقیق این ارتباط به طور دقیق شناخته نشده است (۶۶).

نوروبلاستوما، یک تومور جنینی دستگاه عصبی سمپاتیک، و رایج‌ترین تومور خارج جمجمه‌ای است. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ با توالی‌یابی مجموعه رونوشت‌های موجود در نوروبلاستوماهای کم‌خطر و پرخطر، شماری از lncRNAها با بیان متفاوت را مشخص نمود. این مطالعه، یک lncRNA با نام رونوشت ۱ مرتبط با نوروبلاستوما (***NBAT-1***) را به عنوان یک مارکر زیستی که اهمیت چشم‌گیری در پیش‌بینی پیامد بالینی نوروبلاستوما دارد، شناسایی کرد. متیلاسیون CpG و یک SNP پرخطر مرتبط با نوروبلاستوما بر روی ناحیه کروموزومی 6p22، تاثیر قابل‌توجهی بر بیان NBAT-1 دارند. کاهش NBAT-1، با تکثیر سلولی و تهاجم تومور همراه است، زیرا NBAT-1 این فرایندها را از طریق خاموش‌سازی اپی‌ژنتیکی ژن‌های هدف کنترل می‌کند. حذف NBAT-1، با فعال‌سازی عامل رونویسی ویژه نورونی NRSF/REST بر تمایز نورونی تاثیر می‌گذارد. بنابراین حذف NBAT-1 موجب اختلال در تمایز پیش‌سازهای نورونی و افزایش تکثیر این سلول‌ها می‌شود، و از این طریق در ایجاد نوروبلاستومای تهاجمی همکاری می‌کند (۶۷) (شکل ۹).



شکل ۹. پیامدهای بالینی حاصل از تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی NBAT-1 (۶۷).

جدول ۱ به طور مختصر به معرفی نقش چند lncRNA در ایجاد و توسعه‌ی سرطان‌های متفاوت پرداخته است.

نقش lncRNA هادر توسعه متاستاز

متاستاز که در واقع گسترش سلول‌های بدخیم به محل‌های دورتر بدن و القاکننده‌ی تومورهای ثانوی در سراسر بدن است، عامل اصلی مرگ‌های سرطانی به شمار می‌رود. این پدیده، یک رخداد غیرفعال و یا تصادفی رشد تومور نیست، بلکه

جدول ۱. نمایش سازوکار عمل ۱۴ مورد lncRNA در رابطه با سرطان (۶۸)

lncRNA	میان‌کنش‌های مولکولی	فنوتیپ سرطان	نوع سرطان	عملکرد
HULC	ناشناخته	ناشناخته	هپاتوسلولار	مارکر زیستی
PCA3	ناشناخته	ناشناخته	پروستات	مارکر زیستی
ANRIL/P15as	اتصال به مجموعه سرکوبگر پلی کامب ۱ اتصال به مجموعه سرکوبگر پلی کامب ۲	سرکوب پیری از طریق عمل INK4Aبر روی	پروستات، لوسمی	انکوژنی
HOTAIR	اتصال به مجموعه سرکوبگر پلی کامب ۲ اتصال به دمتیلاز ۱ ویژه لیزین (LSD1)	توسعه‌ی متاستاز	پستان، هپاتوسلولار	انکوژنی
MALAT1/NEAT2	همکاری در تشکیل و عملکرد های هسته‌ایparaspeckle	مبهم	پروستات، شش، کولون، پستان	انکوژنی
PCAT-1	ناشناخته	تقویت تکثیر سلولی BRCA2مهار	پروستات	انکوژنی
PCGEM1	ناشناخته	مهار آپوپتوز تقویت تکثیر سلولی	پروستات	انکوژنی
TUC338	ناشناخته	تقویت تکثیر سلولی و تشکیل کلونی	هپاتوسلولار	انکوژنی
uc.73a	ناشناخته	مهار آپوپتوز تقویت تکثیر سلولی	لوسمی	انکوژنی
H19	ناشناخته	توسعه‌ی رشد و تکثیر سلولی فعال می-cMYCبه‌واسطه‌ی شود؛ با تکثیر سلولی طولانی مدت، بیان آن کاهش می یابد	پستان، هپاتوسلولار	انکوژنی سرکوبگری تومور
GAS5	اتصال به گیرنده گلوکوکورتیکوئید	القای آپوپتوز و توقف رشد جلوگیری از بیان ژن القاشده با واسطه‌ی گیرنده گلوکورتیکوئید	پستان	سرکوبگری تومور
linc-p21	هسته‌ای kاتصال به ریبونوکلئوپروتئین هتروژن(hnRNP-K)	P53میانجی‌گری سیگنالدهی القای آپوپتوز	مدل‌های موشی شش، سارکوما، لنفوما	سرکوبگری تومور
MEG3	ناشناخته	P53میانجی‌گری سیگنالدهی مهار تکثیر سلولی	منتژیوما، هپاتوسلولار، لوسمی، هیپوفیز	سرکوبگری تومور
PTENP1	ناشناخته	های RNAاتصال به ریز PTENسرکوبگر	پروستات، کولون	سرکوبگری تومور

فرایندی فعال و چندمرحله‌ای است که نیازمند تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی متعدد در ژن‌های ویژه است (۶۹، ۷۰). Jason و همکاران در سال ۲۰۱۴، به معرفی نقش چند lncRNA در توسعه‌ی متاستاز پرداخته‌اند، و بیان داشته‌اند که lncRNAها از طریق تنظیم آبشارهای پیام‌رسانی متاستاز، و میان‌کنش با عامل‌های متاستازی، قادر به القا و توسعه متاستاز هستند (۷۱). در ادامه، به معرفی شماری از این lncRNAها می‌پردازیم.

MALAT-1 در speaklesهای هسته حضور دارد و کنترل کننده فسفریلاسیون پروتئین‌های خانواده‌ی SR (serine/arginine- rich) درگیر در فرایند پردازش متناوب mRNA است (۷۲، ۷۳). این lncRNA میزان خروجی mRNA مولکول‌های دخیل در فرایندهای سرطان‌زایی و

متاستاز، از جمله عامل‌های درگیر چرخه سلولی، آسیب DNA و متابولیسم (CDK7، B-MYB و SAT1)، مسیر پیام‌رسانی WNT (CAMK2B و HMG2L1) و سازمان‌دهی اسکلت خارج‌سلولی (ARHGEF1) را کنترل می‌کند. نتایج حاصل از چند مطالعه، نمایان‌گر نقش MALAT-1 در پردازش پس از رونویسی ژن‌های درگیر در راه‌اندازی و پیش‌برد آبشار متاستاز هستند (۷۵،۷۴).

عملکرد lncRNA H19 نیز در توسعه متاستاز، از جمله در سرطان‌های مثانه و پستان به اثبات رسیده است. در مطالعه‌ای مشخص شد که بیان H19 در رده سلولی T24P از کارسینومای مثانه افزایش می‌یابد. به کمک آنالیز ریزآرایه، ژن‌های درگیر در فرایندهای تهاجم و متاستاز با بیان تغییریافته در این سلول‌ها شناسایی شدند. در ادامه، این مطالعه نشان داد که H19، تنظیم کننده ژن‌های درگیر در تهاجم، مهاجرت و رگ‌زایی است (۷۶). بیان H19 به میزان قابل‌توجهی در شرایط هیپوکسی و از طریق سازوکارهای میانجی‌گری شده با HIF-1α افزایش می‌یابد (۷۷). مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۳ بر روی نمونه‌های گرفته شده از سرطان مثانه انجام شد، نشان داد که H19 معمولا در مراحل اولیه از تومورهایی افزایش می‌یابد که در مراحل بعدی با متاستاز همراه هستند (۷۸).

