

Minna Piipponen, Liisa Nissinen ja Veli-Matti Kähäri

Pitkät ei-koodaavat RNA:t ihosyövässä

Pitkät ei-koodaavat RNA:t (long non-coding RNA, lncRNA) ovat laaja ja toiminnoiltaan monipuolinen joukko geenien säätelijämolekyylejä, joilla on tärkeä rooli solujen normaalin toiminnan ja tasapainon ylläpidossa. Ihossa ne osallistuvat muun muassa keratinosyyttien erilaistumisen ja haavan paranemisen säätelyyn. LncRNA:iden poikkeava ilmentyminen on havaittu lukuisissa eri syövässä, mukaan lukien ihosyövässä, kuten melanoomassa ja okasolusyövässä. Lisääntyvä tutkimusnäyttö lncRNA:iden toimintamekanismeista ihosyöpien kehittämisessä avaa uusia näkökulmia niiden käyttömahdollisuuksista ihosyöpien diagnostiikassa, luokittelussa ja uusien hoitomuotojen kehittämisessä.

Merkittävä osa ihmisen genomista koodaa proteiinia koodaamattomia mutta toiminnallisesti merkittäviä RNA:ita (ei-koodaavat RNA:t, non-coding RNA, ncRNA), joihin kuuluvat ribosomaalinen RNA, (rRNA) ja siirtäjä-RNA (tRNA) sekä suuri joukko muita ncRNA:ita, jotka luokitellaan karkeasti pieniksi (small ncRNA, sncRNA:t) ja pitkiksi ei-koodaaviksi RNA:ksi (long ncRNA, lncRNA). Sekvensointimenetelmien ja bioinformatiikan työkalujen kehittymisen myötä ei-koodaavien RNA:iden roolia geenien säätelyssä on pystytty selvittämään entistä yksityiskohtaisemmin.

LncRNA:t ovat nimensä mukaisesti geenien transkripteja, joista ei tuoteta proteiineja. Niillä on kuitenkin merkittävä rooli geenien toiminnan säätelyssä ja solujen normaalissa signaalinvälityksessä monissa tilanteissa kudosten kehityksessä sekä rakenteen ja toiminnan ylläpidossa. Monissa syövässä, esimerkiksi ihosyövässä on todettu muutoksia lncRNA:iden ilmentymisessä ja toiminnassa. Suuren kiinnostuksen kohteena on, miten lncRNA:iden poikkeavaa ilmentymistä voitaisiin hyödyntää syöpien diagnostiikassa ja luokittelussa sekä levinneiden syöpien uusien hoitomuotojen kehittämisessä.

ncRNA:t – genomien pimeä puoli

Solunsisäistä tiedonsiirtoa välittävä ja säätelee suuri joukko toiminnallisia proteiineja: kasvu-

tekijöitä, reseptoreja, niiden välittäjäaineita ja signaalintimolekyylejä. Proteiinien tuotanto soluissa on monivaiheinen ja tarkasti säädelty prosessi, jossa proteiinia koodaavasta geenistä transkriptoituu ja muokkautuu lähetti-RNA, joka puolestaan transloittuu proteiiniksi. Kuitenkin vain noin 3 % ihmisen genomista sisältää proteiinia koodaavia geenejä, joiden lukumäärän on arvioitu olevan noin 20 000 (1).

Proteiinia koodaamattomat geenit luokitellaan useaan alakategoriaan, joista tunnetuimpina sncRNA:ihin lukeutuvat mikro-RNA:t (miRNA:t) ja oman, laajan ryhmänsä muodostavat lncRNA:t (**TAULUKKO 1**). Ihmisen genomi sisältää noin 17 000 lncRNA-geeniä ja 7 000 sncRNA-geeniä (1). Pieniin ncRNA:ihin (alle 200 nukleotidia) verrattuna lncRNA:iden koko vaihtelee huomattavasti enemmän, noin 200:sta tuhansiin nukleotideihin.

SncRNA:t jaetaan erillisiin alaryhmiin rakenteensa ja toimintansa perusteella. Pienet nukleaariset RNA:t (snRNA:t) säätelevät tumassa esilähetti-RNA:n silmukointia, pienet nukleolaariset RNA:t (snoRNA:t) ribosomaalisen RNA:n muokkausta. Mikro-RNA:t ja PIWI-vuorovaikuttavat RNA:t (piRNA:t) osallistuvat geenien hiljentämiseen estämällä lähetti-RNA:n translaatiota. LncRNA:ille ei vielä ole samankaltaista toiminnallista jaottelua.

Lukuisat tutkimukset vahvistavat käsitystä, että ncRNA:t ovat merkittävä osa geenien säätelyjärjestelmää ja voivat toimia etenkin syövän

TAULUKKO 1. Ei-koodaavien RNA-geenien luokittelua.

Pääluokka	Alakategoria	Lyhenne	Tunnettuja esimerkkejä syövässä
Pitkä ei-koodaava RNA (lncRNA)	Pitkä intergeeninen ei-koodaava RNA (long intergenic non-coding RNA)	lincRNA	<i>H19, MALAT1</i>
	Pitkä introninen ei-koodaava RNA (long intronic non-coding RNA)	Intronic lncRNA	<i>SPRY4-IT, lncRNA-LET</i>
	Antisense- pitkä ei-koodaava RNA (natural antisense transcript, antisense long non-coding RNA)	NAT	<i>HOTAIR, ANRIL</i>
	Sense- pitkä ei-koodaava RNA (sense long non-coding RNA)	Sense lncRNA	<i>SOX2-OT, MVIH</i>
	Divergentti pitkä ei-koodaava RNA (divergent/bidirectional long-non-coding RNA)	Divergent lncRNA, bidirectional lncRNA	<i>HOTTIP, DINO</i>
	Sirkulaarinen pitkä ei-koodaava RNA (circular long non-coding RNA)	circRNA	<i>CDR1as, circHIPK3</i>
Pieni ei-koodaava RNA (sncRNA)	Mikro-RNA, noin 22 nukleotidia (micro-RNA)	miRNA	<i>miR-34, let-7, miR-21</i>
	PIWI-vuorovaikuttava RNA, noin 20–30 nukleotidia (PIWI-interacting RNA)	piRNA	<i>PIR-Hep1, PIR-651</i>
	Pieni nukleaarinen RNA, noin 150 nukleotidia (small nuclear RNA)	snRNA	<i>U1-snRNA</i>
	Pieni nukleolaarinen RNA, noin 60–140 nukleotidia (small nucleolar RNA)	snoRNA	<i>SNORA42, SNORD50</i>
	Siirtäjä-RNA:sta peräisin oleva pieni RNA, noin 15–50 nukleotidia (transfer RNA-derived small RNA)	tsRNA, tsncRNA	<i>tRF-1001</i>
Muita ei-koodaavia RNA:ita (ncRNA)	Ribosomaalinen RNA (ribosomal RNA)	rRNA	Syövässä muun muassa rRNA:iden ja tRNA:iden ilmentymisen ja prosessointi on muuttunut
	Siirtäjä-RNA (transfer RNA)	tRNA	
	Telomeerisia toistojaksoja sisältävä RNA (telomeric repeat-containing RNA)	TERRA	

PIWI = P-element-induced wimpy testis

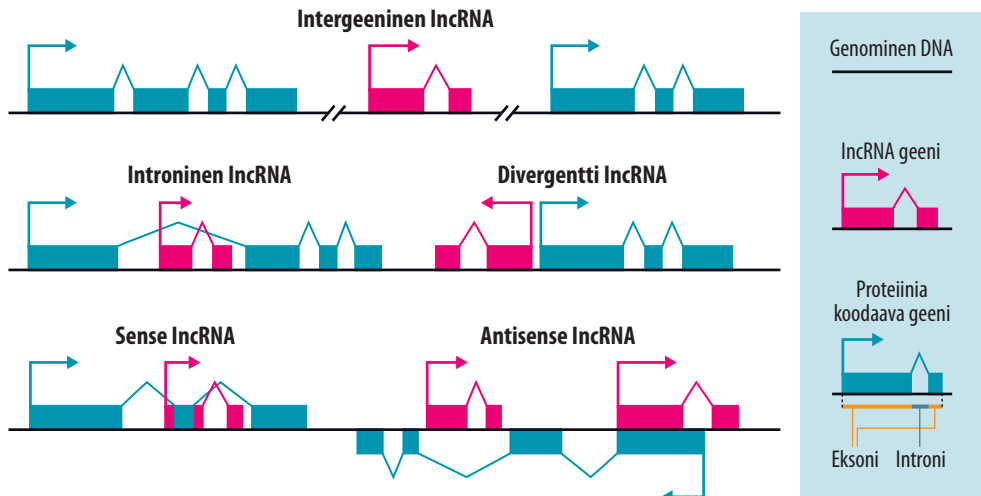
syntyyn, kasvuun ja leviämiseen liittyvien signaalireittien säätelyssä (**TAULUKKO 1**) (2).

LncRNA:t geenien säätelyssä

LncRNA:t ovat yleensä vähintään 200 nukleotidin pituisia yksijuosteisia RNA-molekyylejä, joiden rakenne ja kopioitumisprosessi on samankaltainen lähetti-RNA:n kanssa, mutta ne eivät transloidu proteiiniksi. Proteiinin tuotossa geenien sisältämät eksoni- ja intronijaksot transkriptoituvat esilähetti-RNA:ksi. Varsinainen lähetti-RNA muodostuu silmukointivaiheessa, kun proteiinia koodaamattomat intronijaksot leikkautuvat pois ja jäljelle jäävät eksonit liittyvät yhteen. Proteiinia koodaavien geenien tavoin myös lncRNA-geenit sisältävät eksoni- ja intronijaksoja.

LncRNA:t voidaan luokitella muun muassa niiden genomisen sijainnin mukaan (**KUVA 1**). Tämä voi antaa viitteitä lncRNA:n toimintamekanismista, esimerkiksi jos lncRNA säätelee lähellä olevien geenien ilmentymistä. Geenien väliset eli intergeeniset lncRNA:t (lincRNA:t) ovat toiminnoltaan hyvin vaihtelevia, ja niitä on myös suhteellisesti eniten muihin lncRNA:ihin verrattuna. Ne saattavat ilmentyä spesifisesti tietyssä solun osassa, kuten tumassa, solulimassa tai ribosomeissa ja voivat siirtyä myös eksosomien välityksellä viereisiin soluihin (3).

LncRNA:iden toimintamekanismi perustuu osittain RNA-sekvenssin yhteneväisyyteen tai komplementaarisuuteen muiden RNA:iden tai genomisen DNA:n kanssa. Tällöin ne voivat esimerkiksi sitoutua tumassa geenien säätely-



KUVA 1. Pitkät ei-koodaavat RNA:t (lncRNA:t) voidaan luokitella genomisen sijaintinsa mukaan. Intergeeninen lncRNA sijaitsee etäällä muista geeneistä ja sillä on usein oma promoottori, joka säätelee lncRNA:n transkriptiota. Introninen lncRNA transkriptoituu proteiinia koodaavan geenin introniselta alueelta. Divergentti lncRNA transkriptoituu vastakkaiseen suuntaan viereisen geenin kanssa, mutta molempien transkriptiota säätelee sama geenipromoottori. Sense-lncRNA transkriptoituu proteiinia koodaavan geenin eksoniselta alueelta. Antisense-lncRNA voi sisältää proteiinia koodaavan geenin intronisia tai eksonisia alueita, ja se transkriptoituu vastakkaiseen suuntaan proteiinia koodaavasta geenistä.

alueelle ja vaikuttaa geenien ilmentymisen säätelyyn (KUVA 2). Toiseksi lncRNA:iden rakenne voi sisältää spesifisiä muotoja, joiden avulla ne voivat sitoutua proteiineihin (4).

Tehostaja-alueelta (enhancer) transkriptoituvat lncRNA:t, eRNA:t (enhancer-RNA), voivat itsessään toimia adaptoreina geeninsäätelymolekyyleille. Näin ne voivat aktivoida lähettyvillä olevien geenien transkriptiota tai mahdollistaa DNA:n taipumisen tuomalla kauempana sijaitsevan säätelyalueen geenin promoottorin läheisyyteen (4).

Varsinkin syövässä aktivoituneet supertehostajat (super-enhancers) tuottavat aktiivisesti eRNA:ita, mikä lisää kohdegeenien ilmentymistä. Koska mahdollisia kohdemolekyylejä on runsaasti, yksittäisen lncRNA:n vaikutuksen ja toimintamekanismin selvittäminen on työlästä.

LncRNA:t ihon rakenteen ja toiminnan säätelyssä

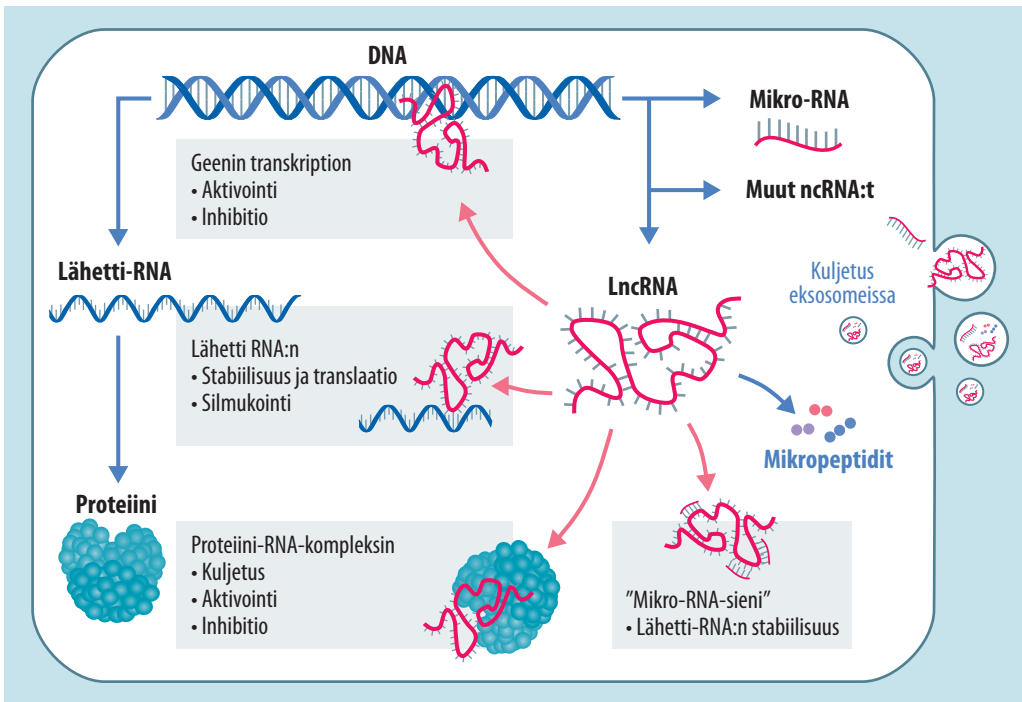
Ihosta on löydetty useita lncRNA:ita, jotka säätelevät muun muassa keratinosyyttien erilaistumista ja haavan paranemista. Iho koostuu useasta eri solutyypistä. Tietyn lncRNA:n toi-

minta saattaa rajoittua vain yksittäisiin soluihin tai tiettyyn kehitysvaiheeseen. Esimerkiksi lncRNA:t *TINCR* ja *DANCR* ilmentyvät keratinosyyteissä vain tietyssä solujen erilaistumisprosessin vaiheessa (KUVA 3).

TINCR ilmentyy spesifisesti epidermiksen suprabasaalisissa kerroksissa ja aktivoi keratinosyyttien erilaistumiseen liittyvien geenien ilmentymistä (5). *DANCR* ilmentyy lähinnä epidermiksen tyvisoluissa ja estää keratinosyyttien erilaistumista hiljentämällä MAF- ja MAFB-transkriptiotekijöiden ilmentymistä (6).

Ihon haavan paraneminen on monivaiheinen prosessi, johon osallistuu useita eri solutyyppejä ja johon vaikuttavien geenien ilmentyminen on tarkasti säädelty. *WAKMAR1* ja *WAKMAR2* ovat lncRNA:ita, jotka säätelevät haavan paranemista ihossa. *WAKMAR1*:n ilmentyminen keratinosyyteissä aktivoituu nopeasti ihovaurion jälkeen, ja se stimuloi keratinosyyttien liikkumista haavan uudelleen epitelisoitumisen aikana (7).

WAKMAR2:n ilmentyminen on hyvin vähäistä haavan paranemisen alkuvaiheessa, ja se lisääntyy vasta haavan umpeutumisen jälkeen, jolloin se hillitsee tulehdusta vähentämällä



KUVA 2. Pitkät ei-koodaavat RNA:t (lncRNA:t) säätelevät geenien ilmentymistä usealla eri mekanismilla. Genomisesta DNA:sta transkriptoituu proteiinia koodaavien lähetti-RNA:iden lisäksi useita erilaisia ei-koodaavia RNA:ita (ncRNA:ita), kuten mikro-RNA:t ja pitkät ncRNA:t (lncRNA:t). Mikro-RNA:t säätelevät pääasiassa geenien hiljentämistä sitoutumalla lähetti-RNA:han ja estämällä translaatiota. LncRNA:t voivat toimia telineenä proteiini-komplekseille ("scaffold"), ohjata signaalinvälitysproteiineja eri kohteisiin solussa ("guide") tai siepata säätelytekijöitä ja rajoittaa niiden vuorovaikutusta kohdegeenin tai -tekijän kanssa ("decoy"). Esimerkiksi tumassa lncRNA voi säädellä geenien transkriptiota sitoutumalla DNA:han ja estää transkriptiotekijöiden sitoutumista geenien säätelyalueelle. LncRNA voi myös tuoda transkriptiotekijöitä geenien säätelyalueiden läheisyyteen edistämällä DNA:n taipumista

ja siten säädellä geenin transkriptiota. Se voi säädellä lähetti-RNA:n silmukointiin osallistuvien proteiinien toimintaa ja näin vaikuttaa lähetti-RNA:n silmukointiin. LncRNA voi sitoutua suoraan lähetti-RNA:han ja vaikuttaa sen stabiiliuteen ja proteiinin translaatioon. LncRNA voi sitoutua proteiineihin ja vaikuttaa proteiini-kompleksin aktiivisuuteen tai sijoittumiseen solussa. Solulimassa lncRNA voi toimia "mikro-RNA-sienenä", jolloin se kilpailee mikro-RNA:iden sitoutumisesta lähetti-RNA:han. Tällöin lncRNA voi epäsuorasti stabiloida mikro-RNA:n kohteena olevaa lähetti-RNA:ta ja lisätä sen translaatiota proteiiniksi. Vaikka lncRNA:t ovat pääasiassa proteiinia tuottamattomia, osa lncRNA:ista voi tuottaa mikropeptidejä, jotka osaltaan vaikuttavat solusäätelyyn. Solunsisäisen säätelyn ohella lncRNA:t voivat kulkeutua eksosomeissa solun ulkopuolelle, jolloin ne voivat vaikuttaa viereisten solujen toimintaan.

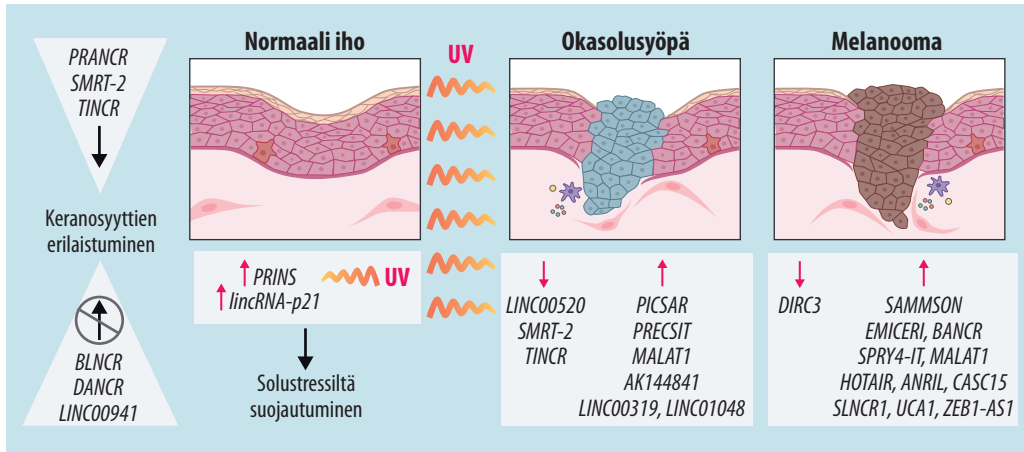
keratinosyyttien tulehduksenvälittäjäaineiden tuotantoa (8). Kroonisissa haavoissa sekä *WAKMAR1*:n että *WAKMAR2*:n ilmentyminen on vähentynyt, mikä viittaa siihen, että molemmat lncRNA:t ovat toiminnallisesti merkittäviä haavan paranemisen säätelijöitä.

LncRNA:t ihosyövässä

Ihosyövät jaetaan yleensä keratinosyyttiperäisiin tyvisolusyöpään ja okasolusyöpään sekä

melanosyyttiperäiseen melanoomaan. Kaikkien näiden syöpätyyppien suurin riskitekijä on pitkäaikainen altistuminen auringon ultravioletti (UV) -säteilylle, joka vaurioittaa ihon solujen DNA:ta ja aiheuttaa mutaatioita, jotka johtavat solujen muuntumiseen syöpäsoluiksi.

Ihosyöpien mutaatiotaajuus onkin suurin kaikista syövästä (9,10). Ihosyövät eroavat kuitenkin toisistaan mutaatioprofilien ja solujen signaalireittien muutosten osalta. Melanooman mutaatioprofiili on kuvattu varsin hyvin (9).



KUVA 3. Pitkät ei-koodaavat RNA:t (lncRNA:t) ihossa ja ihosyövässä (12). *TINCR*, *PRANC* ja *SMRT-2* aktivoivat keratinosyyttien erilaistumista ihossa, kun taas *BLNC*, *DANCR* ja *LINC00941* ovat erilaistumista estäviä pitkiä ei-koodaavia RNA:ita (lncRNA:ita). *PRINS* ja *lincRNA-p21* ovat UV-säteilyn indusoimia lncRNA:ita keratinosyyteissä, ja ne auttavat soluja suojautumaan UV:n aiheuttamalta stressiltä estämällä keratinosyyttien jakautumista. Pitkäaikainen altistuminen auringon UV-säteilylle johtaa ihosyövän, esimerkiksi keratinosyyttiperäisen okasolusyövän tai melanosyyttiperäisen ihomelanooman kehittymiseen. Näissä syövässä tiettyjen lncRNA:iden ilmentyminen on erilainen normaaliin ihoon verrattuna, ja ne toimivat syövän kehittämisessä säätelemällä muun muassa solujen jakautumista, liikumista ja invaasiota. Punainen nuoli kuvaa lncRNA:n ilmentymisen lisääntymistä (ylöspäin) ja vähentymistä (alaspäin).

Tyvi- ja okasolusyövän mutaatioprofilikin on dokumentoitu hyvin, ja useita ajurimutaatioita proteiinia koodaavissa geeneissä on tunnistettu (10).

Näitä samoja ajurigeenimutaatioita esiintyy kuitenkin myös normaalin auringonvalolle altistuneen ihon epidermaalisissa keratinosyyteissä, joten muutkin tekijät, kuten muutokset keratinosyyttien ei-koodaavissa geeneissä ja mikroympäristössä, ovat välttämättömiä ihosyövän kehittämiselle. On myös huomionarvoista, että valtaosa UV-säteilyn aiheuttamista mutaatioista osuu juuri geenien ei-koodaavalle alueelle, mikä voi muuttaa lncRNA:iden rakennetta, toimintaa tai ilmentymisen säätelyä (11).

Mutaatiot genomien ei-koodaavilla alueilla voivat vaikuttaa kromatiinirakenteeseen, transkriptiotekijän sitoutumiseen ja geenien ilmentymiseen. Lisäksi nämä mutaatiot voivat muuttaa lncRNA:n ilmentymistä tai sekundaarista rakennetta taikka häiritä lncRNA:n vuorovaikutusta muiden säätelytekijöiden kanssa (11). Toistaiseksi lncRNA:iden pistemutaatioiden merkitystä ihosyövässä ei kuitenkaan tunneta.

Pitkäaikainen UV-säteilylle altistuminen aiheuttaa runsaan mutaatiotaakan ihosyövis-

sä, ja tunnettujen syöpägeenien ohella myös lncRNA:iden säätely on poikkeavaa normaaleihin soluihin verrattuna (12). Monet lncRNA:t, jotka ohjaavat ihon solujen normaalia toimintaa, voivat osallistua syövän yhteydessä yliaktivoituneen signaalireitin toimintaan ja näin edesauttaa syövän kasvua ja leviämistä.

UV-säteily aktivoi lncRNA:iden ilmentymistä. UV-säteily vaurioittaa ihon solujen DNA:ta ja aiheuttaa niissä stressivasteen, jolla solu pyrkii korjaamaan syntyneet vauriot. DNA:n korjaukseen ja melaniinisynteesin käynnistymiseen vaikuttavat signaalintireitit tunnetaan, mutta lncRNA:iden osallisuudesta ihosolujen UV-säteilyltä suojautumiseen tiedetään vähän. UV-säteily laukaisee spesifisen lncRNA-ilmentymisprofiilin ihon keratinosyyteissä, melanosyyteissä ja fibroblasteissa (13–15). Tunnetuimpia esimerkkejä UV-säteilyn indusoimista lncRNA:ista keratinosyyteissä ovat *PRINS* ja *lincRNA-p21*, jotka estävät keratinosyyttien jakautumista (KUVA 3) (16,17).

lncRNA:t keratinosyyttisyövässä. Keratinosyyttiperäisten tyvi- ja okasolusyövän mutaatioprofiilit poikkeavat toisistaan, ja niiden kasvuun myötävaikuttavat eri signaalireitit.

TAULUKKO 2. Keratinosyyttisyövissä esiintyviä lncRNA:ita (18–23,25–28).

LncRNA	Ilmentyminen	Toimintamalli	Viite
<i>H19, CASC15, SPRY4-IT</i>	Tyvisolusyövässä lisääntynyt	Tunnettuja syöpägenejä melanoomassa, mahdollisesti tyvisolusyöpää edistäviä lncRNA:ita	(18)
<i>PICRAR</i>	Okasolusyövässä lisääntynyt	Edistää okasolusyövän etenemistä aktivoimalla ERK1/2-signaalointia. Vähentää syöpäsolujen kiinnittymistä ja lisää niiden liikkumista estämällä integriinisolureseptorien ilmentymistä.	(19,20)
<i>PRECSIT</i>		Edistää okasolusyövässä syöpäsolujen invaasiota aktivoimalla soluväliainetta hajottavien MMP-13:n, MMP-3:n, MMP-1:n ja MMP-10:n ilmentymistä STAT3-signaalointireitin välityksellä.	(21)
<i>LINC00319</i>		Lisää syöpäsolujen kasvua, liikkumista ja invaasiota okasolusyövässä. Hillitsee syöpäsolujen apoptoosia lisäämällä <i>CDK3</i> -geenin ilmentymistä miR-1207-5p:n välityksellä.	(26)
<i>LINC01048</i>		Sitoutuu TAF15-transkriptiotekijään ja aktivoi okasolusyövässä syöpäsolujen jakautumista sekä vähentää niiden apoptoosia hipposignaaliereitin välityksellä.	(27)
<i>MALAT1</i>		Edistää okasolusyövässä EGFR-proteiinin ilmentymistä <i>c-MYC</i> - ja <i>KTN1</i> -geenien välityksellä.	(25)
<i>AK144841</i>		Yli-ilmentynyt okasolusyövän koe-eläinmallissa. Edistää okasolusyövän kehittymistä hillitsemällä useita syöpää estävien ja solujen erilaistumista säätelevien geenien ilmentymistä.	(23)
<i>SMRT-2</i>	Okasolusyövässä vähentynyt	<i>SMRT-2</i> :n hiljentäminen vähentää keratinosyyttien erilaistumista säätelevien geenien ilmentymistä. Mahdollisesti okasolusyövän kehittymistä estävä lncRNA, jonka ilmentyminen on vähentynyt okasolusyövässä ja okasolusyövän organotyyppisessä soluviljelymallissa.	(22)
<i>LINC00520</i>		Estää okasolusyövän kehittymistä vähentämällä EGFR:n ja sen kohdegeenien, muun muassa PI3K:n, AKT:n ja VEGF:n, ilmentymistä syöpäsoluissa.	(28)

Toistaiseksi lncRNA:iden toimintamekanismeja ei ole tutkittu tyvisolusyövässä, mutta niiden ilmentymisprofiili voi antaa viitettä toiminnallisesti merkittävistä lncRNA:ista tyvisolusyövän kehittämisessä (**TAULUKKO 2**) (18).

PICRAR ja *PRECSIT* ovat molemmat okasolusyövän kehittymistä edistäviä lncRNA:ita, ja ne säätelevät eri signaalireittejä (19–21). Niiden ilmentyminen on hyvin vähäistä normaalissa ihossa, mutta selvästi lisääntynyt okasolusyövän ja sen esiasteiden yhteydessä. *PICRAR* säätelee okasolusyöpäsolujen jakautumista ja liikkumista (19,20).

PRECSIT sen sijaan säätelee soluväliainetta hajottavien metalloproteiinaasien ilmentymistä ja solujen invaasiota okasolusyövässä STAT3-signaaloinnin välityksellä (21). *PRECSIT*:in ilmentymistä lisää p53-kasvunrajoiteproteiinin inaktivoituminen, joka on yleisin UV-säteilyn aiheuttama mutaatio okasolusyövässä (21).

Okasolusyövän huono erilaistumisaste liittyy syövän leviämiseen ja huonompaan ennusteeseen. Edellä mainittu *TINCR* ja hiljattain

löydetty *SMRT-2* aktivoivat keratinosyyttien erilaistumista normaalissa ihossa (5,22). Molempien ilmentyminen on vähentynyt okasolusyövässä (5,22,23), mikä voi edesauttaa huonosti erilaistuneen okasolusyövän kasvua.

Epidermaalisen kasvutekijän reseptorin (EGFR) yliaktiivisuus liittyy useisiin syöpiin, muun muassa ihosyöpiin. lncRNA *MALAT1*:n lisääntynyt ilmentyminen ja syövän kasvua edistävä vaikutus on havaittu useissa eri syövissä, esimerkiksi melanoomassa ja okasolusyövässä (24,25). *MALAT1* säätelee okasolusyövän kehittymistä EGFR-signaaloinnin välityksellä, ja sen ilmentymisen estäminen vähentää EGFR-proteiinin tuottoa okasolusyövän yhteydessä (25).

TAULUKOSSA 2 on lueteltu lncRNA:ita, joiden ilmentymistä ja toimintamekanismeja okasolusyövässä on tutkittu (**KUVA 3**) (19–23,25–28). Kiinnostavaa on, että ne säätelevät hyvin monipuolisesti eri signaalireittejä ja vaikuttavat useiden eri geenien toimintaan. Ne edustavat kuitenkin pientä osaa okasolusyövässä esiinty-

TAULUKKO 3. Melanoomassa esiintyviä lncRNA:ita (24,29–38).

lncRNA	Ilmentyminen	Toimintamalli	Viite
<i>SAMMSON</i>	Melanoomassa lisääntynyt	Sitoutuu p32-transkriptiotekijään ja edistää sen toimintaa melanoomasolujen mitokondrioissa, mikä lisää melanoomasolujen elinkykyä	(29)
<i>EMICERI</i>		Lisää melanoomasolujen resistenssiä BRAF:n estäjälle aktivoimalla MOB3B-transkriptiotekijän ilmentymistä ja hipposignaaliireittä	(32)
<i>BANCR</i>		Spesifisesti lisääntynyt <i>BRAF</i> -mutatoituneessa melanoomassa. Lisää melanoomasolujen liikkumista	(31)
<i>SPRY4-IT</i>		Lisää melanoomasolujen elinkykyä ja invaasiota sekä estää niiden apoptoosia	(34)
<i>SLNCR1</i>		Lisää melanoomasolujen invaasiota lisäämällä MMP-9:n ilmentymistä Brn3a-transkriptiotekijän ja androgeenireseptorin välityksellä	(33)
<i>CASC15</i>		Lisääntynyt metastaattisissa melanoomasoluissa ja levinneen melanooman eläinmallissa, säätelee melanoomasolujen liikkumista ja invaasiota	(30)
<i>MALAT1</i>		Lisääntynyt imusolmukkeisiin levinneessä melanoomassa, lisää melanoomasolujen liikkumista	(24)
<i>UCA1</i>		Lisääntynyt levinneessä melanoomassa, lisää melanoomasolujen liikkumista	(24)
<i>HOTAIR</i>		Lisääntynyt imusolmukkeisiin levinneessä melanoomassa, lisää melanoomasolujen liikkumista ja invaasiota	(35)
<i>ANRIL</i>		Edistää melanooman kasvua aktivoimalla melanoomasolujen kasvua ja liikkumista	(36)
<i>ZEB1-AS1</i>		Lisääntynyt melanoomassa, erityisesti levinneessä melanoomassa	(38)
<i>DIRC3</i>	Melanoomassa vähentynyt	Estää melanoomasolujen kiinnittymisalustasta riippumatonta kasvua aktivoimalla IGFBP5-kasvunrajoiteproteiinia koodaavan geenin ilmentymistä	(37)

vistä lncRNA:ista, joista valtaosan merkitys ja vaikutusmekanismi okasolusyövässä on toistaiseksi tuntematon.

lncRNA:t melanoomassa. Melanoomassa ilmentyviä lncRNA:ita on löydetty useita (**TAULUKKO 3** ja **KUVA 3**) (24,29–38). Näihin kuuluu *DIRC3*, joka on yksi harvoista syövän kasvua hillitsevistä lncRNA:ista melanoomassa (37).

BRAF on yksi tyypillisimmistä kasvua aktivoivista geeneistä, joka on mutatoitunut noin puolessa melanoomista (9). *BANCR* on lncRNA, joka edistää melanoomasolujen liikkumista, ja sen ilmentyminen on spesifisesti aktivoitunut *BRAF*-mutatoituneessa melanoomassa (31). *BANCR* säätelee useita solun liikkumiseen liittyviä geenejä ”in trans”. Tämä tarkoittaa, että säädeltyvät geenit eivät ole *BANCR*-geenilokuksen läheisyydessä, vaan voivat sijaita jopa eri kromosomissa.

EMICERI on lncRNA, joka säätelee melanoomasolujen resistenssiä levinneen melanooman hoidossa käytettävälle BRAF:n estäjä vemurafenibille. *EMICERI* säätelee spesifisesti geenilokuksensa läheisyydessä olevien geenien ilmentymistä, toisin sanoen ”in cis” (32). *EMICERI* on esimerkki lncRNA:sta, jota voitaisiin

mahdollisesti hyödyntää *BRAF*-mutatoituneen melanooman hoidossa tai arvioitaessa melanooman lääkeresistenssiä.

SAMMSON ja *CASC15* ovat kaksi lncRNA:ta, jotka kopioituvat eri melanoomaspesifisen DNA-monistuman myötä soluihin. Normaalit melanosyytit eivät ilmennä *SAMMSON*ia, mutta se ilmentyy spesifisesti melanooman vertikaalisessa invasiivisessa kasvuvaiheessa (29). *CASC15* näyttää toimivan melanoomassa kytkimenä syöpäsolun jakautuvan ja invasoivan fenotyypin välillä, ja sen ilmentymisen lisääntyminen liittyy melanooman eteneeseen ja huonompaan ennusteeseen (30).

SAMMSON edistää melanoomasolujen elinkykyä p32-transkriptiotekijän välityksellä, ja yhdessä BRAF:n ja MEK:n estäjien kanssa *SAMMSON*in ilmentymisen estäminen voi tarjota uuden keinon levinneen melanooman hoitoon (29).

Lopuksi

lncRNA:iden ilmentyminen on hyvin kudos- ja soluspesifistä (39). Se on merkittävä etu, kun kehitetään yhä tarkempia diagnostisia

testejä. Yhdessä muiden ncRNA:iden kanssa lncRNA:t muodostavat monimutkaisen geenien säätelyverkoston, jossa keskeistä on lähetti-RNA:iden ja niistä transloituviin proteiinien tuotannon säätely. LncRNA:iden ilmentymisprofiili yhdistyneenä muiden jo tunnettujen syöpägeenien tai spesifisten mutaatioiden detektioon voi tarkentaa syöpien, myös ihosyöpien diagnostiikkaa, luokittelua, leviämisen arviointia ja auttaa hoitovasteen arvioinnissa.

Lukuisia mahdollisia lncRNA-merkkimolekyylejä on löydetty eri syövästä, ja niiden merkitystä syöpien diagnostiikassa ja luokittelussa tutkitaan parhaillaan useissa kliinisissä kokeissa. Eturauhassyövän diagnostiikkaan on kehitetty lncRNA-detektiota hyödyntävä testi (40).

Vastaavasti miRNA-profilointi on osoitettu tehokkaaksi useiden syöpien luokittelussa, mutta toistaiseksi miRNA:t eivät ole päätyneet kliiniseen käyttöön syövän diagnostiikassa. Syinä tähän voivat olla hankaluudet miRNA:iden tarkkuudessa ja tulosten toistettavuudessa eri potilasryhmien välillä.

Syövän hoidossa lncRNA:iden ilmentymistä pyritään joko hiljentämään tai lisäämään keinotekoisilla RNA:ta jäljittelevillä korvikkeilla, joko verenkierron kautta tai ruiskuttamalla suoraan kasvaimeen. Suurin haaste on edelleen näiden molekyylien vieminen syöpäsoluun tehokkaasti ja turvallisesti. Yksi vaihtoehto on kehittää pienmolekyylejä, jotka estävät spesifisesti lncRNA-proteiinikompleksin muodostumisen ja aktiivisuuden. Esimerkiksi melanoomassa *SLNCRI*-lncRNA:n ja androgeenireseptorin vuorovaikutuksen estämisen on osoitettu vähentävän melanoomasolujen invaasiota (33).

Vaikka varsinaisia miRNA- tai lncRNA-hoitomuotoja ei ole vielä saatavilla, RNA-lääkkeiden siirtymistä tutkimuksesta markkinoille on jo nähtävissä. Ensimmäinen Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto FDA:n vuonna 2018 hyväksymä RNA-lääke patisiraani on perinnöllisen transtyretiinivälitteisen amyloidoosin hoitoon suunniteltu lipidinopartikkeleihin pakattu pieni kaksoiskierteinen RNA, joka aiheuttaa transtyretiinin lähetti-RNA:n hajoamisen ja sen proteiinin tuotannon maksasoluissa (40).

Samaa vaikutusmekanismia voitaisiin hyödyntää myös lncRNA:iden hiljentämisessä.

Ydinasiat

- ▶ Pitkät ei-koodaavat RNA:t (lncRNA:t) ovat tärkeitä geeninsäätelijöitä monissa eri fysiologisissa tapahtumissa.
- ▶ LncRNA:t säätelivät ihon rakennetta ja toimintaa, esimerkiksi keratinosyyttien erilaistumista ja haavan paranemista.
- ▶ Ihosyöpien mutaatiotaajuus on suurin kaikista syövästä, ja valtaosa mutaatioista osuu juuri geenien ei-koodaavalle alueelle.
- ▶ LncRNA:iden poikkeava ilmentyminen on havaittu ihosyövässä, kuten ihomelanoomassa ja okasolusyövässä.
- ▶ LncRNA:ita voidaan mahdollisesti hyödyntää merkkiaineina ihosyövän leviämisen tai hoitovasteen ennustamisessa sekä uusien hoitomuotojen kohteina.

Vaikka ncRNA:ita kohdentavien hoitomuotojen kehitys on vielä alkutekijöissään, RNA-molekyylien kemiallisessa muokkaamisessa lääkeaineiksi on edistytty. Tämä todennäköisesti edistää myös ncRNA-hoitomuotojen kehittämistä kliiniseen käyttöön.

Uusia täsmälääkkeitä tarvitaan paikallisesti levinneiden ja metastasoituneiden ihosyöpien hoitoon. Ihosyöpien osalta suurena ongelmana on niiden massiivinen mutaatiotaakka, josta on vaikeaa erottaa niitä mutaatioita, jotka olennaisesti kiihdyttävät syövän kasvua ja leviämistä. Uusien lncRNA:ihin perustuvien hoitomuotojen avulla voitaisiin kohdentaa hoito sellaisiin syöpägeeneihin, joihin nykyiset täsmälääkkeet eivät tehoa. Yhdessä muiden hoitomuotojen ohella lncRNA:iden säätely voi tarjota mahdollisuuden yksilöllisesti räätälöityyn ja kohdennettuun hoitoon, johon liittyy vähemmän haittavaikutuksia. ■

* * *

Kiitämme aihetta koskevia tutkimusiamme rahoittaneita Sigrid Juséliuksen Säätiötä, Syöpäsäätiötä, Jane ja Aatos Erkon säätiötä, Turun Yliopistosäätiötä ja Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiriä (VTR).

KIRJALLISUUTTA

1. Frankish A, Diekhans M, Ferreira AM, ym. GENCODE reference annotation for the human and mouse genomes. *Nucleic Acids Res* 2019;47:D766–73.
2. Feeley KP, Edmonds MD. Hiding in plain sight: rediscovering the importance of noncoding RNA in human malignancy. *Cancer Res* 2018;78:2149–58.
3. Carlevaro-Fita J, Johnson R. Global positioning system: understanding long noncoding RNAs through subcellular localization. *Mol Cell* 2019;73:869–83.
4. Kopp F, Mendell JT. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs. *Cell* 2018;172:393–407.
5. Kretz M, Siprashvili Z, Chu C, ym. Control of somatic tissue differentiation by the long non-coding RNA TINCR. *Nature* 2013;493:231–5.
6. Kretz M, Webster DE, Flockhart RJ, ym. Suppression of progenitor differentiation requires the long noncoding RNA ANCR. *Genes Dev* 2012;26:338–43.
7. Li D, Kular L, Vij M, ym. Human skin long noncoding RNA WAKMAR1 regulates wound healing by enhancing keratinocyte migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019;116:9443–52.
8. Herter EK, Li D, Toma MA, ym. WAKMAR2, a long noncoding RNA downregulated in human chronic wounds, modulates keratinocyte motility and production of inflammatory chemokines. *J Invest Dermatol* 2019;139:1373–84.
9. Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, ym. The genetic evolution of melanoma from precursor lesions. *N Engl J Med*;2015:373:1926–36.
10. Nehal KS, Bichakjian CK. Update on keratinocyte carcinomas. *N Engl J Med* 2018;379:363–74.
11. Gao P, Wei GH. Genomic insight into the role of lncRNA in cancer susceptibility. *Int J Mol Sci* 2017;18:1239.
12. Piipponen M, Nissinen L, Kähäri VM. Long non-coding RNAs in cutaneous biology and keratinocyte carcinomas. *Cell Mol Life Sci* 2020;77:4601–14.
13. Zeng Q, Wang Q, Chen X, ym. Analysis of lncRNAs expression in UVB-induced stress responses of melanocytes. *J Dermatol Sci* 2016;81:53–60.
14. Zheng Y, Xu Q, Peng Y, ym. Expression profiles of long noncoding RNA in UVA-induced human skin fibroblasts. *Skin Pharmacol Physiol* 2017;30:315–23.
15. Yo K, Rüniger TM. UVA and UVB induce different sets of long noncoding RNAs. *J Invest Dermatol* 2017;137:769–72.
16. Sonkoly E, Bata-Csorgo Z, Pivarcsi A, ym. Identification and characterization of a novel, psoriasis susceptibility-related noncoding RNA gene, PRINS. *J Biol Chem* 2005;280:24159–67.
17. Hall JR, Messenger ZJ, Tam HW, ym. Long noncoding RNA lincRNA-p21 is the major mediator of UVB-induced and p53-dependent apoptosis in keratinocytes. *Cell Death Dis* 2015;6:e1700.
18. Sand M, Bechara FG, Sand D, ym. Long-noncoding RNAs in basal cell carcinoma. *Tumour Biol* 2016;37:10595–608.
19. Piipponen M, Nissinen L, Farshchian M, ym. Long noncoding RNA PICSAAR promotes growth of cutaneous squamous cell carcinoma by regulating ERK1/2 activity. *J Invest Dermatol* 2016;136:1701–10.
20. Piipponen M, Heino J, Kähäri VM, ym. Long non-coding RNA PICSAAR decreases adhesion and promotes migration of squamous carcinoma cells by downregulating $\alpha 2\beta 1$ and $\alpha 5\beta 1$ integrin expression. *Biol Open* 2018;7:bio037044.
21. Piipponen M, Nissinen L, Riihilä P, ym. p53-regulated long noncoding RNA PRECSIT promotes progression of cutaneous squamous cell carcinoma via STAT3 signaling. *Am J Pathol* 2020;190:503–17.
22. Lee CS, Mah A, Aros CJ, ym. Cancer-associated long noncoding RNA SMRT-2 controls epidermal differentiation. *J Invest Dermatol* 2018;138:1445–9.
23. Ponzio G, Rezzonico R, Bourget I, ym. A new long noncoding RNA (lncRNA) is induced in cutaneous squamous cell carcinoma and down-regulates several anticancer and cell differentiation genes in mouse. *J Biol Chem* 2017;292:12483–95.
24. Tian Y, Zhang X, Hao Y, ym. Potential roles of abnormally expressed long noncoding RNA UCA1 and Malat-1 in metastasis of melanoma. *Melanoma Res* 2014;24:335–41.
25. Zhang Y, Gao L, Ma S, ym. MALAT1-KTN1-EGFR regulatory axis promotes the development of cutaneous squamous cell carcinoma. *Cell Death Differ* 2019;26:2061–73.
26. Li F, Liao J, Duan X, ym. Upregulation of LINC00319 indicates a poor prognosis and promotes cell proliferation and invasion in cutaneous squamous cell carcinoma. *J Cell Biochem* 2018;119:10393–405.
27. Chen L, Chen Q, Kuang S, ym. USF1-induced upregulation of LINC01048 promotes cell proliferation and apoptosis in cutaneous squamous cell carcinoma by binding to TAF15 to transcriptionally activate YAP1. *Cell Death Dis* 2019;10:296.
28. Mei XL, Zhong S. Long noncoding RNA LINC00520 prevents the progression of cutaneous squamous cell carcinoma through the inactivation of the PI3K/Akt signaling pathway by downregulating EGFR. *Chin Med J (Engl)* 2019;132:454–65.
29. Leucci E, Vendramin R, Spinazzi M, ym. Melanoma addition to the long non-coding RNA SAMMSON. *Nature* 2016;531:518–22.
30. Lessard L, Liu M, Marzese DM, ym. The CAS15 long intergenic noncoding RNA locus is involved in melanoma progression and phenotype switching. *J Invest Dermatol* 2015;135:2464–74.
31. Flockhart RJ, Webster DE, Qu K, ym. BRAF-V600E remodels the melanocyte transcriptome and induces BANCER to regulate melanoma cell migration. *Genome Res* 2012;22:1006–14.
32. Joung J, Engreitz JM, Konermann S, ym. Genome-scale activation screen identifies a lncRNA locus regulating a gene neighbourhood. *Nature* 2017;548:343–6.
33. Schmidt K, Weidmann CA, Hillimeir TA, ym. Targeting the oncogenic long non-coding RNA SLNCR1 by blocking its sequence-specific binding to the androgen receptor. *Cell* 2020;30:541–54.e5.
34. Khaïtan D, Dinger ME, Mazar J, ym. The melanoma-upregulated long noncoding RNA SPRY4-IT1 modulates apoptosis and invasion. *Cancer Res* 2011;71:3852–62.
35. Tang L, Zhang W, Su B, ym. Long noncoding RNA HOTAIR is associated with motility, invasion, and metastatic potential of metastatic melanoma. *Biomed Res Int* 2013;2013:251098.
36. Xu S, Wang H, Pan H, ym. ANRIL lncRNA triggers efficient therapeutic efficacy by reprogramming the aberrant INK4-hub in melanoma. *Cancer Lett* 2016;381:41–8.
37. Coe EA, Tan JY, Shapiro M, ym. The MITF-SOX10 regulated long non-coding RNA DIRC3 is a melanoma tumour suppressor. *PLoS Genet* 2019;15:e1008501.
38. Siena ÁDD, Plaça JR, Araújo LF, ym. Whole transcriptome analysis reveals correlation of long noncoding RNA ZEB1-AS1 with invasive profile in melanoma. *Sci Rep* 2019;9:11350.
39. Iyer MK, Niknafs YS, Malik R, ym. The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nat Genet* 2015;47:199–208.
40. Ratti M, Lampis A, Ghidini M, ym. MicroRNAs (miRNAs) and long non-coding RNAs (lncRNAs) as new tools for cancer therapy: first steps from bench to bedside. *Target Oncol* 2020;15:261–78.

MINNA PIIPPONEN, FT, tutkijatohtori
 Karolinska Institute, Department of Medicine, Unit of Dermatology and Venereology, Tukholma, Ruotsi

LIISA NISSINEN, FT, dosentti, erikoistutkija
 Turun yliopisto, kliininen laitos, iho- ja sukupuolitautioppi
 Läntinen syöpäkeskus, syöpätutkimuslaboratorio, Turun yliopisto ja TYKS

VELI-MATTI KÄHÄRI, LT, professori, ylilääkäri
 Turun yliopisto, kliininen laitos, iho- ja sukupuolitautioppi
 TYKS, ihoklinikka
 Läntinen syöpäkeskus, syöpätutkimuslaboratorio, Turun yliopisto ja TYKS

VASTUUTOIMITTAJA
 Tuomas Mirtti

SIDONNAISUDET
 Minna Piipponen: Ei sidonnaisuuksia

Liisa Nissinen: Ei sidonnaisuuksia

Veli-Matti Kähäri: Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Sanofi), luottamustoimet (Suomen Lääketieteen Säätiö)