

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ микроРНК В МЕЛАНОЦИТАХ И КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА

А.А. Петкевич¹, И.Ж. Шубина¹, А.А. Абрамов², Л.Т. Мамедова¹, И.В. Самойленко¹, М.В. Киселевский¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²ГБУЗ «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого ДЗМ»; Россия, 119620 Москва, ул. Авиаторов, 38

Контакты: Алиса Антоновна Петкевич gluksworld@gmail.com

Поиск маркеров ранней, по возможности доклинической диагностики онкологических заболеваний остается актуальным вопросом современной медицины. Одними из кандидатных молекул на роль подобных маркеров являются микроРНК. МикроРНК представляют собой короткие некодирующие нуклеотидные последовательности, играющие роль эпигенетического регулятора экспрессии генов. В статье освещаются основные особенности биологии и функционирования микроРНК. Особое внимание уделено роли микроРНК в нормальных меланоцитах и в биологическом материале при меланоме.

Ключевые слова: микроРНК, меланома, меланоциты, диагностический маркер

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-3-6-11

MicroRNA EXPRESSION IN MELANOCYTES AND MELANOMA CELLS

A.A. Petkevich¹, I.Zh. Shubina¹, A.A. Abramov², L.T. Mamedova¹, I.V. Samoilenko¹, M.V. Kiselevsky¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²SBIH "NPC specialized medical help for children, Moscow Healthcare Department"; 39 Aviatorov St., Moscow 119620, Russia

Diagnostic biomarkers cancer diagnostics at preclinical stage seem to be a very promising strategy to increase effectiveness of anti-cancer treatment. Currently there are no such biomarkers available for daily routine practice. However, there are some candidate molecules in research that possibly can be used as biomarkers for early diagnosis, one of them is microRNA. MicroRNA is a small, 20–25 bp, non-coding RNA that is highly involved into epigenetic regulation of gene expression. These molecules participate in malignant transformation of normal cells into cancer cells including melanoma. And moreover, definite expression level of some microRNAs are essential for normal differentiation and function of human cells. Changes in microRNA profile are one of the reasons for malignant tumor development. Identification of these changes may help to develop diagnostic systems to start anti-cancer treatment at early stages.

Key words: microRNA, melanocytes, melanoma, diagnostic markers

Введение

МикроРНК (miRNA, miR, microRNA) представляют собой малые некодирующие последовательности (в среднем 18–25 нуклеотидов), которые являются одним из механизмов эпигенетической регуляции, в частности на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Они известны с 1993 г., когда впервые были обнаружены при исследовании мутантных линий нематод *C. elegans* [1]. Последовательности, кодирующие микроРНК, по разным данным, занимают от 1 до 3 % генома млекопитающих, при этом большая часть находится в интронных областях генов [2]. Эти молекулы регулируют экспрессию как минимум половины транскриптома человека путем ингибирования трансляции или запуская процессы деградации микроРНК [3]. В 2005 г. группа ученых во главе с J. Lu [4] выдвинула смелое предположение,

что исследование профиля микроРНК может позволить получить больше информации о состоянии опухолевых клеток, чем выделение значительных участков микроРНК.

По данным базы mirBase [5], сегодня известны более 2000 различных микроРНК, функциональное назначение большинства из которых остается неясным. Было совершено множество попыток найти практическое применение микроРНК: как молекулярный параметр для определения последствий инсульта и последующей тактики ведения больного [6], в качестве терапевтических препаратов [7], в качестве прогностических маркеров или маркеров для ранней доклинической диагностики в онкологии [8, 9]. Однако на данный момент ни один из предложенных вариантов диагностики не дошел до рутинной клинической практики.

Особенно много исследований посвящено возможности применения микроРНК при постановке диагноза или определении тактики лечения меланомы. Меланома является относительно редким типом рака кожи (около 1 %), наряду с этим обладая самыми высокими показателями летальности – до 75 % всех смертельных случаев из-за рака кожи [10]. Показатели заболеваемости меланомой возрастают в течение последних 40 лет, и предполагается, что будут увеличиваться как минимум до 2022 г. [11].