چندین مطالعه نیز افزایش بیان H19 را در تومورهای متاستازدهنده پستان گزارش کرده‌اند (۸۱-۷۹). مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ بر روی نمونه‌های سرطان پستان نشان داد که rs2107425 SNP در اینترون ۱ ژن H19، به طور قابل‌توجهی با بقای کوتاه‌مدت بدون متاستاز همراه است (۸۲). مطالعات بیشتر بر روی SNP مذکور بیان نمود که این SNP بر بیان H19 تاثیری ندارد، اما بیان یکی از رونوشت‌های آنتی‌سنس H19 را (که نیز از جایگاه H19 رونویسی می‌شوند) تحت تاثیر قرار می‌دهد (۸۲).

نقش HOTAIR نیز در متاستاز سرطان‌های پستان، تومورهای استرومایی معده‌ای-روده‌ای، سرطان هپاتوسلولار و سرطان ریه non-small cell به اثبات رسیده است. این lncRNA با هدف گیری مجموعه PRC2 و هدایت آن به سمت مجموعه ژن‌های خاص، الگوهای بیانی ارتقادهنده‌ی تهاجم و مهاجرت را تقویت می‌کند (۶۱). بیان HOTAIR در نمونه‌های سرطان پستان متاستاز دهنده، ۲۰۰۰ برابر افزایش می‌یابد (۶۴). در سرطان هپاتوسلولار که با متاستاز به گره‌های لنفاوی همراه بود، بیان HOTAIR به مراتب بیشتر از نمونه‌های غیرمتاستازی بود و نرخ بقای بیماران مبتلا، ۳ سال پایین‌تر گزارش شد. ادامه مطالعات نشان داد که HOTAIR، بیان عامل‌های پیش-متاستازی VEGF و MMP-9 را افزایش می‌دهد (۸۳). مقاله‌ای در سال ۲۰۱۳، افزایش معنی‌دار HOTAIR را در سرطان ریه non-small cell همراه شده با تهاجم به رگ و لنف گزارش کرد، که بقای کوتاه‌مدت تر بیماران را به دنبال داشت (۸۴). HOTAIR به مراتب در تومورهای استرومایی معده‌ای-روده‌ای متاستاز دهنده افزایش می‌یابد و با نرخ بقای ضعیف بیماران همراه است. هم‌چنین، در نمونه‌های گرفته شده از این سرطان که افزایش بیان HOTAIR را نشان می‌دادند، دیده شد که بیان ۱۴۴ ژن به‌واسطه عملکرد HOTAIR در همراهی با PRC2، به میزان چشم‌گیری کاهش می‌یابد (۸۵). مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان داد که HOTAIR می‌تواند نیز به عنوان یک ceRNA (competing endogenous RNAs) عمل کرده، و با سایر رونوشت‌های RNA برای اتصال به miRNA رقابت کند، و از این طریق ذخیره‌ی miRNAهای در دسترس برای کاهش بیان ژن هدفشان را تعدیل می‌کند. این مطالعه گزارش کرد که HOTAIR با این سازوکار، قادر به توقیف کردن یک miRNA به نام miR331-3p در سلول‌های سرطانی معده است. کاهش سطح فعالیت miR331-3p منجر به افزایش سطوح HER2 می‌شود، که پیش از این نقش آن در پیش‌برد رخداد متاستاز آشکار شده است (۸۶، ۸۷).

استفاده از روش RNA sequencing در مطالعه بر روی ۱۰۲ نمونه گرفته شده از سرطان پروستات، که با هدف ارزیابی lncRNAها با بیان تغییریافته انجام شد، به شناسایی ۱۲۱رونوشت با عملکرد نامشخص منجر گردید که بیان هر یک از آن‌ها به نحوی در هر یک از نمونه‌های خوش‌خیم و متاستاز دهنده دستخوش تغییر شده بود. مطالعه عمیق‌تر بر روی یکی از این رونوشت‌ها به نام PCAT-1 (prostate cancer associated transcript 1) نشان داد که بیان این lncRNA در مجموعه‌ای از سرطان‌ها با درجه پیشرفته و سرطان‌های متاستاز دهنده افزایش می‌یابد. در ادامه، knockdown کردن ژن این رونوشت به‌واسطه‌ی siRNA، با ایجاد تغییرات بیان در ۳۷۰ ژن هدف آن همراه شد، که برای نمونه مشخص شد شماری از این ژن‌ها در فرایندهایی همچون چرخه سلولی/میتوز و میکروتوبول/اسکلت سلولی درگیر هستند (۸۸). مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۳ گزارش کرد که بیان PCAT-1 در سرطان کولورکتال نیز دستخوش افزایش قابل‌توجه می‌شود و با افزایش رخداد متاستاز و کاهش بقای بیماران همراه است (۸۹).

lncRNA-LET (lncRNA-low expression in tumor)، یک رونوشت با نقش کلیدی در سرکوب متاستاز است. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ گزارش کرد که در شریط هیپوکسی، افزایش بیان عامل HIF-1α، موجب افزایش بیان HDAC3 (هیستون داستیلاز ۳) می‌شود. HDAC3 با داستیله کردن هیستون‌های واقع در بخش پروموتر ژن کد کننده lncRNA-LET، موجب کاهش بیان این رونوشت می‌گردد. این مطالعه در ادامه، تاثیر این رویداد را در پیش‌برد متاستاز سرطان هپاتوسلولار به اثبات رساند (۹۰).

CCAT2 (colon cancer associated transcript 2) یک lncRNA است که به دنبال فعال شدن مسیر پیام‌رسانی WNT، ورود β-کاتنین به هسته و همراه شدن آن با عامل TCFL72 بیان می‌شود. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ نشان داد که وجود چندشکلی rs6983267 GG در ژن کد کننده CCAT2، موجب افزایش بیان این رونوشت نسبت به حالت rs6983267 TT می‌گردد. افزایش بیان CCAT2، با افزایش بیان ژن‌های هدف پایین‌دست از جمله MYC همراه است، و از طرفی نیز بر فعالیت مسیر پیام‌رسانی WNT تاثیر بازخوردی مثبت دارد. سطوح افزایش یافته MYC، موجب افزایش بیان اهداف پایین دست آن، شامل miR17HG و miR20a می‌شود که میانجی‌گرهای متاستاز هستند و نقش مهمی در تقویت بروز فنوتیپ متاستازی ایفا می‌کنند (۹۱). این مطالعه در ادامه حضور چندشکلی rs6983267 GG در ژن کد کننده CCAT2، با افزایش خطر بروز سرطان‌های کولورکتال، پروستات، تخمدان و کارسنومای التهابی پستان همراه است (۹۱).

GACAT1 (gastric cancer associated tran- script 1)، lncRNA دیگری است که در سال ۲۰۱۳ نشان داده شد بیان آن در بافت‌های سرطانی معده، در مقایسه با بافت‌های طبیعی احاطه کننده آن‌ها، کاهش می‌یابد. هم‌چنین، افزایش بیان این رونوشت به نحو قابل‌توجهی با عمق تهاجم و متاستاز به دستگاه لنفاتیک و نقاط دورتر بدن در ارتباط است (۹۲). شناسایی عملکرد GACAT1 در سطح مولکولی، نیازمند انجام مطالعات بیش‌تر است. با این وجود، همراهی قوی آن با افزایش احتمال وقوع متاستاز، آن را به یک مارکر زیستی بالقوه در تشخیص سرطان معده تبدیل کرده است (۹۲).

SPRTY-IT1 (sprouty homolog 4 intronic transcript 1)، lncRNA ای است که در ملانوما به صورت غیرطبیعی بیان می‌شود و knockdown کردن SPRTY-IT1 بوسیله SiRNA با کاهش در تهاجم و قابلیت حرکت همراه بوده است (۹۳).

مطالعات جدید با هدف پی بردن به سازوکار دقیق عملکرد این رونوشت در فرایند متاستاز، در حال انجام است.

lncRNA-ATB در سال ۲۰۱۴ شناسایی شده، که به‌واسطه مسیر پیام‌رسانی TGF-β فعال می‌شود و چند مرحله از فرایند متاستاز سرطان هپاتوسلولار را از طریق دو سازوکار مستقل تنظیم می‌نماید. در سازوکار اول، این رونوشت به عنوان یک ceRNA عمل کرده، و با توقیف کردن اعضای خانواده miR200 موجب کاهش دادن دسترسی آن‌ها به رونوشت‌های هدفشان می‌شود. این رویداد، به القای بیان یک lncRNA دیگر به نام Zeb1/2 منجر می‌شود، که افزایش مقادیر آن با کاهش E-cadherin و به دنبال آن تغییر از حالت اپی‌تلیومی به حالت مزانشیمی و افزایش قابلیت متاستاز همراه است. در سازوکار دوم، lncRNA-ATB به mRNAی Il-11 (اینترلوکین ۱۱) متصل می‌شود و پایداری آن را افزایش می‌دهد. افزایش سطوح Il-11 به‌واسطه lncRNA-ATB، موجب فعال‌سازی مولکول STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) می‌شود. این با افزایش تمایل ذاتی سلول‌ها به بقا و موفقیت آن‌ها برای تشکیل کلنی در بافت جدید دوردست همراه است. میزان بیان lncRNA-ATB، یک عامل پیش‌بینی کننده معتبر برای رخداد یا عدم رخداد عود بیماری و برآورد نرخ کلی بقا در بیماران مبتلا به سرطان هپاتوسلولار است، و زمینه تحقیقات جدید را فراهم آورده است (۹۴).

LCT13 (LINE-1 chimeric antisense transcript) یک lncRNA است که خاموش‌سازی رونوشت‌برداری از ژن sense خود را که رمز کننده پروتئین ضدمتاستازی TFPI2 (tissue factor pathway inhibitor 2) است، القا می‌نماید و از این رو می‌تواند در پیش‌برد فرایند متاستاز درگیر باشد (۹۵).

lncRNAها به عنوان عامل‌های تشخیص و پیش‌آگهی سرطان

کشف اینکه lncRNAها تنظیم‌کننده‌های کلیدی در تغییرشکل به سمت سرطان و پیشرفت آن هستند، با چشم‌اندازهایی به سوی کاربرد این مولکول‌ها به عنوان اهداف تشخیصی و درمانی همراه شده است. بسیاری از lncRNAها مانند ANRIL، HOTAIR و MALAT-1 به شیوه محدود به بافت و ویژه یک سرطان بیان می‌شوند و می‌توان از آن‌ها به عنوان نشانگرهای پیش‌آگهی مفید استفاده کرد.

شمار lncRNAهایی که به عنوان مارکرهای زیستی در تشخیص و پیش‌آگهی کاربرد دارند، هرساله در حال افزایش

است و برخی از آن‌ها برای استفاده بالینی مورد تایید قرار گرفته‌اند (۹۶). یکی از مزایای اصلی lncRNAها، پایداری بالای آن‌ها و حضورشان در مایعات بدن است، به ویژه زمانی که در ذرات ریزی مانند اگزوزوم‌ها و اجسام آپوپتوزی قرار گرفته‌اند (۹۷). بنابراین، با یک نمونه‌گیری کوچک از خون، ادرار، و یا بزاق، و در ادامه با بهره‌گیری از روش Real Time PCR می‌توان مقادیر آن‌ها را اندازه گیری کرد (۹۶، ۹۸) (شکل ۱۰). برخی lncRNAها می‌توانند تنها به عنوان یک نشان‌گر زیستی تشخیصی یا تنها به عنوان یک عامل پیش‌آگهی عمل کنند.

برای مثال، یک lncRNA به نام ژن ۳ سرطان پروستات (PCA3)، تا حد زیادی با سرطان پروستات همراهی دارد و به طور رایج در تعیین میزان خطر سرطان پروستات از روی نمونه‌های ادرار (آزمون ادراری Progensa PCA3) به کار می‌رود و با کمک این روش می‌توان از بیوپسی‌های غیرضروری پروستات، اجتناب ورزید (۹۹). بیان HOTAIR در تومورهای اولیه و بیماران مبتلا به سرطان پستان به شدت افزایش می‌یابد، و سطوح بیان آن به طور مثبت با پیامد ضعیف همراهی دارد (۶۱). Yang و همکارانش پیشنهاد کردند که سطوح بالای بیان HOTAIR می‌تواند نیز به عنوان یک مارکر زیستی برای پیش‌گیری از عود تومور در بیماران مبتلا به کارسینومای هپاتوسلولار کمک کند (۱۰۰، ۱۰۱). بیان MALAT-1 در بسیاری از تومورهای سفت افزایش می‌یابد و با متاستاز و عود سرطان همراه است. در کارسینومای هپاتوسلولار، سطوح MALAT-1 مطابق با مرحله پیشرفته‌ی بیماری است، و به طور برعکس با بقای عاری از بیماری پس از پیوند کبد در ارتباط است (۱۰۲). هم‌چنین، مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان داد که کاهش بیان RP11-462C24.1 در ارتباط با درجاتی از بدخیمی سرطان کولورکتال است (۱۰۳)، و بنابراین می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی تشخیصی به کار رود. با این وجود، گاهی به عنوان نشانگر زیستی پیش‌آگهی کننده نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا بیان آن در سرطان کولورکتال متاستاتیک نسبت به سرطان کولورکتال غیرمتاستاتیک پایین‌تر است (۱۰۳).

افزون بر کاربرد در موارد تشخیصی و عامل پیش‌آگهی، lncRNAها می‌توانند به مثابه نشانگرهای مفید در ارزیابی خطر سرطان عمل کنند. بیان PCGEM1 ویژه‌ی سرطان پروستات به نام PCGEM1، با خطر بالاتری از ابتلا به این سرطان همراه است (۱۰۴). PRNCR1، lncRNA دیگری است که همراهی قوی با استعداد ابتلا به سرطان پروستات نشان می‌دهد (۱۰۵).

همه lncRNAها با نقش تعیین‌کننده در عملیات تشخیص و پیش‌آگهی، بر فرایندهای سلولی ایجاد کننده‌ی فنوتیپ سرطانی، مانند تکثیر، تهاجم و بقا، تاثیر می‌گذارند (۱۰۸-۱۰۶). این امر پیشنهاد می‌کند که تغییر در سطوح بیان این LncRNAها، نه‌تنها یک علامت ثانویه از سرطان است، بلکه می‌تواند به طور مستقیم در آغاز و یا پیشرفت سرطان دخیل باشد (۱۰۹).

اگرچه ممکن است lncRNAها برای تبدیل شدن به رونوشت بالغ و نهایی خود نیازمند تغییرات پس از رونویسی باشند، یا عملکرد صحیح آن‌ها مستلزم میان‌کنش با پروتئین‌ها باشد، اما اندازه‌گیری بیان آن‌ها به طور مستقیم نشان‌دهنده سطوح مولکول فعال است. در برابر، سطوح mRNA صرفا به طور غیرمستقیم نشان‌دهنده سطوح محصول عملکردی ژن‌های کد کننده پروتئین است. سطوح lncRNA ممکن است مطابقت بیشتری با موارد ویژه از سرطان داشته باشد، و بنابراین ابزار تشخیصی مفیدتری به شمار رود. هم‌چنین، lncRNAها در کل در مقایسه با ژن‌های کدکننده پروتئین، به میزان قابل‌توجه‌تری ویژه‌ی نوع سلول هستند (۱۱۰) و ممکن است با نشانه‌گذاری یک جمعیت سلولی ویژه (مانند سلول‌های بنیادی سرطانی)، به ارزیابی ترکیبات سلولی یک تومور کمک شایانی نمایند (۱۱۱). از این رو، استفاده از RNAهای غیر کدکننده در امر پیش‌آگهی، دارای مزیت‌های ذاتی بیشتری از RNAهای کدکننده پروتئین است.

ژن‌های کاذب

ژن‌های کاذب (pseudogenes) می‌توانند به عنوان زیرگروهی از lncRNA ها در نظر گرفته شوند (۱۱۲) که از ژن‌های والدی کدکننده پروتئین‌های عملکردی مشتق شده‌اند (۱۱۳). این ژن‌ها در بسیاری از ویژگی‌ها مانند نقش در ایجاد سرطان و نیز در سازوکار عملکردی خود، مشابه lncRNAها هستند. بیش از ۱۰۰۰۰۰ ژن کاذب متعلق به هر دو رده موجودات پروکاریوتی و یوکاریوتی، در داده پایگاه pseudogene.org قابل مشاهده است (۱۱۴).

تنظیم نامناسب ژن‌های کاذب در سرطان

ژن‌های کاذب می‌توانند اغلب، بیان ویژه سرطانی را از خود نشان دهند (۱۱۵). به ویژه، آن‌ها می‌توانند در بافت‌های

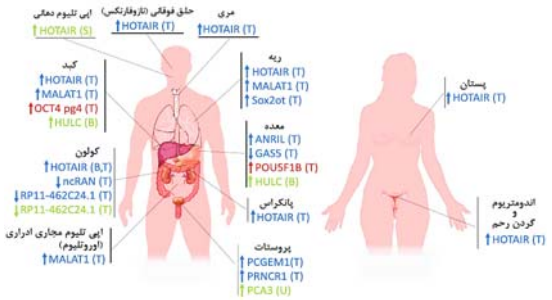
توموری در مقایسه با بافت‌های طبیعی، کاهش یا افزایش بیان نشان دهند. هم‌چنین، بیان آن‌ها می‌تواند تنها به بافت توموری محدود شود (۱۱۶، ۱۱۷) (شکل ۱۰). شباهت زیاد بین ژن‌های کاذب و ژن‌های والدی آن‌ها، احتمال تبادل DNA بین آن‌ها را افزایش می‌دهد که معمولا به انتقال جهش‌هایی از ژن‌های کاذب به داخل ژن‌های والدی کد کننده منجر می‌شود و بر عملکرد پروتئین کد شده از آن تاثیر می‌گذارد (۱۱۸). در نهایت، تبادل DNA بین ژن کاذب و ژن والدی آن می‌تواند به غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور (مانند BRCA1) (۱۱۹)، و یا فعال شدن انکوژن ها منجر شود.

در سطح RNA، ژن‌های کاذب می‌توانند بیان انکوژن‌ها یا ژن‌های سرکوبگر تومور را تحت تاثیر قرار دهند، به نحوی که به عنوان اسفنجی برای جذب miRNAها و یا پروتئین‌های متصل شونده به RNA (RBP) عمل می‌کنند (۱۱۵). در حالت اول، ژن‌های کاذب می‌توانند عملکرد مجموعه‌ای از miRNAهایی را توقیف کنند که با اتصال به مکان‌های ویژه اتصالی خود (microRNA-binding elements (MREs) بر روی RNAهای کد کننده و غیر کد کننده، سبب کاهش بیان آن‌ها می‌شوند. این سازوکار تنظیمی اولین بار توسط Poliseno و همکارانش، در مورد ژن والد/ ژن کاذب PTEN/**PTENP1** مشاهده شد (۱۲۰، ۲۱). حالت مشابه زمانی رخ می‌دهد که ژن‌های کاذب به عنوان اسفنج جذب کننده برای پروتئین‌های متصل شونده به RNA عمل کنند. بسته به عملکرد پروتئین، آن‌ها می‌توانند ترجمه ژن‌هایی را که دارای توالی‌های مشترک اتصال به آن پروتئین هستند را فعال یا مهار کنند.

در سطح پروتئین، ژن‌های کاذب پردازش شده می‌توانند پروتئین‌هایی را کد کنند که اغلب جهش یافته یا کوتاه شده‌اند. به این پروتئین‌ها، پروتئین‌های کاذب گفته می‌شود که می‌توانند فعالیت تغییریافته‌ای نسبت به نوع طبیعی داشته باشند (۱۲۱، ۱۲۲). ژن‌های کاذب پردازش شده تحت کنترل یک پروموتر متفاوت از پروموتر اصلی است، و پروتئین‌های کد شده از روی آن‌ها می‌توانند در بافت‌ها، سلول‌ها، و شرایط متفاوتی از ژن اصلی بیان شوند (۱۰۹). برای نمونه، در طی میوز مردان و تشکیل جسم XY (XY body)، ژن‌های موجود بر روی کروموزوم X برای حدود ۱۵روز هیچ بیانی ندارند. در روند تکامل، چند ژن کاذب پردازش شده‌ی مشتق از شماری از ژن‌های ضروری حاضر بر روی کروموزوم X، به‌واسطه وقوع mRNA retrotransposition، بر روی کروموزوم‌های اتوزوم تعبیه شده‌اند تا فقدان رونویسی از روی ژن‌های اصلی را جبران نمایند (۱۲۳).

ژن‌های کاذب به عنوان عامل‌های تشخیصی و پیش‌آگهی

برخی ژن‌های کاذب با بیان ویژه در سرطان شناخته شده‌اند، و بدون شک، این رده از lncRNAها ابزار تشخیصی و پیش‌آگهی مفیدی برای سرطان هستند (۱۲۴، ۱۲۵). برای نمونه، مقاله‌ای در سال ۲۰۱۵ اظهار داشت که ***POU5F1B***، که ژن کاذب پردازش شده ژن OCT4 است، در سرطان‌های معده تکثیر می‌شود، و این در حالی است که ژن والدی در تعداد نسخه طبیعی خود باقی می‌ماند (۱۲۴). POU5F1B قادر به هدایت رشد تومور است و عامل پیش‌گویی کننده نسبتا ضعیفی برای مرحله چهارم سرطان معده است. ژن کاذب دیگر مشتق شده از ژن والدی OCT4، ***OCT4-pg4*** است که با اتصال به miR-145، به عنوان یک اسفنج برای جذب OCT4 miRNA عمل می‌کند و بدین وسیله خاصیت پرتوانی را در سلول‌ها القا می‌کند. بیان OCT4-pg4 در سرطان هپاتوسلولار افزایش یافته، و رشد سلول و تومورزایی را تقویت می‌کند. OCT4-pg4 نیز پیش‌گویی کننده ضعیفی برای سرطان هپاتوسلولار به شمار می‌رود (۱۲۵).



شکل ۱۰. تعدادی از lncRNAهای دارای کاربرد در تشخیص و پیش-آگهی سرطان. رنگ‌های سبز lncRNAها با کاربرد در تشخیص سرطان، رنگ‌های آبی lncRNAها با کاربرد در پیش‌آگهی سرطان و رنگ‌های قرمز ژن‌های کاذب با کاربرد در پیش‌آگهی سرطان را نشان می‌دهند. حروفB، lncRNAهای موجود در نمونه خون، حروف S، lncRNAهای موجود در نمونه بزاق، حروف T، lncRNAهای موجود در نمونه بافت، و حروف U، lncRNAهای موجود در نمونه ادرار را به اختصار نشان می‌دهند. پیکان‌های ↑ بیان‌گر مقادیر بالاتر، و ↓ بیان‌گر مقادیر پایین‌تر از حد طبیعی lncRNAهای مرتبط با تشخیص یا پیش‌آگهی ویژه هر سرطان هستند (۱۰۹).

HOTAIR: HOX antisense intergenic RNA; **MALAT1**: Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1; **OCT4**: Octamer-binding transcription factor 4; **HULC**: Highly upregulated in liver cancer; **Sox2ot**: SOX2 overlapping transcript; **ANRIL**: Antisense non-coding RNA in the INK4 locus; **GAS5**: Growth arrest-specific 5; **POU5F1B**: POU class 5 homeobox 1B; **PCGEM1**: Prostate-specific transcript 1; **PRNCR1**: Prostate Cancer Associated Non-Coding RNA 1; **PCA3**: Prostate cancer antigen *3*

جمع‌بندی

lncRNAها، دارای عملکردهای حیاتی در کنترل رشد، تقسیم و تمایز سلول هستند، و اختلال در بیان این مولکول‌ها می‌تواند در تکوین و پیش‌برد سرطان نقش تعیین‌کننده‌ای داشته باشد. با وجود آن‌که بخش بزرگی از استعداد ابتلا به سرطان توارث‌پذیر است، اجزای زمینه‌ساز ژنتیکی سرطان تا حدود زیادی ناشناخته هستند. پژوهش‌های انجام شده پیرامون نقش مولکول‌های lncRNA در پیدایش سرطان و متاستاز تومور، پیشنهاد می‌کنند که خطر ابتلا به سرطان را تا حدود زیادی می‌توان به lncRNAهایی نسبت داد که از جایگاه‌های بحرانی مرتبط با سرطان رونویسی می‌شوند. شناسایی و بررسی ژن‌های کد کننده lncRNA و پرده‌برداری از عملکرد محصولات آن‌ها، کاربرد آن‌ها را در زمینه تشخیص و پیش‌آگهی سرطان، و نظارت بر توسعه این وضعیت مهلک گسترش داده است.

REFERENCES

1. Rossi S, Sevignani C, Nnadi SC, Siracusa LD and Calin GA. Cancer-associatedgenomic regions(CAGRs) andnoncoding RNAs: bioinformatics and therapeutic implications. Mamm Genome 2008; 19: 526–40.
2. 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.
3. Noori-Daloii MR, Eshaghkhani Y. lncRNAs: significance and function mechanisms. The Journal of Medical Science of Azad Islamic University 2015; 25: 79-94. [In Persian]
4. Cheetham SW, Gruhl F, Mattick JS and Dinger ME. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. Br J Cancer 2013; 108: 2419–25.
5. Jendrzejewski J, He H, Radomska HS, Li W, Tomsic J, Liyanarachchi S, et al. The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type. Proc Natl Acad Sci USA 2012; 109: 8646–51.
6. Pasmant E, Sabbagh A, Vidaud M, Bieche I. ANRIL, a long noncoding RNA, is an unexpected major hotspot in GWAS. FASEB J 2011; 25:444–48.
7. Cunnington MS, Santibanez Koref M, Mayosi BM, Burn J, Keavney B. Chromosome 9p21 SNPs associated with multiple disease phenotypes correlate with ANRIL expression. PLoS Genet 2010; 6:e1000899.
8. Cariaso M, Lennon G. SNPedia: a wiki supporting personal genome annotation, interpretation and analysis. Nucleic Acids Res 2012; 40:D1308–12.
9. Chung S, Nakagawa H, Uemura M, Piao L, Ashikawa K, Hosono N, et al. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility. Cancer Sci 2011; 102: 245–52.
10. Mercer TR, Gerhardt DJ, Dinger ME, Crawford J, Trapnell C, Jeddeloh JA, et al. Targeted RNA sequencing reveals the deep complexity of the human transcriptome. Nat Biotechnol 2012; 30: 99–104.
11. Cheung HH, Lee TL, Davis AJ, Taft DH, Rennert OM, Chan WY. Genome-wide DNA methylation profiling reveals novel epigenetically regulated genes and non-coding RNAs in human testicular cancer. Br J Cancer 2010; 102: 419–27.
12. Prensner JR, Iyer MK, Balbin OA, Dhanasekaran SM, Cao Q, Brenner JC, et al. Transcriptome sequencing identifies PCAT-1, a novel lincRNA implicated in prostate cancer progression. Nat Biotechnol 2012; 29:742–49.
13. Sang X, Zhao H, Lu X, Mao Y, Miao R, Yang H, et al. Prediction and identification of tumor-specific noncoding RNAs from human UniGene. Med Oncol 2010; 27: 894–98.
14. Trapnell C, Williams BA, Pertea G, Mortazavi A, KwanG, van Baren MJ. Transcript assembly and quantification by RNA- Seq reveals unannotated transcripts and isoforms witching during cell differentiation. Nat Biotechnol 2010; 28: 511–15.
15. Wu G, Cai J, Han Y, Chen J, Huang ZP, Chen C, et al. LincRNA-p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis, and atherosclerosis by enhancing p53 activity. Circulation 2014; 130:1452-65.
16. Huarte M, Guttman M, Feldser D, Garber M, Koziol MJ, Kenzelmann-Broz D, et al. A large intergenic noncoding RNA induced byp53 mediates global gene repression in the p53 response. Cell 2010; 142: 409–19.
17. Yoon JH, Abdelmohsen K, Srikantan S, Yang X, Martindale JL, De S, et al. LincRNA-p21 suppresses target mRNA translation. Mol Cell 2012; 47:648–55.
18. Hung T, Wang Y, Lin MF, Koegel AK, Kotake Y, Grant GD, et al. Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters. Nat Genet 2011; 43: 621–29.

19. Morachis JM, Murawsky CM, Emerson BM. Regulation of the p53 transcriptional response by structurally diverse core promoters. Genes Dev 2010; 24: 135–47.

20. Frevel MA, Sowerby SJ, Petersen GB, Reeve AE. Methylation sequencing analysis refines the region of H19 epimutation in Wilms tumor. J Biol Chem 1999; 274: 29331–40.

21. Mattick JS. The genetic signatures of noncoding RNAs. PLoS Genet 2009; 5: e1000459.

22. Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. Nature 2010; 465: 1033–38.

23. Luo M, Li Z, Wang W, Zeng Y, Liu Z, Qiu J. Upregulated H19 contributes to bladder cancer cell proliferation by regulating ID2 expression. Febs J 2013; 280: 1709–16.

24. Ayesh S, Matouk I, Schneider T, Ohana P, Laster M, Al-Sharef W, et al. Possible physiological role of H19 RNA. Mol Carcinog 2002; 35: 63–74.

25. Matouk IJ, DeGroot N, Mezan S, Ayesh S, Abu-lail R, Hochberg A, et al. The H19 non-coding RNA is essential for human tumor growth. PLoS One 2007; 2: e845.

26. Keniry A, Oxley D, Monnier P, Kyba M, Dandolo L, Smits G, et al. The H19 lincRNA is a developmental reservoir of miR-675 that suppresses growth and Igf1r. Nat Cell Biol 2012;14:659–65.

27. Martens-Uzunova ES, Böttcher R, Croce CM, Jenster G, Visakorpi T, Calin GA. Long noncoding RNA in prostate, bladder, and kidney cancer. Eur Urol 2014;65:1140-51.

28. Zhang X, Rice K, Wang Y, Chen W, Zhong Y, Nakayama Y, et al. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: Isoform structure, expression, and functions. Endocrinology. 2010; 151, 939–947.

29. Zhang X, Zhou Y, Mehta KR, Danila DC, Scolavino S, Johnson SR, et al. A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88:5119–26.

30. Zhang X, Gejman R, Mahta A, Zhong Y, Rice KA, Zhou Y, et al. Maternally expressed gene 3, an imprinted noncoding RNA gene, is associated with meningioma pathogenesis and progression. Cancer Res 2010; 70: 2350–58.

31. Zhou Y, Zhong Y, Wang Y, Zhang X, Batista DL, Gejman R, et al. Activation of p53 by MEG3 non-coding RNA. J Biol Chem 2007; 282:24731–742.

32. Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. J Mol Endocrinol 2012; 48: R45–53.

33. Hu W, Yuan B, Flygare J, Lodish HF. Long noncoding RNA-mediated anti-apoptotic activity in murine erythroid terminal differentiation. Genes Dev 2011; 25:2573–78.

34. Flygare J, Rayon Estrada V, Shin C, Gupta S, Lodish HF. HIF1alpha synergizes with glucocorticoids to promote BFU-E progenitor self-renewal. Blood 2011; 117:3435–44.

35. Ohtsuka T, Ryu H, Minamishima YA, Macip S, Sagara J, Nakayama KI, et al. ASC is a Bax adaptor and regulates the p53-Bax mitochondrial apoptosis pathway. Nat Cell Biol 2004; 6:121–28.

36. Ohtsuka T, Mitsuno M, Kitajima Y, Ide T, Lee SW, Miyazaki K. Role of ASC in hypoxia-mediated cell death in pancreatic cancer. Mol Med Report 2008; 1:827–31.

37. Paralkar VR, Weiss MJ. A new "Linc" between noncoding RNAs and blood development. Genes Dev 2011; 25:2555–58.

38. Pasic I, Shlien A, Durbin AD, Stavropoulos DJ, Baskin B, Ray PN, et al. Recurrent focal copy-number changes and loss of heterozygosity implicate two noncoding RNAs and one tumor suppressor gene at chromosome 3q13.31 in osteosarcoma. Cancer Res 2010; 70:160-71.

39. Liu Q, Huang J, Zhou N, Zhang Z, Zhang A, Lu Z, et al. LncRNA loc285194 is a p53-regulated tumor suppressor. Nucl Acids Res 2013; 41:4976–87.

40. Fan M, Li X, Jiang W, Huang Y, Li J, Wang Z. A long non-coding RNA, PTCSC3,as a tumor suppressor and a target of miRNAs in thyroid cancer cells. Exp Ther Med 2013; 5:1143–46.

41. Marín-Béjar O, Marchese FP, Athie A, Sánchez Y, González J, Segura V, et al. Pint lincRNA connects the p53 pathway with epigenetic silencing by the Polycomb repressive complex 2. Genome Biol 2013;14:R104.

42. Zhang A, Zhou N, Huang J, Liu Q, Fukuda K, Ma D, et al. The human long non-coding RNA-RoR is a p53 repressor in response to DNA damage. Cell Res 2013; 23:340-50.

43. Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R, Schneider PM, 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; 22:8031–41.

44. Ren S, Peng Z, Mao JH, Yu Y, Yin C, Gao X, et al. RNA-seq analysis of prostate cancer in the Chinese population identifies recurrent gene fusions, cancerassociated long noncoding RNAs and aberrant alternative splicings. Cell Res 2012; 22:806–21.

45. Han Y, Liu Y, Nie L, Gui Y, Cai Z. Inducing cell proliferation inhibition, apoptosis, and motility reduction by silencing long noncoding ribonucleic acid metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in urothelial carcinoma of the bladder. Urology 2013; 81:209.

46. Ying L, Chen Q, Wang Y, Zhou Z, Huang Y, Qiu F. Upregulated MALAT-1 contributes to bladder cancer cell migration by inducing epithelial- to-mesenchymal transition. Mol Biosyst 2012; 8:2289–94.

47. Lin R, Maeda S, Liu C, Karin M, Edgington TS. A large noncoding RNA is a marker for murine hepatocellular carcinomas and a spectrum of human carcinomas. Oncogene 2006; 26:851–58.

48. Davis IJ, Hsi BL, Arroyo JD, Vargas SO, Yeh YA, Motyckova G, et al. Cloning of an alpha-TFEB fusion in renal tumors harboring the t(6;11)(p21;q13) chromosome translocation. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100:6051–56.

49. Kuiper RP, Schepens M, Thijssen J, van Asseldonk M, van den Berg E, Bridge J, et al. Upregulation of the transcription factor TFEB in t(6;11)(p21;q13)-positive renal cell carcinomas due to promoter substitution. Hum Mol Genet 2003; 12:1661–69.

50. Yang L, Lin C, Liu W, Zhang J, Ohgi KA, Grinstein JD, et al. ncRNA- and Pc2 methylation-dependent gene relocation between nuclear structures mediates gene activation programs. Cell. 2011; 147:773–88.

51. Han Y, Liu Y, Gui Y, Cai Z. Long intergenic non-coding RNA TUG1 is overexpressed in urothelial carcinoma of the bladder. J Surg Oncol. 2013; 107:555–9.

52. Huang J, Zhou N, Watabe K, Lu Z, Wu F, Xu M, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes breast tumor growth by suppression of p27 (Kip1). Cell Death Dis 2014; e1008.

53. Wang F, Li X, Xie X, Zhao L, Chen W. UCA1, a non-protein-coding RNA up-regulated in bladder carcinoma and embryo, influencing cell growth and promoting invasion. FEBS Lett 2008; 582:1919–27.

54. Yang C, Li X, Wang Y, Zhao L, Chen W. Long non-coding RNA UCA1 regulated cell cycle distribution via CREB through PI3-K dependent pathway in bladder carcinoma cells. Gene 2012; 496:8–16.

55. Wang Y, Chen W, Yang C, Wu W, Wu S, Qin X, et al. Long non-coding RNA UCA1a(CUDR) promotes proliferation and tumorigenesis of bladder cancer. Int J Oncol 2012; 41:276–84.

56. Wang J, Liu X, Wu H, Ni P, Gu Z, Qiao Y, et al. CREB upregulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer. Nucleic Acids Res 2010; 38:5366-83.

57. Du Y, Kong G, You X, Zhang S, Zhang T, Gao Y, et al. Elevation of highly up-regulated in liver cancer (HULC) by hepatitis B virus X protein promotes hepatoma cell proliferation via down-regulating p18. J Biol Chem 2012; 287:26302-11.

58. Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C, Moustafa T, Stradner M, Strohmaier HM, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. Gastroenterology 2007; 132:330-42.

59. Zhao J, Greene CM, Gray SG, Lawless MW. Long noncoding RNAs in liver cancer: what we know in 2014. Expert Opin Ther Targets 2014;18:1207-18.

60. Hu X, Feng Y, Zhang D, Zhao SD, Hu Z, Greshock J, et al. A functional genomic approach identifies FAL1 as an oncogenic long noncoding RNA that associates with BMI1 and represses p21 expression in cancer. Cancer Cell 2014; 26:344–57.

61. Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, Xu X, Brugmann SA, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. Cell 2007; 129:1311–23.

62. Khalil AM, Guttman M, Huarte M, Garber M, Raj A, Rivea Morales D, et al. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106:11667–72.

63. Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. Science 2010; 329:689–93.

64. Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. Nature 2010; 464:1071–76.

65. Lal A, Thomas MP, Altschuler G, Navarro F, O'Day E, Ling Li X, et al. Capture of microRNA-bound mRNAs identifies the tumor suppressor miR-34a as a regulator of growth factor signaling. PLoS Genet 2011; 7:e1002363.

66. Yoon JH, Abdelmohsen K, Kim J, Yang X, Martindale JL, Tominaga-Yamanaka K,et al. Scaffold function of long non-coding RNA HOTAIR in protein ubiquitination. Nat Commun 2013; 4:2939.

67. Pandey GK, Mitra S, Subhash S, Hertwig F, Kanduri M, Mishra K, et al. The Risk-Associated Long Noncoding RNA NBAT-1 controls neuroblastoma progression by regulating cell proliferation and neuronal differentiation. Cell 2014; 26:722–37.

68. Prensner JR, Chinnaiyan AM. The emergence of lncRNAs in cancer biology. Cancer Discovery 2011;1:391-407.

69. Noori-Daloii MR, Ed. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran: Samer Publishing; 2012.

70. Noori-Daloii MR, Ed. Emery's elements of medical genetics. 6th ed. Tehran: Jamee-e-negar and Salemi publishing; 2012.

71. Serviss JT, Johnsson P, Grandér D. An emerging role for long non-coding RNAs in cancer metastasis. Front Genet 2014; 5: 234.

72. Sanford JR, Wang X, Mort M, Vanduyn N, Cooper DN, Mooney SD, et al. Splicing factor SFRS1 recognizes a functionally diverse landscape of RNA transcripts. Genome Res 2009; 19:381–94.

73. Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, Song DY, Pan Q, Watt AT, et al. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. Mol Cell 2010; 39:925–38.

74. Watson AP, Egland KA. Pathways to personalized medicine forbreast and prostate cancers:emerging diagnostic methods and prognostic biomarkers. S D Med 2010; 63:247–53.

75. Menghi F, Jacques TS, Barenco M, Schwalbe EC, Clifford SC, Hubank M, et al. Genome-wide analysis of alternative splicing in medulloblastoma identifies splicing patterns characteristic of normal cerebel- lar development. Cancer Res 2011; 71:2045–55.

76. Ayesh S, Matouk I ,Schneider T, Ohana P, Laster M, Al-Sharef W, et al. Possible physiological role of H19 RNA. Mol Carcinog 2002; 35:63–74.

77. Matouk IJ, DeGroot N, Mezan S, Ayesh S, Abu-lail R, Hochberg A, et al. The H19 non-coding RNA is essential for human tumor growth. PloS ONE 2007; 2:e845.

78. Luo M, Li Z, Wang W, Zeng Y, Liu Z, and Qiu J. Long non-coding RNA H19 increases bladder cancer metastasis by associating with EZH2 and inhibiting E-cadherin expression. Cancer Lett 2013; 333:213–21.

79. Dugimont T, Curgy JJ, Wernert N, Delobelle A, Raes MB, Joubel A, et al. The H19 gene is expressed within both epithelial and stromal components of human invasive adenocarcinomas. Biol Cell 1995; 85:117–24.

80. Adriaenssens E, Lottin S, Berteaux N, Hornez L, Fauquette W, Fafeur V, et al. Cross-talk between mesenchyme and epithelium increases H19 gene expression during scattering and morphogenesis of epithelial cells. Exp Cell Res 2002; 275:215–29.

81. Yang J, Mani SA, Donaher JL, Ramaswamy S, Itzykson RA, Come C, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. Cell 2004; 117:927–39.

82. Riaz M, Berns EM, Sieuwerts AM, Ruigrok-Ritstier K, deWeerd V, Groenewoud A, et al. Correlation of breast cancer susceptibility loci with patient characteristics, metastasis-free survival, and mRNA expression of the nearest genes. Breast Cancer Res Treat 2012; 133:843–51.

83. Geng YJ, Xie SL ,Li Q, Ma J, and Wang GY. Large intervening non-coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellularcar cinoma progression. J Int Med Res 2011; 39:2119–28.

84. Nakagawa T, Endo H, Yokoyama M, Abe J, Tamai K, Tanaka N, et al. Large noncoding RNA HOTAIR enhances aggressive biological behavior and is associated with short disease-free survival in human non-small cell lung cancer. Biochem Biophys Res Commun 2013; 436:319–24.

85. Niinuma T, Suzuki H, Nojima M, Nosho K, Yamamoto H, Takamaru H, et al. Upregulation of miR-196a and HOTAIR drive malignant character in gastrointestinal stromal tumors. Cancer Res 2012; 72:1126–36.

86. Liu XH, Sun M, Nie FQ, Ge YB, Zhang EB, Yin DD ,et al. Lnc RNA HOTAIR functions as a competing endogenous RNA to regulate HER2 expression by sponging miR-331-3p in gastric cancer. Mol Cancer 2014; 13:92.

87. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, Fushida S, Kimura H, Ohoyama S, et al. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. Cancer Res 1991; 51:1034–38.

88. 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; 29:742–49.

89. Ge X, ChenY, Liao X, Liu D, Li F, Ruan H, et al. Overexpression of long noncoding RNA PCAT-1 is a novel biomarker of poor prognosis in patients with colorectal cancer. Med Oncol 2013; 30:588.

90. Yang F, Huo XS, Yuan SX, Zhang L, Zhou WP, Wang F, et al. Repression of the long noncoding RNA-LET by histone deacetylase 3 contributes to hypoxia-mediated metastasis. Mol Cell 2013; 49:1083–96.

91. Ling H, Spizzo R, Atlasi Y, Nicoloso M, Shimizu M, Redis R, et al. CCAT2, a novel non-coding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer. Genome Res 2013; 23:1446–61.

92. Sun W, Wu Y, Yu X, Liu Y, Song H, Xia T, et al. Decreased expression of long noncoding RNA AC096655.1-002 in gastric cancer and its clinical significance. Tumour Biol 2013; 34:2697–01.

93. Khaitan D, Dinger ME, Mazar J, Crawford J, Smith MA, Mattick JS, et al. The melanoma-upregulated long noncoding RNA SPRY4-IT1 modulates apoptosis and invasion. Cancer Res 2011; 71:3852–62.

94. Yuan JH, Yang F, Wang F, Ma JZ, Guo YJ, Tao QF, et al. A long noncoding RNA activated by TGF-beta promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. Cancer Cell 2014; 25:666–81.

95. Cruickshanks HA, Vafadar-Isfahani N, Dunican DS, Lee A, Sproul D, Lund JN, et al. Expression of a large LINE-1-driven antisense RNA is linked to epigenetic silencing of the metastasis suppressor gene TFPI-2 in cancer. Nucleic Acids Res 2013; 41:6857–69.

96. Sartori DA, Chan DW. Biomarkers in prostate cancer: what's new? Curr Opin Oncol 2014; doi:10.1097/ CCO.0000000000000065.

97. Akers JC, Gonda D, Kim R, Carter BS, Chen CC. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. J Neurooncol 2013; 113:1–11.

98. Tang H, Wu Z, Zhang J, Su B. Salivary lncRNA as a potential marker for oral squamous cell carcinoma diagnosis. Mol Med Rep 2013; 7:761–66.

99. de la Taille A. Progensa PCA3 test for prostate cancer detection. Expert Rev Mol Diagn. 2007; 7:491–497.

100. Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. Ann Surg Oncol 2011; 18:1243–50.

101. Noori-Daloii MR, Alizadeh F. Prognostic molecular markers in hepatocarcinoma, a review article. Hormozgan Medical Journal 2011; 15:74-85. [In Persian]

102. Lai MC, Yang Z, Zhou L, Zhu QQ, Xie HY, Zhang F, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. Med Oncol 2012; 29:1810-16.

103. Shi D, Zheng H, Zhuo C, Peng J, Li D, Xu Y, et al. Low expression of novel lncRNA RP11-462C24.1 suggests a biomarker of poor prognosis in colorectal cancer. Med Oncol 2014;31:31

104. Petrovics G, Zhang W, Makarem M, Street JP, Connelly R, Sun L, et al. Elevated expression of PCGEM1, a prostate-specific gene with cell growth-promoting function, is associated with high-risk prostate cancer patients. Oncogene 2004; 23:605–11.

105. Chung S, Nakagawa H, Uemura M, Piao L, Ashikawa K, Hosono N, et al. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility. Cancer Sci 2011; 102:245–52.

106. Han Y, Liu Y, Nie L, Gui Y, Cai Z. Inducing cell proliferation inhibition, apoptosis, and motility reduction by silencing long noncoding ribonucleic acid metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in urothelial carcinoma of the bladder. Urology 2013; 81:209.

107. Qi P, Xu MD, Ni SJ, Shen XH, Wei P, Huang D, et al. Down-regulation of ncRAN, a long non-coding RNA, contributes to colorectal cancer cell migration and invasion and predicts poor overall survival for colorectal cancer patients. Mol Carcinog 2015;54:742-50.

108. Ono H, Motoi N, Nagano H, Miyauchi E, Ushijima M, Matsuura M, et al. Long noncoding RNA HOTAIR is relevant to cellular proliferation, invasiveness, and clinical relapse in small-cell lung cancer. Cancer Med 2014;3:632-42.

109. Vitiello M, Tuccoli A, Poliseno L. Long non-coding RNAs in cancer: implications for personalized therapy. Cell Oncol (Dordr) 2015;38:17-28.

110. Cabili MN, Trapnell C, Goff L, Koziol M, Tazon-Vega B, Regev A, et al. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. Genes Dev 2011; 25:1915–27.

111. Chan KC, Jiang P, Zheng YW, Liao GJ, Sun H, Wong J. Cancer genome scanning in plasma: detection of tumor-associated copy number aberrations, single-nucleotide variants, and tumoral heterogeneity by massively parallel sequencing. Clin Chem 2013; 59:211–24.

112. Consortium EP, Bernstein BE, Birney E, Dunham I, Green ED, Gunter C, et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. Nature 2012; 489:57-74.

113. Poliseno L. Pseudogenes: newly discovered players in human cancer. Sci Signal 2012; 5:e5.

114. Esnault C, Maestre J, Heidmann T. Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. Nat Genet 2000; 24:363–67.

115. Kalyana-Sundaram S, Kumar-Sinha C, Shankar S, Robinson DR, Wu YM, Cao X, et al. Expressed pseudogenes in the transcriptional landscape of human cancers. Cell 2012; 149:1622–34.

116. Hwang SL, Chang JH, Cheng CY, Howng SL, Sy WD, Lieu AS, et al. The expression of rac1 pseudogene in human tissues and in human brain tumors. Eur Surg Res 2005; 37:100–104.

117. Rieger MA, Ebner R, Bell DR, Kiessling A, Rohayem J, Schmitz M, et al. Identification of a novel mammary-restricted cytochrome P450, CYP4Z1, with overexpression in breast carcinoma. Cancer Res 2004; 64:2357– 64.

118. Wang J, Pitarque M, Ingelman-Sundberg M. 3′-UTR polymorphism in the human CYP2A6 gene affects mRNA stability and enzyme expression. Biochem Biophys Res Commun 2006; 340:491–97.

119. Puget N, Gad S, Perrin-Vidoz L, Sinilnikova OM, Stoppa-Lyonnet D, Lenoir GM, et al. Distinct BRCA1 rearrangements involving the BRCA1 pseudogene suggest the existence of a recombination hot spot. Am J Hum Genet 2002; 70:858–65.

120. Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C, Moustafa T, Stradner M, Strohmaier HM, et al. Characterization of HULC, a Novel Gene With Striking Up-Regulation in Hepatocellular Carcinoma, as Noncoding RNA. Gastroenterology 2007; 132:330–42.

121. Takahashi K, Mitsui K, Yamanaka S. Role of ERas in promoting tumour-like properties in mouse embryonic stem cells. Nature 2003; 423:541–45.

122. Zou M, Baitei EY, Alzahrani AS, Al-Mohanna F, Farid NR, Meyer B, et al. Oncogenic activation of MAP kinase by BRAF pseudogene in thyroid tumors. Neoplasia 2009; 11:57–65.

123. Strachan T, Read A, Eds. Human molecular genetics. 4th edition. New York: Garland Science; 2011.

124. Hayashi H, Arao T, Togashi Y, Kato H, Fujita Y, De Velasco MA, et al. The OCT4 pseudogene POU5F1B is amplified and promotes an aggressive phenotype in gastric cancer. Oncogene 2015; 34:199-208.

125. Wang L, Guo ZY, Zhang R, Xin B, Chen R, Zhao J, et al. Pseudogene OCT4-pg4 functions as a natural micro RNA sponge to regulate OCT4 expression by competing for miR-145 in hepatocellular carcinoma. Carcinogenesis 2013; 34:1773– 81.