

# CIRCARNAS: ESPONJAS MOLECULARES DE MICRORNAS, ¿FUTURO TERAPÉUTICO EN CÁNCER?

Ginés Luengo Gil<sup>1, 2</sup>, Ana Belén Arroyo Rodríguez<sup>1</sup>, Alberto Carmona-Bayonas<sup>2</sup> y Francisco Ayala de la Peña<sup>1, 2</sup>

1. Departamento de Medicina Interna, Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia.

2. Servicio de Hematología y Oncología Médica, Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia.

E-mail: gines.luengo@um.es

## Introducción

En las últimas décadas se han descrito numerosas familias de RNA no codificantes (ncRNA) incluyendo RNA circular (circRNA), RNA no codificante largo (lncRNA), microRNA (miRNA), RNA de interferencia pequeño (siRNA), RNA asociado a Piwi (piRNA), RNA nucleolar pequeño (snoRNA) etc. Los RNA circulares (circRNAs) son una misteriosa familia de RNAs no codificantes con funciones poco conocidas en animales que fueron descritos inicialmente en plantas como codificantes de agentes subvirales (Sanger, Klotz et al. 1976). Presentan los extremos covalentemente unidos y se encuentran en patógenos como los viroides (RNAs que infectan plantas), virus satélite circulares y el virus de la hepatitis delta (que infecta a humanos infectados por el virus de la hepatitis B y que se replica por el mecanismo del círculo rodante) (Wang, Choo et al. 1986; Wilusz y Sharp 2013). En el caso de los viroides, la circularidad de su genoma probablemente sea debida entre otros motivos su mayor estabilidad frente a los genomas lineales. Algunos circRNAs parecen autoprocesarse por corte y empalme del RNA prerribosómico, actuando como ribozimas. Esta forma de autocatálisis parece ser muy antigua, tanto que se piensa que podrían ser un vestigio del primitivo Mundo RNA (Gilbert 1986). En el caso del Dominio Archaea parecen proceder de genes codificantes de proteínas y a partir de RNA no codificante. Tal vez muchos de ellos sean productos de degradación, aunque el hecho de ser muy frecuentes y de que estén conservados evolutivamente hace pensar que puedan poseer algunas funciones importantes que se desconocen (Danan, Schwartz et al. 2012). Se han identificado miles de circRNAs en eucariotas, pero sus funciones veinte años después siguen sin estar bien establecidas, aunque se postula que podrían jugar un papel clave en la defensa contra virus y en la regulación de la expresión génica entre otros (Capel, Swain et al. 1993; Cocquerelle, Mascrez et al. 1993; Memczak, Jens et al. 2013), postulándose éstos como una de las nuevas fronteras del conocimiento científico.

El circRNA mejor conocido es el transcrito a partir del locus Sry (Región determinante de sexo Y), un gen carente de intrones que codifica un factor de transcripción de la familia de genes SOX cuyos productos de expresión son proteínas de unión a DNA. Aparece altamente expresado en testículos (Capel, Swain et al. 1993) de mamíferos terios exclusivamente durante

el desarrollo embrionario. Su origen parece proceder de una duplicación de genes del cromosoma X ligados al gen SOX3 alrededor de 159 millones de años atrás (Katoh y Miyata 1999).

Análisis bioinformáticos de expresión sugieren que los circRNAs son más abundantes de lo que se pensaba, lo que abre una nueva ventana a un mundo de complejidad, o a una red compleja de regulación profunda de la expresión genética con implicaciones desconocidas (Nigro, Cho et al. 1991; Chao, Chan et al. 1998; Burd, Jeck et al. 2010; Hansen, Wiklund et al. 2011; Salzman, Gawad et al. 2012).

Recientemente se ha descrito que en los genomas animales los circRNAs se expresan a partir de diversas regiones genómicas (exones, intrones, regiones intergénicas o de transcritos antisentido de 5' y 3' UTR) y de forma específica de tejido, tipo celular o estado de desarrollo. Los circRNA compuestos de secuencias exónicas han sido descritos en una pequeña porción de genes. En el caso de humanos, se han identificado más de 25.000 especies de RNA circular que contienen exones no colineales (un backsplice o empalme de nuevo). En algunos casos la abundancia de las moléculas circulares puede superar incluso en más de diez veces al mRNA lineal. Los análisis bioinformáticos apuntan a que los circRNA son abundantes, estables, conservados y que no se trata de productos producidos de forma aleatoria durante el proceso de corte y empalme por el espliceosoma (Jeck, Sorrentino et al. 2013). Además, existen evidencias de que ciRS-7 o CDR1as (un circRNA) puede actuar como un regulador post-transcripcional de miR-7 en tejido cerebral (Hansen, Jensen et al. 2013; Memczak, Jens et al. 2013). Si bien su utilidad no es totalmente conocida, los primeros datos indican que tienen una función biológica importante.

Por otro lado, los miRNAs son pequeñas moléculas de RNA no codificante que se expresan en el núcleo eucariótico tanto en regiones intra- como intergénicas y que se encargan de la represión de la expresión génica a través de uno o dos mecanismos de silenciamiento: (1) unión al mRNA mensajero y posterior represión traduccional en el complejo mRNA-ribosoma y/o (2) por unión al mRNA promoviendo su deadenilación y decaimiento (Bazzini, Lee et al. 2012; Djuranovic, Nahvi et al. 2012; Luengo-Gil 2012). El primer miRNA descrito fue lin-4 en *Caenorhabditis elegans* (Lee, Feinbaum et al. 1993). Se estima que en torno a

un tercio de los genes humanos podría estar regulado por miRNAs, y a su vez cada miRNA podría regular hasta doscientos genes (Wu, Sun et al. 2007). Estudios recientes parecen indicar que los miRNAs están implicados en la patología de todos los cánceres humanos (Negrini, Nicoloso et al. 2009). Actualmente se conocen en torno a 30.424 secuencias de miRNAs depositados en miRBase v20. Los niveles de expresión de miRNAs, dependiendo del tipo celular y del contexto están finamente regulados por mecanismos epigenéticos y transcripcionales. Las anomalías en la expresión normal de los miRNAs pueden provocar a su vez desajustes en los niveles de expresión de sus proteínas diana, y con ello el resultado dependería de los miRNAs afectados, pudiendo afectar a la tasa de proliferación o de migración, cambios en las rutas de señalización de supervivencia o de apoptosis, cambios en los niveles de las proteínas de reparación del DNA, etc. En la actualidad se considera muy plausible su participación en procesos de carcinogénesis, pero su efecto real no ha sido ponderado en la mayoría de los tumores. Sin embargo, es mucho más conocida la alteración de los niveles de expresión en los tumores ya formados, en los cuales en muchos casos definen algunas de sus características biológicas (invasión, proliferación, evasión de la respuesta inmune, ausencia de respuesta a señales apoptóticas, angiogénesis) que a su vez se ven reflejadas en las características clínicas (agresividad, respuesta al tratamiento, pronóstico, etc.) (Leskela, Leandro-Garcia et al. 2011; Luo, Dai et al. 2013; Mitani, Roberts et al. 2013; Ranji, Sadeghizadeh et al. 2013; Zhang, Liu et al. 2013).

Si bien apenas hay datos que asocien circRNAs y cáncer, se sabe que los circRNAs son capaces de regular negativamente los niveles de expresión de los miRNAs en tejido neuronal, actuando como esponjas o sumideros de miRNAs, y que son importantes en el desarrollo embrionario, con lo cual sería plausible que puedan tener implicaciones directas o indirectas en esta patología. De forma análoga a la revolución que supuso hace ya más de diez años la primera asociación entre microRNA y cáncer (McManus 2003), probablemente asistamos en la próxima década a la revolución de los circRNAs en el cáncer (Hansen, Kjems et al. 2013).

### **CircRNA: biogénesis y función**

Los circRNAs de animales se expresan a partir de diversas regiones genómicas (exones, intrones, regiones intergénicas, o de transcritos antisentido de 5' y 3' UTR). Su expresión se produce de forma específica de tejido, tipo celular y estado de desarrollo del organismo, lo que sugiere a su vez una regulación epigenética y transcripcional. En el caso de los circRNAs que contienen una o más secuencias exónicas (llamados también ecircRNAs) parecen ser la porción mayoritaria del total de circRNAs expresados en fibroblastos humanos, procediendo de más del 142013). Cuando la maquinaria de splicing retira intrones del

pre-mRNA, en algunos casos es capaz de unir covalentemente los extremos 5' y 3' formando RNA circular que puede contener tanto intrones como exones. En muchos casos estos circRNAs contienen en su interior uno o más sitios de unión de miRNAs, de manera que cuando son exportados al citosol, son capaces de unirse a los miRNAs, neutralizando sus efectos sobre los mRNAs diana (Figura 1). El mecanismo por el cual la maquinaria elige regiones concretas para su circularización es desconocido (Wilusz y Sharp 2013). Se sabía que los pseudogenes y los lncRNAs son capaces de secuestrar miRNAs, a lo que desde este año hay que sumar los dos primeros circRNAs. El primero de ellos, denominado ciRS-7 por Hansen y colaboradores y CDR1as por Memczak y colaboradores, se expresa en tejido neuronal, contiene aproximadamente 70 sitios de unión de miR-7 y posee la capacidad de secuestrar al complejo miR-7/Argonaua. Esta actividad ha sido denominada como "súper esponja" (ya que es capaz de unir hasta 74 moléculas de miR-7) y antagoniza con la actividad de miR-7. Interesantemente, miR-671 interacciona con CDR1as, pero a diferencia de miR-7, esta interacción activa la actividad endonucleasa del complejo miRISC y se produce el corte de CDR1as, liberando los complejos miR-7/Argonaua secuestrados. Además, en el grupo de Thomas B. Hansen y Jørgen Kjems demuestran que otro circRNA expresado a partir del gen Sry específico de testículo puede atrapar miR-138, lo cual hace presuponer que esta función podría no ser un caso aislado, sino más bien un mecanismo general de regulación. Los análisis del transcriptoma realizados por el grupo de Nikolaus Rajewsky muestran que miles de circRNAs están conservados desde genomas de nematodos como el de *Caenorhabditis elegans* hasta mamíferos como el de *Homo sapiens* (Hansen, Jensen et al. 2013; Memczak, Jens et al. 2013). Otro estudio reciente descubrió nuevas especies de RNA circular llamados ANRIL circulares o cANRIL cuya expresión se asocia a la expresión del locus *INK4a/ARF* que se correlaciona con riesgo de aterosclerosis (Burd, Jeck et al. 2010). En el caso del pez cebra, la neutralización de miR-7 o la expresión de CDR1as causa defectos en el cerebro medio durante el desarrollo embrionario que pueden ser corregidos mediante la transfección con el precursor de miR-7. En contraste, en el hipo-campo de ratones adultos por hibridación in situ se ha demostrado la presencia de áreas que marcan para CDR1as pero no para miR-7. Otras funciones adicionales de los circRNAs podrían ser el silenciamiento génico de mRNAs. CDR1as puede como RNA de cadena sencilla por ejemplo unirse en trans a regiones 3'UTR a mRNAs diana para regular su expresión. Podría ser que miR-7 se uniese a CDR1as para silenciar esa actividad, lo cual complica extremadamente el esquema de regulación de circRNA, miRNA y mRNA. Alternativamente CDR1as podría participar en el ensamblaje de complejos de RNA-proteína, de forma similar a otros ncRNAs.

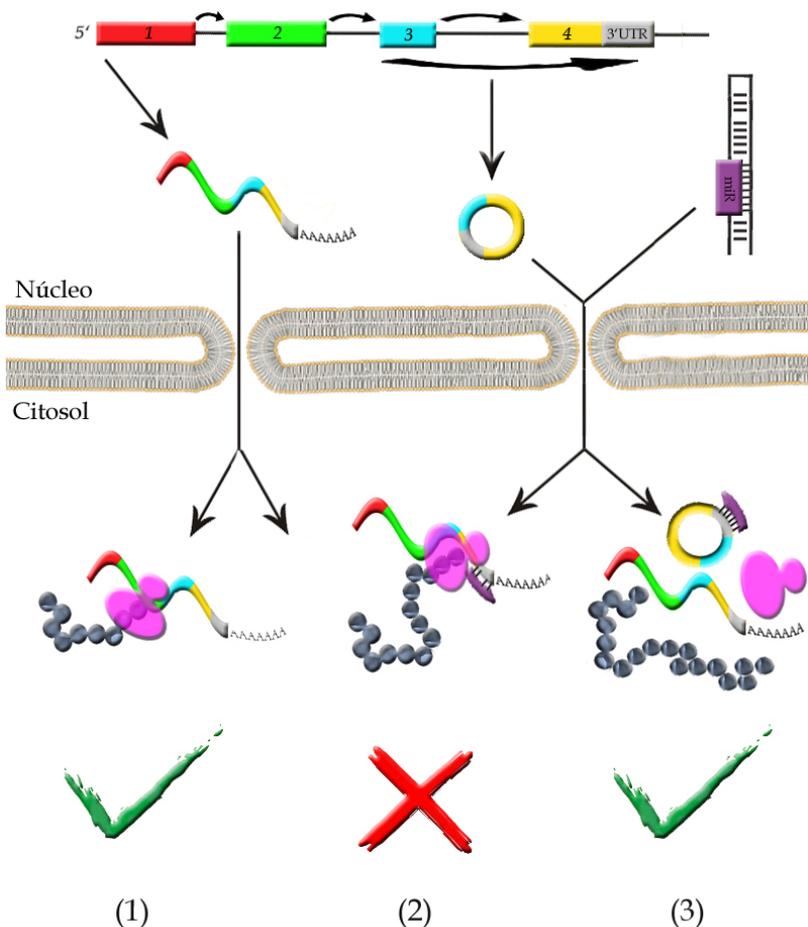


Figura 1. Los circRNAs pueden unir microRNAs e impedir que se unan a sus mRNAs dianas, bloqueando su efecto silenciador. (1) Ruta clásica simplificada de maduración de un mRNA y traducción de la proteína que codifica. (2) Modelo del bloqueo de la traducción por microRNA. (3) Modelo de unión y secuestro de un miRNA diana por un circRNA. La unión entre ambos RNAs impide la acción silenciadora del miRNA sobre el mRNA diana y en consecuencia la síntesis de la proteína se hace efectiva. El RNA circular es resistente al mecanismo de degradación mediado por su miRNA diana, aunque hay evidencias de que otros miRNAs pueden actuar sobre un circRNA, cortándolo y liberando al miRNA secuestrado (Mao 2013). Las bases moleculares de este proceso son aún desconocidas.

### MicroRNA: biogénesis y función

Los microRNA al igual que los circRNA se expresan en diversas regiones genómicas y poseen especificidad de tejido, tipo celular y estadio de desarrollo del organismo. Suelen sintetizarse a partir de largos fragmentos policistrónicos (agrupaciones en clústeres) por la RNA polimerasa II (Pol II), denominándose entonces primiRNAs (Lee, Kim et al. 2004). Posteriormente son cortados por la enzima nuclear Drosha en fragmentos menores llamados premiRNAs en forma de horquilla y que contienen uno o dos miRNAs en su interior. Estos premiRNAs son exportados vía Exportina 5/Ran GTP al citosol, donde son cortados por la ribonucleasa citosólica Dicer, dando miRNA maduros. Los miRNAs madurados a partir del mismo premiRNA se denominan en la nomenclatura moderna con el sufijo -5p o -3p en función de la cercanía a

los extremos 5' o 3' del premiRNA, y con el prefijo de especie específico (por ejemplo en humano hsa-miR-20a-5p y en ratón: mmu-miR-20a-5p). Las dianas de cada miRNA complementario pueden diferir considerablemente. Los miRNA una vez procesados por la acción de Dicer se incluyen en el complejo RISC (del inglés, RNA-induced silencing complex), formándose un complejo ribonucleoproteico denominado miRISC, que se encarga de dirigirse hacia los mRNA dianas (determinados por el miRNA) y silenciarlos de dos formas diferentes: (1) unión al mRNA mensajero y posterior represión traduccional en el complejo mRNA-ribosoma y/o (2) por unión al mRNA promoviendo su deadenilación represión y decaimiento. En ambos casos se consigue la reducción en el número efectivo de las proteínas diana. En qué medida contribuye cada mecanismo al silenciamiento a día de hoy aún no ha sido esclarecido, aunque las últimas publi-

caciones apuntan (en *Drosophila melanogaster*) hacia que los efectos del silenciamiento se manifiestan en una etapa temprana con el bloqueo de la traducción y que posteriormente éste es consolidado por la deadenilación y decaimiento del mRNA (Wu, Sun et al. 2007; Bazzini, Lee et al. 2012; Djuranovic, Nahvi et al. 2012).

## Papel de los microRNAs en el cáncer

Nuestros conocimientos científicos sobre el papel que juegan los microRNAs en el cáncer se han incrementado exponencialmente en la última década. Muchos miRNAs aparecen desregulados en las células precancerosas y cancerosas, lo cual sugiere que estas moléculas están implicadas tanto en el inicio como en la progresión tumoral (Munker y Calin 2013). A su vez, se ha demostrado en múltiples ocasiones que sus niveles plasmáticos podrían tener un alto valor en el diagnóstico clínico de muchos tipos de tumores (Hirajima, Komatsu et al. 2013; Kawaguchi, Komatsu et al. 2013; Suryawanshi, Vlad et al. 2013; Wang, Xiang et al. 2013; Zhang, Zhou et al. 2013) e incluso que estos microRNA circulantes podrían contribuir a la terapia antitumoral (Chen, Wang et al. 2013). Los miRNAs dependiendo de sus dianas pueden actuar como supresores de tumores o como oncogenes. Existen muchas dianas confirmadas por diversos estudios, algunos de los cuales pueden verse en la Tabla 1 (Garzon, Calin et al. 2009).

Uno de los clústeres de microRNAs mejor caracterizados es el miR-17-92, una agrupación de miRNAs localizados en el cromosoma 13q31.3 que se expresan inicialmente como un fragmento policistrónico conteniendo seis microRNAs y que es clasificable en tres familias: (1) miR-17, miR-18a y miR-20a, (2) miR-19a y miR-19b y (3) miR-92a. Existe otro clúster parálogo, llamado miR-106a-363 que también contiene seis microRNAs (miR-106a, -18b, -20b-19b-2 y -92a-2). Las funciones del clúster miR-17-92 se han revelado como pleiotrópicas, probablemente debido a sus distintas dianas y a su distinto procesamiento postranscripcional que lleva a diferentes niveles de expresión de sus miembros (Olive, Li et al. 2013). Aparece sobreexpresado en diversos tipos de cáncer tales como mama (Dvinge, Git et al. 2013), linfomas o pulmón (Garzon, Calin et al. 2009; Li y Spaner 2012). El papel que juegan sus miembros de forma individual en cada tipo de tumor está siendo analizado por numerosos grupos de investigación, algunos ejemplos de ello son: (1) En cáncer de páncreas la sobreexpresión de miR-17-5p se asocia con peor pronóstico, proliferación e invasión (Gu, Guo et al. 2013). (2) En colorrectal, la sobreexpresión de miR-92a se asocia con la dis-

minución de PTEN, induciendo EMT, proliferación, migración e invasión in vitro e in vivo (Zhang, Zhou et al. 2013). (3) En cáncer gástrico miR-20a promueve progresión tumoral en parte regulando a EGR2 (Li, Zhang et al. 2013). En la Tabla 1 se listan algunos ejemplos de miRNAs con funciones oncogénicas o supresoras de tumores, así como algunas de sus dianas y diversos datos experimentales.

Otro ejemplo de clúster con funciones pleiotrópicas es la familia de miR-200 (miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 and miR-429). La sobreexpresión de los componentes de esta familia sola es suficiente para prevenir la transición epitelio mesénquima (EMT) inducida por TGF- $\beta$ . Estos microRNAs de forma cooperativa regulan la expresión de los represores transcripcionales de la E-cadherina (ZEB1 y ZEB2), que tienen implicaciones en metástasis. La inhibición de los miRNAs es suficiente para inducir EMT (el silenciamiento permite el aumento de expresión de ZEB1/ZEB2). Por otro lado, la expresión ectópica de estos miRNAs en células mesenquimales inicia transición mesénquima a epitelio (MET). En cáncer de mama invasivo con fenotipo mesenquimal no se detecta expresión de estos miRNAs. Su expresión tampoco se detecta en zonas con cáncer de mama metaplásico que carece de E-cadherina (Gregory, Bert et al. 2008). En cáncer de ovario, las pacientes con tumores que presentan alta expresión de miR-200 presentan bajos niveles de expresión de beta tubulina de clase III. En el caso de miR-200c, niveles de expresión bajos se asocian con ausencia de respuesta completa (Leskela, Leandro-Garcia et al. 2011).

Además de los ejemplos anteriores en los cuales las funciones de los miRNAs son fundamentalmente protumorales, existen muchos miRNAs con funciones eminentemente antitumorales. Un ejemplo de ello es la familia de let-7, repartidos en varios clústeres que se sitúan en los cromosomas 3, 9, 11 y 21 (Calin, Sevignani et al. 2004). En cáncer de colon y pulmón, la sobreexpresión de let-7 in vitro inhibe proliferación (Takamizawa, Konishi et al. 2004; Akao, Nakagawa et al. 2006). Se sabe que una de las dianas de let-7 son los oncogenes RAS y HMGA2 en pulmón (Johnson, Esquela-Kerscher et al. 2007; Lee y Dutta 2007). En células PCCL3 de cáncer papilar tiroideo de rata la activación oncogénica de RET/PTC3 reduce la expresión de let-7f. Así mismo, la transfección estable con let-7 en células TPC-1 inhibe la activación de MAPK, disminuyendo la proliferación probablemente a través del silenciamiento de MYC y CCND1 (Ricarte-Filho, Fuziwara et al. 2009).

TABLA 1

miRNA	Expresión en cáncer	Dianas	Datos experimentales	Comportamiento en cáncer	Referencias
Clúster 17-92	Sobreexpresión en linfomas, cáncer de mama, pulmón, estómago, colon, páncreas	E2F1, PTEN, BIM, F3, KIT, ETV1, HIPK1, PIAS3, FLK-1, EGR2	Induce junto a c-myc linfoma en ratones, transgénicos con miR-17-92 desarrollan trastornos linfoproliferativos, regulación negativa de la angiogénesis	Oncogenes	(He, Thomson et al. 2005; Iorio, Ferracin et al. 2005; Johnson, Grosshans et al. 2005; Lee y Dutta 2007; Mendell 2008; Dvinge, Git et al. 2013; Li, Zhang et al. 2013; Li, Zhang et al. 2013; Wu, Takanashi et al. 2013)
Clúster miR-200	Sobreexpresado en cáncer de colon, ovario, infraexpresado en algunos tipos de cáncer de mama (fenotipo mesenquimal, metaplásico).	IL8, CXCL1, ZEB1, ZEB2, SLUG, VEGFA, FLT1, KDR, VEGFR1, VEGFR2, TUBB3	Implicado en transición epitelio mesénquima, regulación de la angiogénesis	Dependiente del tipo de tumor, datos a veces contradictorios.	(Sampson, Rong et al. 2007; Leskela, Leandro-García et al. 2011; Osada y Takahashi 2011; Teruel, Perez-Sanchez et al. 2011; Pecot, Rupaimoole et al. 2013)
let-7-a -b -b y -d	Infraexpresado en cáncer de mama y de pulmón	C-MYC, RAS, HMGA2	Inductor de apoptosis	Supresores de tumores	(Volinia, Calin et al. 2006; Voorhoeve, le Sage et al. 2007; Garzon, Calin et al. 2009; Yamashita, Yamamoto et al. 2012; Toiyama, Hur et al. 2013; Wu, Yang et al. 2013; Xu, Xu et al. 2013)
miR-21	Sobreexpresado en cáncer de mama, colon, estómago, próstata, hígado, páncreas, glioblastoma	PDCD4, PTEN, TPM1	Inductor apoptótico,	Oncogén	(Calin, Ferracin et al. 2005; Ciafre, Galardi et al. 2005; Volinia, Calin et al. 2006; Meng, Henson et al. 2007; Frankel, Christoffersen et al. 2008)
miR-372 y 373	Sobreexpresado en tumores testiculares, de colon, gliomas y hepatocarcinomas	LATS2, TNFAIP1	Promotor de tumorigénesis en cooperación con RAS	Oncogén	(Yanaihara, Caplen et al. 2006; Zhu, Si et al. 2007; Yu, Ohuchida et al. 2010; Yin, Wang et al. 2013; Zhang, Xu et al. 2013; Zhou, Li et al. 2013)
miR-155	Sobreexpresado en leucemias y linfomas	C-MAF	Inductor de linfoproliferación	Oncogén	(Metzler, Wilda et al. 2004; Iorio, Ferracin et al. 2005; Kluiver, Poppema et al. 2005; Volinia, Calin et al. 2006; Yanaihara, Caplen et al. 2006; Thai, Calado et al. 2007; Costinean, Sandhu et al. 2009; Johansson, Berg et al. 2013)
miR-34a -b y -c	Infraexpresado en cáncer de mama, colon, hepático y páncreas	CDK4, CDK6, CCNE2, E2F3, BCL2	Inductores apoptóticos	Supresores de tumores	(Chang, Wentzel et al. 2007; He, He et al. 2007; Raver-Shapira, Marciano et al. 2007; Yang, Li et al. 2013)
miR-29a, -b y -c	Infraexpresado en cáncer de mama, pulmón, colangiocarcinomas y leucemias	TCL1, MCL1, DNMT3s, PIK3R1, CDC42	Inductores apoptóticos, disminuyen tumorigénesis	Supresores de tumores	(Calin, Ferracin et al. 2005; Iorio, Ferracin et al. 2005; Yanaihara, Caplen et al. 2006; Mott, Kobayashi et al. 2007; Park, Lee et al. 2008; Tan, Wu et al. 2013)
miR-15a, miR-16	Infraexpresado en leucemia linfocítica crónica, cáncer de vejiga, ovario	BCL-2, WT1, CCND1, BMI1	Inductor apoptótico, disminuye tumorigénesis, su silenciamiento promueve proliferación en células de cáncer de vejiga	Supresor de tumores	(Calin, Dumitru et al. 2002; Cimmino, Calin et al. 2005; Linsley, Schelter et al. 2007; Calin, Cimmino et al. 2008; Bhattacharya, Nicoloso et al. 2009; Jiang, Liu et al. 2013)

**Papel de los circRNAs en el cáncer**

El papel que podrían jugar los circRNAs en el cáncer es a día de hoy desconocido. Si se realiza una búsqueda exhaustiva en los principales motores de búsqueda, la falta de información sobre los circRNAs contrasta con las más de 200.000 publicaciones que se pueden encontrar sobre miRNAs. Si bien los RNA circulares se conocen desde hace décadas, su vinculación con los microRNAs es (salvando las recientes publicaciones) prácticamente desconocida (Hansen, Kjems et al. 2013). Aun así, en los circRNA cuya función sea la regulación de miRNAs y puesto que éstos últimos están implicados en el cáncer, algunas funciones que se podría esperar que desempeñasen en el cáncer serían varias: (1) CircRNAs que actuaran como represores de miRNAs que controlan la expresión de oncogenes. En este primer caso se podría utilizar el término oncocircRNA, ya que favorecería la expresión de oncogenes que a su vez favorecerían la progresión tumoral y en definitiva, esta molécula actuaría a su vez como un oncogén. (2) CircRNAs que actuaran como represores de miRNAs que controlan la expresión de genes supresores de tumores. En este caso, el circRNA perjudicaría la progresión tumoral y podríamos hablar de circRNAs supresores de tumo-

res. (3) Probablemente existan circRNAs que posean sitios de unión para varios miRNAs a la vez, en cuyo caso podrían tener propiedades pleiotrópicas. (4) Podríamos encontrar muchos circRNAs que afectasen a miRNAs beneficiosos o perjudiciales para ciertos tumores que no afectasen en absoluto a otros, ya que los niveles de expresión de microRNAs varían mucho de unos tumores a otros, e incluso de unos subtipos moleculares a otros. Muchos circRNAs probablemente regularían microRNAs que no serían relevantes en progresión tumoral, resistencia, etc. También encontraríamos miRNAs cuya función sería la neutralización de circRNAs, con lo cual el resultado en el contexto del cáncer dependería de si el circRNA que es neutralizado por el miRNA actuase como oncocircRNA o como circRNA supresor de tumores (Figura 2). El primer artículo en el que se demostró in vitro la utilización de RNA circular como esponja de miRNAs fue publicado poco antes del cierre de este artículo. Los autores construyendo un vector de expresión adecuado bajo el control del promotor del CMV consiguieron expresar un RNA circular con los sitios de unión para miR-21 y miR-221 y demostraron que éste mostraba acción antitumoral in vitro en células de melanoma (Liu, Cui et al. 2013).

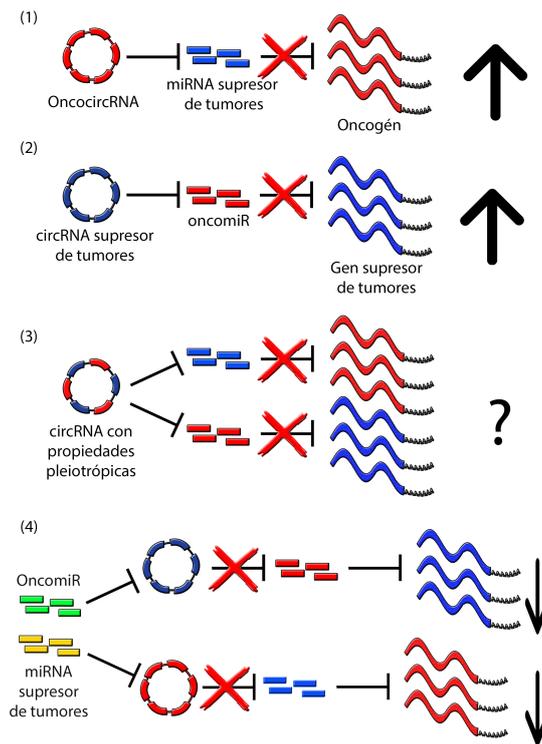


Figura 2. Modelos hipotéticos de regulación de circRNA/miRNA en cáncer. (1) Un circRNA secuestra y bloquea a un miRNA que actúa como supresor de tumores reprimiendo la expresión de genes esenciales para el tumor (en este caso podríamos hablar de un oncocircRNA). (2) Un circRNA secuestra y bloquea a un oncomiR que a su vez actúa reprimiendo la expresión de genes cuyos productos perjudican al tumor (en este caso hablaríamos de un circRNA supresor de tumores). (3) En el caso de existir circRNAs con sitios de unión para distintos miRNAs, probablemente tendrían propiedades pleiotrópicas, con lo cual el papel que podrían jugar en el en cáncer dependería del contexto. (4) Existen mRNAs que son capaces de degradar a circRNAs (probablemente el mecanismo sea altamente específico) con lo cual podrían actuar al igual que ocurre con los circRNAs como oncomiR o como miRNA supresor de tumores por un mecanismo indirecto.

**MicroRNAs como agentes terapéuticos**

El desarrollo básico que precede a los ensayos clínicos con microRNAs está avanzando vertiginosamente. Sin embargo, a día de hoy solo hay dos terapias basadas en miRNA probándose en humanos. El primer miRNA que entró en un ensayo clínico en cáncer es un mimic (RNA de doble cadena químicamente modificado que mimetiza la acción de un microRNA endógeno) del miR-34 humano, para su uso en cáncer de hígado primario no operable o metastásico. Patentado por la compañía biofarmacéutica Mirna Therapeutics, Inc. bajo el nombre de MRX34, está incluido dentro de liposomas que facilitan la introducción del mismo dentro de las células afectadas. Mir-34 es un miRNA supresor de tumores que aparece silenciado o infraexpresado en muchos tumores sólidos y hematológicos. Actúa a nivel de la ruta de p53 inhibiendo el crecimiento celular por represión de los oncogenes MYC, MET, BCL-2, SIRT1, BIRC5 y WNT entre otros, promoviendo la detención del ciclo celular, senescencia y apoptosis. Además sensibiliza las células tumorales disminuyendo su quimiorresistencia a los agentes antitumorales (He, He et al. 2007; Kim, Kim et al. 2011; Ahn, Gibbons et al. 2012). La estrategia que se persigue con MRX34 es la de aumentar los niveles de expresión de miR-34 en las células tumorales hasta los niveles que presenta el te-

jido sano, tratando de conseguir sensibilizar al tumor frente a los agentes quimioterápicos normales y silenciar sus oncogenes diana. En los ensayos clínicos con ratones con hepatocarcinoma los resultados fueron prometedores, y queda pendiente conocer su efectividad en humanos. Actualmente se encuentra en fase I. La misma compañía tiene al menos siete candidatos más que se encuentran en fases previas de desarrollo.

Otro campo donde se está estudiando el poder terapéutico de los microRNAs es en el de la virología. El primer silenciador de un microRNA que entró en un ensayo clínico con humanos fue un inhibidor de miR-122 (Miravisen o SPC3649, Santaris Pharma). Se trata de un oligonucleótido modificado diseñado para silenciar la expresión de miR-122, que a su vez es esencial para la capacidad infectiva del virus de la hepatitis C (HCV), aunque el mecanismo exacto de este proceso no es bien conocido. Se ha sugerido que miR-122 interacciona con dos sitios semilla en la región 5' no codificante del HCV, induciendo la expresión de transcritos virales, una función distinta a la función clásica de los miRNA (Jopling, Yi et al. 2005; Jopling, Norman et al. 2006). El estudio se encuentra actualmente en fase II en pacientes infectados con HCV crónico que no responden al tratamiento con interferón pegilado alfa/ribavirina (Figura 3).

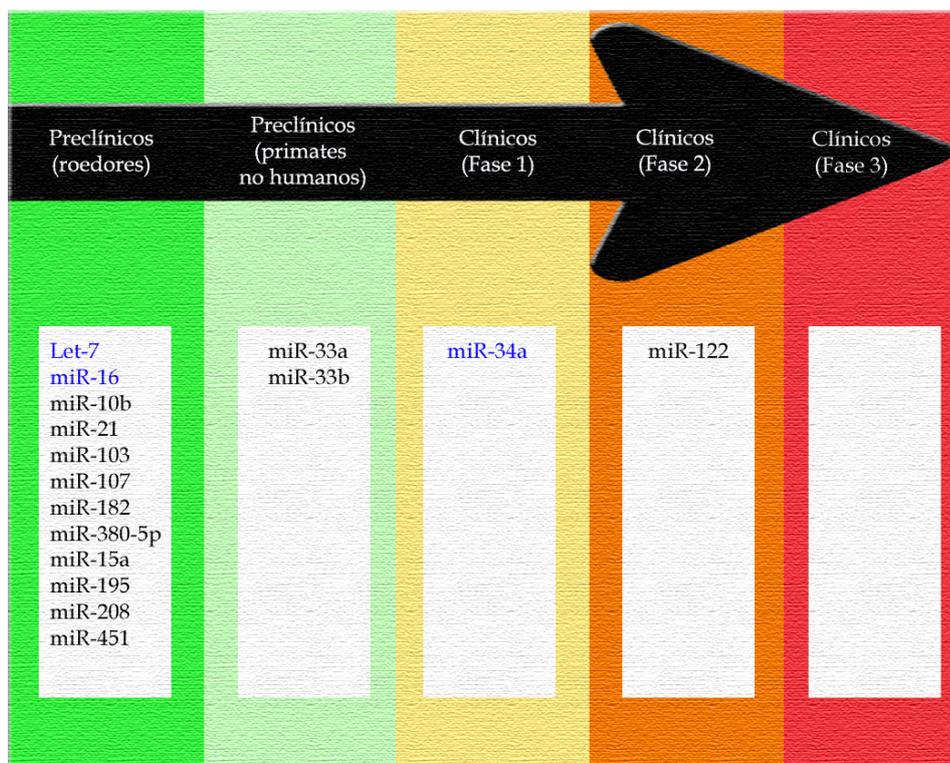


Figura 3. MicroRNAs en estudios preclínicos avanzados y en ensayos clínicos. En azul se muestran miRNA mimics. En negro se muestran inhibidores o antimirs.

## ¿CircRNAs como agentes terapéuticos?

Apenas se conocen las implicaciones que los circRNAs podrían tener en cáncer, por tanto, casi todo lo que se pueda conjeturar sobre su potencial uso terapéutico es meramente especulativo, pero aun así, dado el reciente descubrimiento de su papel como esponjas de microRNA y su recientemente demostrado papel antitumoral in vitro en el caso de miR-21 y miR-221 en melanoma (Liu, Cui et al. 2013), se puede inferir de sus funciones reguladoras de microRNAs algunas aplicaciones futuras en clínica. Dado su efecto represor sobre los miRNAs, una posible aplicación sería la de utilizarlos como silenciadores de oncomiRs en cáncer. Un oncomiR es un microRNA o conjunto de ellos que actúan como un oncogén, es decir, que poseen la capacidad de alterar las células normales, transformándolas en tumorales. Un ejemplo de oncomiR es el clúster miR-17-92, que posee funciones pleiotrópicas (Olive, Li et al. 2013). Algunos integrantes de este clúster tales como el miR-18a poseen funciones oncogénicas, promoviendo progresión tumoral (Luo, Dai et al. 2013; Wu, Takanashi et al. 2013). En este contexto, una posible acción terapéutica basada en circRNAs sería introducir en las células tumorales vía liposomal un circRNA que incluyese numerosos sitios de unión para miR-18a. Esta aproximación conllevaría varios pasos a seguir: (1) descubrir un circRNA con sitios de unión para miR-18a, (2) demostrar su efecto funcional in vitro, (3) probar su eficacia in vivo en animales y (4) demostrar que su efecto es beneficioso en humanos y con pocos efectos adversos. En caso de no encontrarse, una alternativa que podría ser atractiva sería la de diseñar circRNAs artificiales que contuviesen la secuencia de unión repetida un número alto de veces. La ventaja que podría poseer la utilización de circRNAs frente a otros silenciadores convencionales (inhibidores y antimiRs) es que los circRNAs son mucho más resistentes a la acción de las RNAsas celulares que el RNA lineal, por lo que probablemente se podrían aplicar dosis menores que las de silenciadores (menor dosis pero mayor efecto por poseer múltiples sitios de unión) y además su efecto sería mucho más prolongado en el tiempo (Figura 4). Las desventajas que podría presentar el uso de circRNAs también son desconocidas, aunque podrían incluir efectos adversos indeseados inherentes al bloqueo de las funciones del miRNA diana sobre otros marcadores no caracterizados o a funciones aun desconocidas.

En definitiva, los RNA circulares son junto a otros ncRNAs recientemente descritos una nueva y apasionante frontera que cruzar, con muchos conocimientos ocultos que ofrecernos en el campo de la biología molecular, que probablemente tendrán en un futuro aplicaciones importantes en la lucha contra el cáncer.

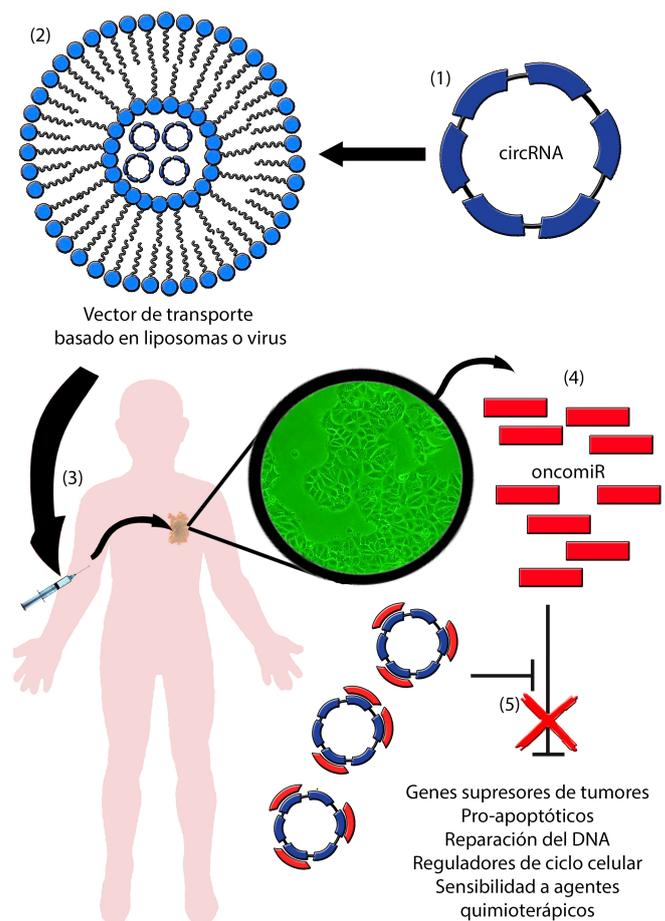


Figura 4. Posible estrategia anticancerígena basada en circRNAs. (1) Un circRNA específico para silenciar un oncomiR y con múltiples sitios de unión es introducido en un vector adecuado (2) que permita su transporte a través del sistema circulatorio (3) hasta la célula tumoral que sobre-expresa un oncomiR que le confiere mayor resistencia y agresividad (4). Se puede conseguir mayor especificidad del vector incluyendo proteínas (por ejemplo anticuerpos) en su superficie que reconozcan proteínas de superficie en la célula tumoral. (5) El circRNA liberado en la célula diana secuestra al oncomiR interrumpiendo su efecto de silenciamiento sobre marcadores cuya expresión sensibiliza, daña o destruye al tumor (por ejemplo genes supresores de tumores, de sensibilidad a agentes quimioterápicos, de control de ciclo celular, apoptóticos, etc.).

## Bibliografía

- Ahn, Y. H., D. L. Gibbons, et al. (2012). "ZEB1 drives prometastatic actin cytoskeletal remodeling by downregulating miR-34a expression." *J Clin Invest* 122(9): 3170-3183.
- Akao, Y., Y. Nakagawa, et al. (2006). "let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells." *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29(5): 903-906.
- Bazzini, A. A., M. T. Lee, et al. (2012). Ribosome profiling shows that miR-430 reduces translation before causing mRNA decay in zebrafish." *Science* 336(6078): 233-237.
- Bhattacharya, R., M. Nicoloso, et al. (2009). "MiR-15a and MiR-16 control Bmi-1 expression

- in ovarian cancer. *Cancer research* 69(23): 9090-9095.
- Burd, C. E., W. R. Jeck, et al. (2010). Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk. *PLoS Genet* 6(12): e1001233.
  - Calin, G. A., A. Cimmino, et al. (2008). "MiR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(13): 5166-5171.
  - Calin, G. A., C. D. Dumitru, et al. (2002). "Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(24): 15524-15529.
  - Calin, G. A., M. Ferracin, et al. (2005). A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *New England Journal of Medicine* 353(17): 1793-1801.
  - Calin, G. A., C. Sevignani, et al. (2004). "Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(9): 2999-3004.
  - Capel, B., A. Swain, et al. (1993). Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult mouse testis. *Cell* 73(5): 1019-1030.
  - Ciafre, S., S. Galardi, et al. (2005). Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun* 334(4): 1351-1358.
  - Cimmino, A., G. A. Calin, et al. (2005). "miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(39): 13944-13949.
  - Cocquerelle, C., B. Mascrez, et al. (1993). "Misplicing yields circular RNA molecules." *FASEB J* 7(1): 155-160.
  - Costinean, S., S. K. Sandhu, et al. (2009). "Src homology 2 domain-containing inositol-5-phosphatase and CCAAT enhancer-binding protein  $\beta$  are targeted by miR-155 in B cells of E $\mu$ -MiR-155 transgenic mice." *Blood* 114(7): 1374-1382.
  - Chang, T.-C., E. A. Wentzel, et al. (2007). "Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis." *Mol Cell* 26(5): 745-752.
  - Chao, C. W., D. C. Chan, et al. (1998). "The mouse formin (Fmn) gene: abundant circular RNA transcripts and gene-targeted deletion analysis." *Mol Med* 4(9): 614-628.
  - Chen, G., J. Wang, et al. (2013). Could circulating miRNAs contribute to cancer therapy? *Trends in Molecular Medicine* 19(2): 71-73.
  - Danan, M., S. Schwartz, et al. (2012). "Transcriptome-wide discovery of circular RNAs in Archaea." *Nucleic Acids Res* 40(7): 3131-3142.
  - Djuranovic, S., A. Nahvi, et al. (2012). "miRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay." *Science* 336(6078): 237-240.
  - Dvinge, H., A. Git, et al. (2013). "The shaping and functional consequences of the microRNA landscape in breast cancer." *Nature* 497(7449): 378-382.
  - Frankel, L. B., N. R. Christoffersen, et al. (2008). "Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells." *Journal of Biological Chemistry* 283(2): 1026-1033.
  - Garzon, R., G. A. Calin, et al. (2009). "MicroRNAs in Cancer." *Annu Rev Med* 60: 167-179.
  - Gilbert, W. (1986). Origin of life: The RNA world. *Nature* 319(6055): 618-618.
  - Gregory, P. A., A. G. Bert, et al. (2008). "The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1." *Nat Cell Biol* 10(5): 593-601.
  - Gu, H., X. Guo, et al. (2013). Upregulation of microRNA-372 associates with tumor progression and prognosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Biochem* 375(1-2): 23-30.
  - Hansen, T. B., T. I. Jensen, et al. (2013). "Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges." *Nature* 495(7441): 384-388.
  - Hansen, T. B., J. Kjems, et al. (2013). Circular RNA and miR-7 in Cancer. *Cancer research* 73(18): 5609-5612.
  - Hansen, T. B., E. D. Wiklund, et al. (2011). "miRNA-dependent gene silencing involving Ago2-mediated cleavage of a circular antisense RNA." *EMBO J* 30(21): 4414-4422.
  - He, L., X. He, et al. (2007). A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature* 447(7148): 1130-1134.
  - He, L., X. He, et al. (2007). A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature* 447(7148): 1130-1134.
  - He, L., J. M. Thomson, et al. (2005). A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 435(7043): 828-833.

- Hirajima, S., S. Komatsu, et al. (2013). Clinical impact of circulating miR-18a in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma."Br J Cancer 108(9): 1822-1829.
- Iorio, M. V., M. Ferracin, et al. (2005). "MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer."Cancer research 65(16): 7065-7070.
- Iorio, M. V., M. Ferracin, et al. (2005). "MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer."Cancer Res 65(16): 7065-7070.
- Jeck, W. R., J. A. Sorrentino, et al. (2013). Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats.RNA 19(2): 141-157.
- Jiang, Q.-Q., B. Liu, et al. (2013). "MicroRNA-16 Inhibits Bladder Cancer Proliferation by Targeting Cyclin D1."Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 14(7): 4127-4130.
- Johansson, J., T. Berg, et al. (2013). "MiR-155-mediated loss of C/EBP $\beta$  shifts the TGF- $\beta$  response from growth inhibition to epithelial-mesenchymal transition, invasion and metastasis in breast cancer."Oncogene.
- Johnson, C. D., A. Esquela-Kerscher, et al. (2007). "The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells."Cancer research 67(16): 7713-7722.
- Johnson, S. M., H. Grosshans, et al. (2005). RAS is regulated by the let-7 microRNA family.Cell 120(5): 635-647.
- Jopling, C. L., K. L. Norman, et al. (2006). "Positive and negative modulation of viral and cellular mRNAs by liver-specific microRNA miR-122."Cold Spring Harb Symp Quant Biol 71: 369-376.
- Jopling, C. L., M. Yi, et al. (2005). "Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA."Science 309(5740): 1577-1581.
- Katoh, K. y T. Miyata (1999). A heuristic approach of maximum likelihood method for inferring phylogenetic tree and an application to the mammalian SOX-3 origin of the testis-determining gene SRY."FEBS Lett 463(1-2): 129-132.
- Kawaguchi, T., S. Komatsu, et al. (2013). Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer."Br J Cancer 108(2): 361-369.
- Kim, N. H., H. S. Kim, et al. (2011). "p53 and microRNA-34 are suppressors of canonical Wnt signaling."Sci Signal 4(197): ra71.
- Kluiver, J., S. Poppema, et al. (2005). "BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas."The Journal of pathology 207(2): 243-249.
- Lee, R. C., R. L. Feinbaum, et al. (1993). "The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14."Cell 75(5): 843-854.
- Lee, Y., M. Kim, et al. (2004). "MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II."EMBO J 23(20): 4051-4060.
- Lee, Y. S. y A. Dutta (2007). "The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene."Genes Dev 21(9): 1025-1030.
- Leskela, S., L. J. Leandro-Garcia, et al. (2011). "The miR-200 family controls beta-tubulin III expression and is associated with paclitaxel-based treatment response and progression-free survival in ovarian cancer patients."Endocr Relat Cancer 18(1): 85-95.
- Li, G., Z. Zhang, et al. (2013). Correlation of microRNA-372 upregulation with poor prognosis in human glioma."Diagn Pathol 8: 1.
- Li, X., Z. Zhang, et al. (2013). Involvement of miR-20a in Promoting Gastric Cancer Progression by Targeting Early Growth Response 2 (EGR2).Int J Mol Sci 14(8): 16226-16239.
- Li, Y. y D. E. Spaner (2012). "Micromanaging a large tumor suppressor."Cell Cycle 11(24): 4497-4497.
- Linsley, P. S., J. Schelter, et al. (2007). "Transcripts targeted by the microRNA-16 family cooperatively regulate cell cycle progression."Mol Cell Biol 27(6): 2240-2252.
- Liu, Y., H. Cui, et al. (2013). Construction of circular miRNA sponges targeting miR-21 or miR-221 and demonstration of their excellent anti-cancer effects on malignant melanoma cells.Int J Biochem Cell Biol 45(11): 2643-2650.
- Luengo-Gil, G. (2012). "MicroRNAs: nuevos marcadores de interés en oncología."Eubacteria 2012(28): 1-4.
- Luo, Z., Y. Dai, et al. (2013). "miR-18a promotes malignant progression by impairing microRNA biogenesis in nasopharyngeal carcinoma."Carcinogenesis 34(2): 415-425.
- Mao, S. (2013). "Linking Long Noncoding RNAs to Function."Cell 153(1): 5-7.
- McManus, M. T. (2003). "MicroRNAs and cancer."Semin Cancer Biol 13(4): 253-258.
- Memczak, S., M. Jens, et al. (2013). Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency."Nature 495(7441): 333-338.

- Mendell, J. T. (2008). "miRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease." *Cell* 133(2): 217-222.
- Meng, F., R. Henson, et al. (2007). "MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer." *Gastroenterology* 133(2): 647-658.
- Metzler, M., M. Wilda, et al. (2004). "High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma." *Genes, Chromosomes and Cancer* 39(2): 167-169.
- Mitani, Y., D. B. Roberts, et al. (2013). "MicroRNA profiling of salivary adenoid cystic carcinoma: association of miR-17-92 upregulation with poor outcome." *PLoS One* 8(6): e66778.
- Mott, J. L., S. Kobayashi, et al. (2007). "mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis." *Oncogene* 26(42): 6133-6140.
- Munker, R. y G. A. Calin (2013). *MicroRNAs and Other Non-Coding RNAs: Implications for Cancer Patients*. MicroRNA in Cancer. S. Alahari, Springer Netherlands: 1-12.
- Negrini, M., M. S. Nicoloso, et al. (2009). "MicroRNAs and cancer—new paradigms in molecular oncology." *Curr Opin Cell Biol* 21(3): 470-479.
- Nigro, J. M., K. R. Cho, et al. (1991). "Scrambled exons." *Cell* 64(3): 607-613. Olive, V., Q. Li, et al. (2013). "mir-17-92: a polycistronic oncomir with pleiotropic functions." *Immunol Rev* 253(1): 158-166.
- Osada, H. y T. Takahashi (2011). "let-7 and miR-17-92: small-sized major players in lung cancer development." *Cancer Sci* 102(1): 9-17.
- Park, S.-Y., J. H. Lee, et al. (2008). "miR-29 miRNAs activate p53 by targeting p85 $\alpha$  and CDC42." *Nat Struct Mol Biol* 16(1): 23-29.
- Pecot, C. V., R. Rupaimoole, et al. (2013). "Tumour angiogenesis regulation by the miR-200 family." *Nat Commun* 4: 2427.
- Ranji, N., M. Sadeghizadeh, et al. (2013). "MiR-17-92 cluster: an apoptosis inducer or proliferation enhancer." *Mol Cell Biochem* 380(1-2): 229-238.
- Raver-Shapira, N., E. Marciano, et al. (2007). "Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis." *Mol Cell* 26(5): 731-743.
- Ricarte-Filho, J. C., C. S. Fuziwara, et al. (2009). "Effects of let-7 microRNA on Cell Growth and Differentiation of Papillary Thyroid Cancer." *Transl Oncol* 2(4): 236-241.
- Salzman, J., C. Gawad, et al. (2012). "Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types." *PLoS One* 7(2): e30733.
- Sampson, V. B., N. H. Rong, et al. (2007). "MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells." *Cancer Res* 67(20): 9762-9770.
- Sanger, H. L., G. Klotz, et al. (1976). "Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures." *Proc Natl Acad Sci U S A* 73(11): 3852-3856.
- Suryawanshi, S., A. M. Vlad, et al. (2013). "Plasma microRNAs as novel biomarkers for endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer." *Clin Cancer Res* 19(5): 1213-1224.
- Takamizawa, J., H. Konishi, et al. (2004). "Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival." *Cancer research* 64(11): 3753-3756.
- Tan, M., J. Wu, et al. (2013). "Suppression of Wnt signaling by the miR-29 family is mediated by demethylation of WIF-1 in non-small-cell lung cancer." *Biochem Biophys Res Commun*.
- Teruel, R., C. Perez-Sanchez, et al. (2011). "Identification of miRNAs as potential modulators of tissue factor expression in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome." *J Thromb Haemost* 9(10): 1985-1992.
- Thai, T.-H., D. P. Calado, et al. (2007). "Regulation of the germinal center response by microRNA-155." *Science* 316(5824): 604-608.
- Toiyama, Y., K. Hur, et al. (2013). "Serum miR-200c Is a Novel Prognostic and Metastasis-Predictive Biomarker in Patients With Colorectal Cancer." *Ann Surg*.
- Volinia, S., G. A. Calin, et al. (2006). "A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets." *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(7): 2257-2261.
- Voorhoeve, P. M., C. le Sage, et al. (2007). "A genetic screen implicates miRNA-372 and miRNA-373 as oncogenes in testicular germ cell tumors." *Adv Exp Med Biol* 604: 17-46.
- Wang, K. S., Q. L. Choo, et al. (1986). "Structure, sequence and expression of the hepatitis delta (delta) viral genome." *Nature* 323(6088): 508-514.
- Wang, S., J. Xiang, et al. (2013). "A plasma microRNA panel for early detection of colorectal cancer." *International Journal of Cancer*: n/a-n/a.

- Wilusz, J. E. y P. A. Sharp (2013). "Molecular biology. A circuitous route to noncoding RNA." *Science* 340(6131): 440-441.
- Wu, Q., Z. Yang, et al. (2013). "MiR-19b/20a/92a regulates the self-renewal and proliferation of gastric cancer stem cells." *J Cell Sci*.
- Wu, W., M. Sun, et al. (2007). "MicroRNA and cancer: Current status and prospective." *International Journal of Cancer* 120(5): 953-960.
- Wu, W., M. Takanashi, et al. (2013). "MicroRNA-18a modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3 during gastric adenocarcinogenesis." *Br J Cancer* 108(3): 653-661.
- Xu, S., P. Xu, et al. (2013). "The biphasic expression pattern of miR-200a and E-cadherin in epithelial ovarian cancer and its correlation with clinicopathological features." *Curr Pharm Des*.
- Yamashita, S., H. Yamamoto, et al. (2012). "MicroRNA-372 is associated with poor prognosis in colorectal cancer." *Oncology* 82(4): 205-212.
- Yanaihara, N., N. Caplen, et al. (2006). "Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis." *Cancer Cell* 9(3): 189-198.
- Yanaihara, N., N. Caplen, et al. (2006). "Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis." *Cancer Cell* 9(3): 189-198.
- Yang, F., Q. J. Li, et al. (2013). "MicroRNA-34a Targets Bcl-2 and Sensitizes Human Hepatocellular Carcinoma Cells to Sorafenib Treatment." *Technology in cancer research & treatment*.
- Yin, R., R. Wang, et al. (2013). "MiR-17-3p inhibits angiogenesis by downregulating flk-1 in the cell growth signal pathway." *J Vasc Res* 50(2): 157-166.
- Yu, J., K. Ohuchida, et al. (2010). "MicroRNA miR-17-5p is overexpressed in pancreatic cancer, associated with a poor prognosis, and involved in cancer cell proliferation and invasion." *Cancer Biol Ther* 10(8): 748-757.
- Zhang, G.-J., T. Zhou, et al. (2013). "Plasma miR-200c and miR-18a as potential biomarkers for the detection of colorectal carcinoma." *Molecular and Clinical Oncology* 1(2): 379-384.
- Zhang, G., H. Zhou, et al. (2013). "MicroRNA-92a Functions as an Oncogene in Colorectal Cancer by Targeting PTEN." *Digestive Diseases and Sciences*: 1-10.
- Zhang, H. F., L. Y. Xu, et al. (2013). "A Family of Pleiotropically Acting MicroRNAs in Cancer Progression, miR-200: Potential Cancer Therapeutic Targets." *Curr Pharm Des*.
- Zhang, W. C., J. Liu, et al. (2013). "The role of microRNAs in lung cancer progression." *Med Oncol* 30(3): 675.
- Zhou, C., X. Li, et al. (2013). "microRNA-372 maintains oncogene characteristics by targeting TNFAIP1 and affects NFkappaB signaling in human gastric carcinoma cells." *Int J Oncol* 42(2): 635-642.
- Zhu, S., M.-L. Si, et al. (2007). "MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1)." *Journal of Biological Chemistry* 282(19): 14328-14336.