Биология микроРНК

МикроРНК в основном кодируются на интронном или интергенном участках дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [12]. Они транскрибируются в более крупные при-микроРНК (pri-miRNA) ферментом РНК полимеразой II, затем с помощью РНК полимеразы III совместно с ферментами Droscha и *DGCR8* (DiGeorge syndrome critical region 8) – во внутриядерные предшественники микроРНК пре-микроРНК (pre-miRNA), имеющие форму шпильки и состоящие из 70 нуклеотидов. Далее происходит транспорт пре-микроРНК в цитоплазму экспортином-5, где эта молекула превращается в зрелые двойные структуры микроРНК (duplexesRNA, dsRNA) посредством действия ферментного комплекса, включающего белки Дайсер, AGO (argonaute 2) и RBP (transactivation-responsive RNA-binding protein). Механизм действия полученной структуры микроРНК следующий: одна цепочка дуплексной рибонуклеиновой кислоты (РНК) взаимодействует с RISC (RNA-inducing silencing complex), где микроРНК играет роль негативного регулятора трансляции мРНК (матричной РНК). Это осуществляется путем взаимодействия 3'UTR участка или кодирующей последовательности таргетного транскрипта с 2–8 нуклеотидами последовательности зрелой микроРНК. Есть данные [13] о способности микроРНК связываться также и с 5'UTR областью мРНК, при этом может меняться и функция микроРНК: например, микроРНК-10 участвует в повышении уровня трансляции мРНК рибосомального белка, связываясь именно с 5'UTR участком гена. При этом варианты ключевых последовательностей, которые служат для связи микроРНК с мРНК, довольно консервативны, в связи с чем их также используют как критерий для деления микроРНК на различные категории. А. Helwak и др. в 2013 г. показали, что процесс взаимодействия микроРНК с мРНК не так прост и включает не только образование связей с 2–8 нуклеотидами [14]. Более того, минимум 35 % образующихся связей между микроРНК и мРНК происходит без участия 2–8 нуклеотидов, что, возможно, повышает специфичность воздействия микроРНК. Вторая нить дуплексной микроРНК деградирует, хотя уже с 2011 г. появляются данные о том,

что пассажирская цепочка микроРНК также несет ряд функций [15]. Интересен также и тот факт, что микроРНК могут действовать как внутри ядра (приведенный выше пример взаимодействия с RISC), так и в цитоплазме. При этом их роли могут быть различными и не зависеть от локации: микроРНК-9 играет роль супрессора для длинной некодирующей цепочки РНК *MALAT1*, также внутриядерные микроРНК могут связываться с пре-мРНК и ДНК, участвуя и в какой-то степени благоприятствуя процессам альтернативного сплайсинга [16].

Особенности генетической регуляции меланоцитов

В настоящее время известно около 200 генов, задействованных только в созревании и функционировании меланоцитов. К ключевым относятся гены *MITF*, *SOX10* (SRY-box containing gene 10) и *PAX3*. Ген *MITF* (melanogenesis associated transcription factor) отвечает за экспрессию транскрипционного фактора, необходимого для продукции меланина и за экспрессию в меланоцитах фермента DICER, участвующего в формировании молекул микроРНК. К факторам, влияющим на активацию транскрипции данного гена, относят *PAX3* (paired box 3) и *SOX-10* (SRY-box containing gene-10) [17]. *PAX3* также влияет на поддержание стволовых клеток – предшественников меланоцитов [18]. *SOX-10* регулирует дифференциацию мигрирующих из нервного гребня клеток, в том числе меланоцитов, нейронов и клеток глии. Кроме того, данный ген задействован в экспрессии меланогенных ферментов наряду с тем, что может принимать участие в активации экспрессии гена *MITF* [19, 20]. В свою очередь, на каждый из этих генов тем или иным образом могут воздействовать, помимо иных факторов, молекулы микроРНК. Сегодня известно несколько микроРНК, участвующих в миграции, специализации и дифференцировке клеток – предшественников меланоцитов. К известным микроРНК с подобными функциями относятся: микроРНК-140 (участвует в клеточной дисперсии клеток нервного гребня); микроРНК-143 и микроРНК-145 (участвуют в переходе эмбриональной стволовой клетки из состояния плюрипотентности путем взаимодействия с генами *KLF4* (Kruppel-like factor 4), *SOX2* и *ОСТ4* (octamer binding transcription factor 4)). МикроРНК-145 является одной из значимых регуляторных молекул, ответственных за формирование ответа меланоцитов на внешние стимулы: при воздействии на клетки форсколином и ультрафиолетовым излучением исследователи группы Р. Dunoedt и др. (2013) [21] обнаружили изменение в уровне экспрессии 16 различных микроРНК. При этом повышение или понижение уровня экспрессии микроРНК-145 в клетках по сравнению с контролем вызывали повышение или снижение уровня экспрессии генов

SOX9, *MITF*, *TYR*, *TRP1*, *MYO5a*, *RAB27a* и *FSCN1*. Предполагается, что микроРНК-125b является регулятором устойчивого меланогенеза. Среди целевых молекул ее воздействия – ферменты Туг и DCT, являющиеся ключевыми в продукции меланина, при этом обнаружен обратный характер зависимости между концентрациями пигмента и микроРНК-125b [22]. Промоторный участок данной микроРНК метилирован в значительно пигментированных клетках. МикроРНК-145 играет одну из ведущих ролей в регуляции меланогенеза в ответ на внешние стимулы [23]. Также обнаружена зависимость выраженности пигментации от концентрации микроРНК-137, влияющей на уровень экспрессии гена *MITF*, нокаут которого, в свою очередь, оказывается летальным для меланоцитов [24, 25]. Высокий уровень экспрессии микроРНК-192 и микроРНК-194 отмечается в нормальных меланоцитах в сравнении с клетками других типов [26]. Наряду с этим высокий уровень экспрессии в нормальных меланоцитах в сравнении с другими эпителиальными клетками характерен для следующих микроРНК: *let-7* (*let-7a-i*), микроРНК-219a, микроРНК-320a и микроРНК-378, однако их функция на данный момент остается неясной [27].

Возможности применения микроРНК в качестве диагностических, прогностических и предиктивных маркеров при онкологических заболеваниях

В число обязательных качеств любого маркера наряду с другими входят неинвазивность, специфичность и чувствительность, однозначность и адекватная стоимость [28]. В 2007 г. С.Н. Lawrie и др. [29] одними из первых предложили использовать микроРНК как диагностический маркер при В-клеточной лимфоме. В многочисленных работах показана стабильность молекул микроРНК в парафиновых блоках при исследовании гепатоцеллюлярной карциномы [30], рака легкого и меланомы [31–33], рака поджелудочной железы [34], папиллярной карциномы щитовидной железы [35] и опухоли почек [36]. МикроРНК определяются также и в плазме, соскобе с щеки и слюне пациентов, причем ряд микроРНК определяется во всех обозначенных биологических материалах. Это может свидетельствовать о том, что циркулирующие в крови микроРНК происходят из опухолевой ткани и не подвергаются воздействию эндогенных рибонуклеаз [37]. Также плазменные микроРНК стабильны при воздействии определенных внешних факторов (высокое или низкое значение pH, кипячение, разморозка/заморозка, длительное хранение при комнатной температуре) [38]. В свою очередь, молекулы микроРНК могут как свободно находиться в плазме крови, так и быть в составе экзосом, микровезикул размерами 30–120 нм, участвующих в межклеточном взаимодействии.

В ряде исследований было доказано содержание микроРНК в экзосомах, а также их способность при такой форме доставки влиять на физиологию клеток – реципиентов экзосом [39].

Особенности экспрессии микроРНК при меланоме

По данным группы исследователей М.С. Stark и др. (2015), в меланомных линиях клеток ($n = 55$) в сравнении с клеточными линиями солидных опухолей ($n = 34$) изменяется уровень экспрессии 233 из 1898 исследованных микроРНК [40]. Таргетные гены микроРНК при меланоме функционально относятся прежде всего к группам, влияющим на уровень экспрессии, клеточный цикл, репликацию и пролиферацию ДНК. Показано, что при меланоме отмечается повышенный уровень экспрессии минимум 519 генов в клетках метастатических линий и клеточных культурах меланомы человека, среди которых экспрессия гена *ANPEP* значительно повышена (в ~ 5 раз), тогда как уровень экспрессии генов *CFL1* и *MTA2*, наоборот, снижен (первого – до $\sim 0,8$ раза) [41]. Оба последних указанных гена участвуют в регуляции морфологии клеток, что может обуславливать их способность к метастазированию [40]. Впервые влияние микроРНК на процесс канцерогенеза при меланоме было отмечено при изучении функции уже упомянутого белка Dicer, функционирование которого необходимо для выживания дифференцированных клеток, мигрировавших с нервного гребня [20]. В сети взаимодействующих генов, являющихся таргетными для микроРНК, уровень экспрессии которых изменен при меланоме, N. Ding и др. [42] выделяет несколько ключевых, которые взаимодействуют с еще 5 аналогичными генами: *AGO2*, *AKT1*, *APP*, *STAT1*, *KRAS*, *AHR*, *BAK1* и *PARP1*. При этом гены *AKT1*, *KRAS* и *PARP1* регулируются рядом молекул микроРНК, включающим микроРНК-148a-3p, -129-5p, -34a-5p, -363-3p и -374b-5p.

Уровень экспрессии основных представителей семейства микроРНК-34 (-34a, -34b, -34c) при меланоме изменяется по сравнению с группой контроля. В свою очередь, экспрессия этих микроРНК регулируется геном *p53*. Известно, что микроРНК-34a, самая изученная среди всех представителей семейства, участвует в апоптозе, индуцированном *p53*. Данная микроРНК напрямую ингибирует антиапоптотический белок сиртулин 1 (SIRT1). Другой механизм действия микроРНК-34c, способствующий ингибированию роста опухоли, заключается в воздействии через мРНК на экспрессию ряда генов, в числе которых циклинзависимая киназа 4 (cyclin-dependent kinase, CDK4) и CDK6, антиапоптотические белки, такие как BCL2, и белки, ассоциированные с метастазами (MET, Notch, MYC и AXL) [43]. В последнее время появляются данные о корреляции между

экспрессией микроРНК-34а и рецепторами PDL1 (programmed cell death ligand 1). Высокий уровень экспрессии последнего на мембранах иммунокомпетентных клеток онкологических больных в сравнении со здоровыми пациентами имеет негативное прогностическое значение. Характер зависимости экспрессии обратный: при высоких значениях экспрессии микроРНК-34а наблюдается низкое значение экспрессии рецептора PDL1 и наоборот [44]. Уровень экспрессии микроРНК-10b изменяется при меланоме, а также при раке молочной железы и глиобластоме. Изменение уровня экспрессии данной микроРНК может быть обусловлено взаимодействием с ее промотором транскрипционного фактора TWIST 1 (twist related protein 1), в свою очередь, задействованного в формировании фенотипа клеток, свойственного эпителиально-мезенхимальному переходу. МикроРНК-10b также подавляет экспрессию *HOXD10*, что способствует развитию метастатической активности клеток [45]. При меланоме изменяется экспрессия микроРНК-15-16, таргетными генами которой являются *BCL2* (B-cell lymphoma 2), *CDK1*, *ETS1* (26 transformation-specific or E-twenty-six) и *JUN*, которые вовлечены в процесс опухолевого прогрессирования [46]. На мышинной модели было продемонстрировано, что удаление локуса 13q14.3, который содержит кластер опухолевых супрессоров микроРНК-15-16, приводит к развитию автономных лимфопролиферативных заболеваний. У человека течение хронической лимфоцитарной лейкемии часто сопровождается частичной делецией данного локуса [47]. Одновременно при меланоме наблюдается снижение уровня экспрессии микроРНК-125b по сравнению со здоровыми пациентами, при этом никакой ассоциации между уровнем экспрессии данной микроРНК и содержанием пигмента в опухолевых клетках не обнаруживается [23].

МикроРНК – основа нового класса терапевтических препаратов

В 2013 г. компания Mirna Therapeutics начала I фазу клинических испытаний препарата MRX34, представляющего собой аналог микроРНК-34, инкапсулированный в липидные частицы NOV40. Эти частицы способны адгезироваться на поверхности опухолевых клеток за счет способности приобретать положительный заряд поверхности при попадании в среду с низким значением pH, что свойственно опухолевому микроокружению. В экспериментах на мышах были показаны значительное аккумулярование молекул микроРНК-34 в опухолевой ткани и значительный регресс опухолевого процесса. Первая фаза многоцентрового клинического испытания была начата с участием пациентов с первичным раком печени, мелкоклеточным раком легкого, лимфомой,

меланомой, множественной миеломой и раком почки [48]. Исследование включало изучение повышения дозы препарата по определенной схеме, MRX34 вводился в форме внутривенных инъекций. К июню 2016 г. около 99 пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, немелкоклеточным раком легкого и раком предстательной железы также были включены в исследование. К концу испытания 3 пациента, в том числе пациент с акральная меланомой, достигли продолжительного терапевтического ответа, у 14 пациентов наблюдалась стабилизация онкологического процесса (средняя продолжительность 136 дней, диапазон значений 79–386 дней). Первая стадия клинических испытаний была прекращена по причине смерти пациентов от возникших побочных иммунных реакций [49]. Многообещающие результаты на мышинной модели были показаны при воздействии на метастатическую меланому молекулами микроРНК-26а и микроРНК-let-7а, при этом микроРНК-26а значительно замедлила рост опухолевых клеток *in vivo*, отчасти посредством воздействия на уровень экспрессии *MITF* [50]. Также перспективными в качестве терапевтических молекул являются микроРНК-200с и микроРНК-579-3р, которые обладают функциями онкосупрессоров и могут усиливать действие препаратов, ингибирующих MAPK-сигнальный путь, а также противодействуют развитию лекарственной резистентности клеток меланомы [51].

Заключение

МикроРНК, являясь структурами с высокой функциональной и информационной нагрузкой, отражают некоторые генетические изменения в клетках организма. Таким образом, они теоретически могут выполнять роль биомаркеров злокачественных заболеваний, в том числе меланомы, еще на доклиническом этапе [50]. К одним из наиболее перспективных в качестве диагностических маркеров микроРНК при меланоме, определяемым в сыворотке крови, можно отнести микроРНК-211-5р, -204-5р, -145-5р, -146а-5р, -34а-5р, -514а-3р и -129а-5р. Разумеется, в данном случае речь может идти только об использовании панели нескольких микроРНК и изменении их соотношения в сравнении с данными, полученными в контрольной группе. В качестве диагностических маркеров у микроРНК есть определенные преимущества – молекула ввиду своего строения довольно стабильна, что позволяет выделять ее из всех биологических жидкостей, в том числе после заморозки (соскоб со щеки, слюна, плазма, кровь, моча и т. д.), причем молекулы микроРНК могут содержаться в двух формах – в качестве свободных микроРНК и в составе экзосом. Для обоих случаев существуют стандартные протоколы исследований. Однако ввиду проблем специфичности и некоторых трудно-

стей аналитического этапа (вопрос нормализации полученных данных полимеразной цепной реакции) стремление к использованию микроРНК в качестве инструмента первичной диагностики в по-

следнее время снизилось, но одновременно с этим для микроРНК открываются другие, более реальные перспективы — мониторинг проводимой терапии и использование в качестве терапевтических молекул.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Lee R., Feinbaum R., Ambros V. et al. A short history of a short RNA. *Cell* 2004;116:89–92. DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00035-2.
- Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2006;128(2):281–97.
- Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004;431(7006):350–5. DOI: 10.1038/nature02871.
- Lu J., Getz G., Miska E.A. et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005;435:834–8. DOI: 10.1038/nature03702.
- miRBase: the microRNA database [Сайт]. URL: <http://www.mirbase.org/>
- Hunsberger J.G., Fessler EB., Wang Z. et al. Post-insult valproic acid-regulated microRNAs: potential targets for cerebral ischemia. *Am J Transplant Res* 2012;4(3):316–22. PMID: 22937209.
- Ajay F.C., Raman P.K., Gunpreet K. et al. MicroRNA therapeutics: Discovering novel targets and developing specific therapy. *Perspect Clin Res* 2016;7(2):68–74. DOI: 10.4103/2229–3485.179431.
- Wang J., Chen J., Sen S. MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics. *J Cell Physiol* 2016;231(1):25–30. DOI: 10.1002/jcp. 25056.
- Witwer K.W. Circulating microRNA biomarker studies: pitfalls and potential solutions. *Clin Chem* 2015;61(1):56–63. DOI: 10.1373/clinchem.2014.221341.
- Berezikov E., Chung W.J., Willis J. Mammalian Mirtron Genes. *Mol Cell* 2007;28(2):328–36. DOI: 10.1016/j. molcel. 2007.09.028.
- American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2016*. Atlanta: American Cancer Society, 2016. Pp. 1–9.
- Gu W., Xu Y., Xie X. et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites *RNA* 2014;20(9):1369–75. DOI: 10.1101/gr.089367.108.
- Helwak A., Kudla G., Dudnakova T. et al. Mapping the human miRNA interactome by CLASH reveals frequent noncanonical binding. *Cell* 2013;153(3):654–65. DOI: 10.1016/j.cell.2013.03.043.
- Федянин М.Ю., Игнатова Е.О., Тюляндин С.А. Роль микро-РНК при солидных опухолях. Злокачественные опухоли 2013;1:3–14. DOI: 10.18027/2224-5057-2013-1-3-14. [Fedianin M.Yu., Ignatova E.O., Tyulyandin S.A. Micro-RNA in solid tumors. *Zlokachestvennie Opukholi = Malignant tumors* 2013;1:3–14 (In Russ.)].
- Boutz P.L., Chawla G., Stoilov P. et al. MicroRNAs regulate the expression of the alternative splicing factor nPTB during muscle development. *Genes Dev* 2007;21:71–84. DOI: 10.1101/gad.1500707.
- Whiteman D.C., Green A.C., