

Avaliação da expressão e interação entre microRNA e RNA mensageiro no câncer de cabeça e pescoço

Lucca D’Arco Corrêa 1,2, Bárbara dos Santos Dias 1, Leticia Torres Ferreira 1, Larissa Figueiredo Alves Diniz 1, Denise da Cunha Pasqualin 1, Rafael Pereira de Souza 3, Rafael de Cicco 3, Patricia Severino 1
 1 Hospital Israelita Albert Einstein, 2 Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, 3 Instituto do Câncer Doutor Arnaldo Vieira de Carvalho

INTRODUÇÃO

O câncer de cabeça e pescoço é classificado como o sétimo tipo de câncer mais comum no mundo (Sung et al., 2021). A sobrevivência estimada para esse tipo de câncer é de 50% (Lu, L. et al., 2019). Isto é devido à demora no diagnóstico e início do tratamento, um impacto direto da falta de marcadores específicos para este tipo tumoral (Liao et al., 2019). MicroRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNA não codificantes, com aproximadamente 20-25 nucleotídeos, que se ligam a RNA mensageiros (mRNA), causando silenciamento gênico (Bartel, 2004). São potenciais biomarcadores por apresentarem expressão desregulada em tecidos tumorais.

OBJETIVOS

Avaliar miRNA e mRNA em tecido tumoral visando sugerir mecanismos de regulação gênica relevantes no desenvolvimento do carcinoma epidermoide de cabeça e pescoço (CECP) e investigar miRNAs como marcadores da presença do tumor.

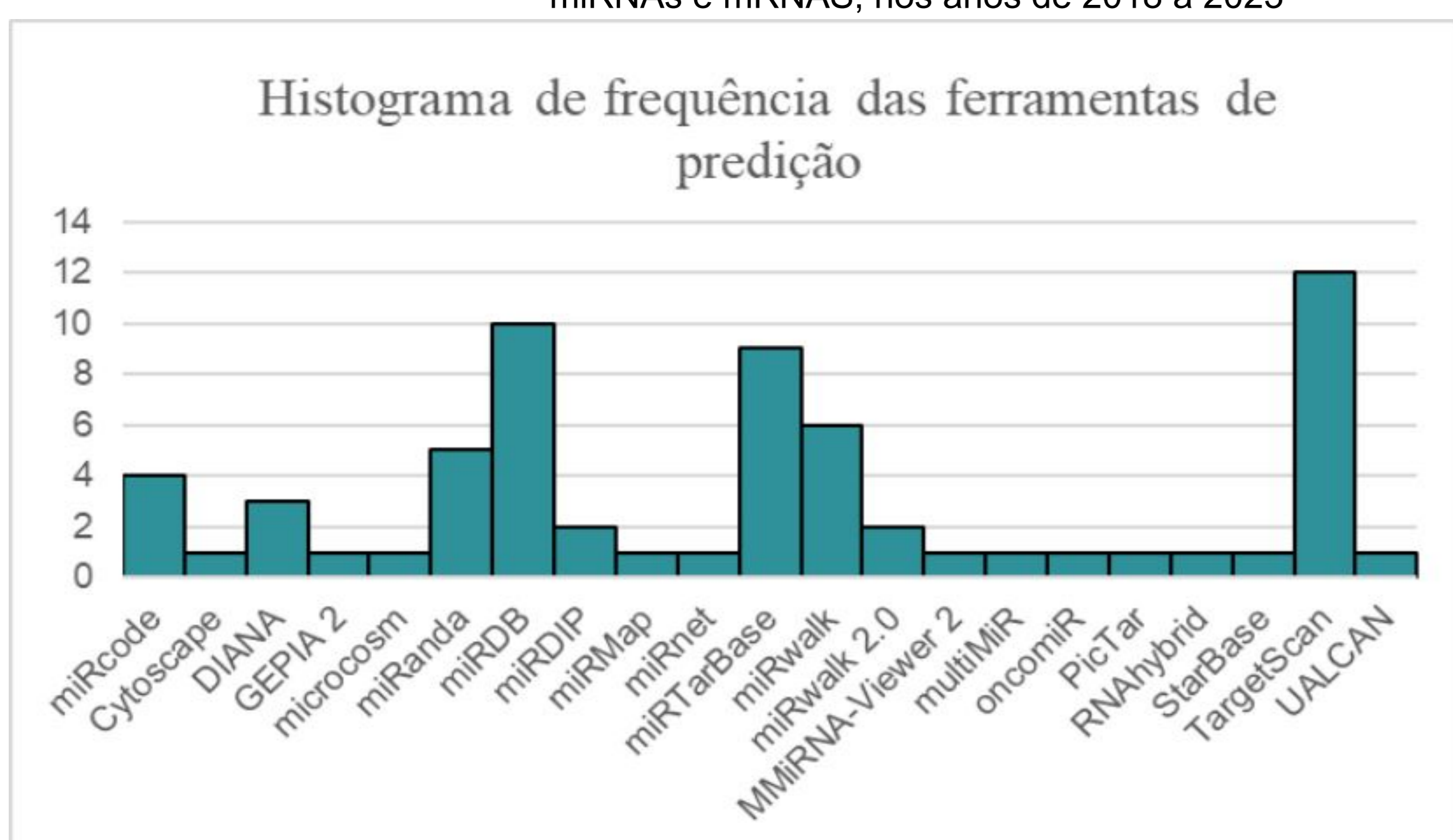
METODOLOGIA

RNA total, incluindo miRNAs, foi extraído de tecidos tumorais e livres de tumor conservados em parafina com o ensaio Allprep DNA/RNA FFPE (Qiagen). A tecnologia de hibridização de código de barras molecular (nCounter Nanostring) foi utilizada para a detecção de miRNA e mRNA com o painel nCounter Human V3 miRNA e PanCancer Pathways, respectivamente. O processamento dos dados e análises estatísticas foram realizados com o software nSolver 4.0 (Nanostring). Para a predição da interação entre miRNAs e seus possíveis mRNAs alvos foi utilizada as ferramentas miRWalk 2.0, MirTarBase, TargetScan e miRDB, assim como dados disponíveis na literatura.

RESULTADOS

Através da análise da expressão gênica e predição da interação de miRNA-mRNA foram identificados miRNAs e seus respectivos mRNAs-alvo diferencialmente expressos. Dentre os genes com expressão alterada relevantes para o desenvolvimento e progressão do câncer destacam-se genes envolvidos na regulação do ciclo celular (PIK3R1 e CDKN1C), e genes especificamente descritos na literatura como associados ao desenvolvimento tumoral e proliferação em CECP (MCM2, CDC6, CDNA2 e PKMYT1) com expressão elevada, e miRNAs preditos como reguladores destes genes menos expressos no tecido tumoral.

Figura 1: Histograma de frequência de uso das ferramentas de predição de interação entre miRNAs e mRNAs, nos anos de 2018 a 2023



Legenda: no eixo X, encontram-se as ferramentas utilizadas pelos estudos pesquisas. No eixo Y, número de vezes que tal ferramenta foi utilizada dentro os artigos

DISCUSSÃO

Genes como o CDKN1C (p57) e PIK3R1 foram relatados tendo menor expressão em tecido tumoral de CECP (Fan et al., 2006; Wang et al., 2020), sendo sua menor expressão associada com tamanho tumoral avançado e metastase linfonodal. MicroRNAs encontrados com maior expressão em tecido tumoral (miR-24-3p, -107, -424-5p, -590-5p e -603) tiveram esses genes preditos como seus alvos concordando em duas das quatro ferramentas de predição utilizadas neste estudo. Similar, genes anteriormente descritos como estando com maior expressão em CECP e estando relacionados com o desenvolvimento tumoral, como PKMYT1, CCNA2, CDC6, MCM2, WNT7B e WNT4 e genes da via PI3K/AKT (LAMC2, LAMB2 e ITGA6) (Feng et al., 2008; Cai et al., 2012; Saleh et al., 2019; Wang et al., 2020), foram preditos como alvos de miRNAs encontrados positivamente regulado em tecido tumoral.

O miR-150-5p tem sido apontado como um miRNA supressor de tumor no carcinoma de cabeça e pescoço, sua expressão relatada diminuída em tecido de carcinoma de nasofaringe, tendo correlação inversa com genes relacionados a tumorigênese e correlação com menor taxa de sobrevivência global (Koshizuka et al., 2017; Li et al., 2021). O miR-150-5p também apresentou regulação negativa no tecido tumoral, acompanhado da maior expressão de preditos como seus alvos. Do mesmo modo, o miR-612 parece desempenhar um papel na supressão tumoral. A expressão deste miRNA foi reportada menor no tecido tumoral de pacientes com CECP quando comparado ao tecido adjacente (Xie et al., 2019). Os dados mostraram uma diminuição na expressão de miR-612 no tecido tumoral em comparação com o tecido adjacente, em conjunto, seus genes alvos foram encontrados com expressão elevada em tecido tumoral.

CONCLUSÃO

As interações entre miRNAs e mRNAs avaliadas neste estudo corroboram com achados da literatura e contribuem para o conhecimento acerca de mecanismos relacionados com a progressão deste tipo tumoral.

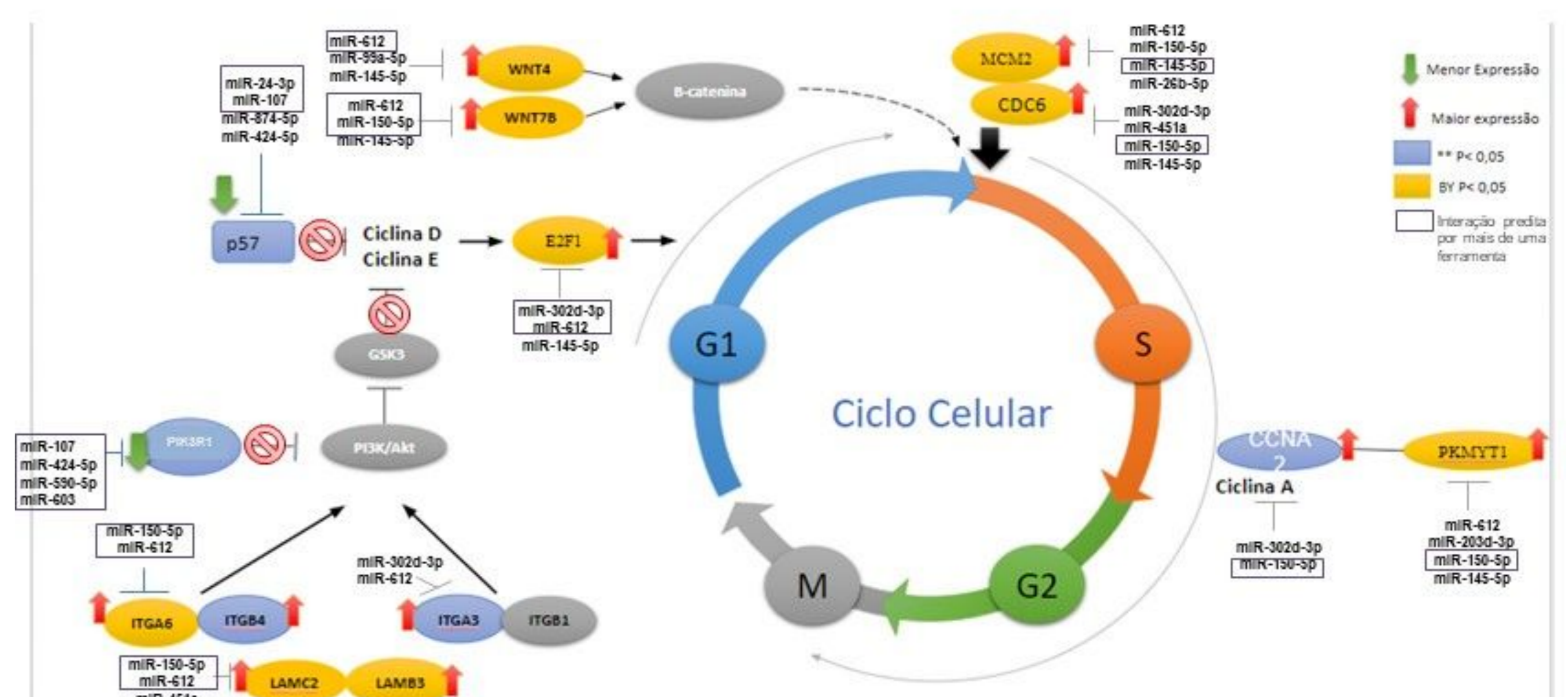
REFERÊNCIAS

- BARTEL, D. P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116, n. 2, p.281-297, 2004.
- CAI, Kaigui; LUO, Ying; LI, Lixiang; LIU, Yuehui. [Expression and significance of MCM2, Ki-67 and Rb protein in laryngeal squamous cell carcinomas]. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* ., [S.L.], v. 26, n. 9, p. 425-428, 2012.
- FAN, Guo-Kang; CHEN, Jun; PING, Feiyun; GENG, Yanhua. Immunohistochemical analysis of P57(kip2), p53 and hsp60 expressions in premalignant and malignant oral tissues. *Oral Oncology*, [S.L.], v. 42, n. 2, p. 147-153, fev. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2005.06.017>
- FENG, Chong-Jin; LI, Hui-Jun; LI, Jian-Na; LU, Yong-Jun; LIAO, Gui-Qing. Expression of Mcm7 and Cdc6 in Oral Squamous Cell Carcinoma and Precancerous Lesions. *Anticancer Research*, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 3763-3770, 30 set. 2008.
- KOSHIZUKA, K.; NOHATA, N.; HANAZAWA, T.; KIKAWA, N.; ARAI, T.; OKATO, A.; FUKUMOTO, I.; KATADA, K.; OKAMOTO, Y.; SEKI, N.. Deep sequencing-based microRNA expression signatures in head and neck squamous cell carcinoma: dual strands of pre-mir-150 as antitumor mirnas. *Oncotarget*, v. 8, n. 18, p. 30288–30304, Maio 2017.
- LI, X.; ZHAO, S.; FU, Y.; ZHANG, P.; ZHANG, Z.; CHENG, J.; LIU, L.; JIANG, H.. *Mir-34a-5p functions as a tumor suppressor in head and neck squamous cell cancer progression by targeting flotillin-2*. *International Journal of Biological Sciences*, v. 17, n. 15, p.4327–4339, Out 2021.
- LIAO, D. Z.; SCHLECHT, N. F.; ROSENBLATT, G.; KINKHABWALA, C. M. et al. Association of Delayed Time to Treatment Initiation With Overall Survival and Recurrence Among Patients With Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in an Underserved Urban Population. *JAMA Otolaryngol dHead Neck Surg*, 2019.
- LU, L.; WU, Y.; FENG, M.; XUE, X. et al. A novel sevenmiRNA prognostic model to predict overall survival in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Mol Med Rep*, 20, n. 5, p. 4340-4348, 2019.
- SALEH, Anthony D.; CHENG, Hui; MARTIN, Scott E.; SI, Han; ORMANOGLU, Pinar; CARLSON, Sophie; CLAVIJO, Paul E.; YANG, Xiping; DAS, Rita; CORNELIUS, Shaleeka. Integrated Genomic and Functional microRNA Analysis Identifies miR-30-5p as a Tumor Suppressor and Potential Therapeutic Nanomedicine in Head and Neck Cancer. *Clinical Cancer Research*, [S.L.], v. 25, n. 9, p. 2860-2873, 1 maio 2019. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-18-0716>
- SUNG, H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021.
- WANG, Jian-Xing; JIA, Xin-Ju; LIU, Yan; DONG, Jin-Hui; REN, Xiu-Min; XU, Ou; LIU, Sheng-Hui; SHAN, Chun-Guang. Silencing of miR-17-5p suppresses cell proliferation and promotes cell apoptosis by directly targeting PIK3R1 in laryngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Cell International*, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 2-12, 10 jan. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12935-020-1096-3>
- WANG, Nan; YAN, Honghong; WU, Di; ZHAO, Zheng; CHEN, Xiaoqi; LONG, Qian; ZHANG, Changlin; WANG, Xiaohao; DENG, Wuguo; LIU, Xuekui. PRMT5/Wnt4 axis promotes lymph-node metastasis and proliferation of laryngeal carcinoma. *Cell Death & Disease*, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1-15, 15 out. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-020-03064-x>
- XIE, X.; XIONG, G.; WANG, Q.; GE, Y.; CUI, X. Long non-coding RNA LINC00460 promotes head and neck squamous cell carcinoma cell progression by sponging miR-612 to up-regulate AKT2. *Am J Transl Res*, v. 11, n. 10, p. 6326-6340, Out 2019.

AGRADECIMENTOS

- Apoio pelo Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica (PRONON);
- Este projeto foi financiado pelo Programa de Bolsa de estudos CAPES.

Figura 3: Interações preditas de miRNAs/mRNAs e como atuam no ciclo celular



Legenda: Interações preditas nas ferramentas e possíveis mecanismos de como afetam o ciclo celular

Legenda: A figura “A” mostra as interações pesquisadas nas ferramentas e quais foram comumente vistas em mais de uma ferramenta. A figura “B” é ampliação da interseção entre miRWalk e TargetScan

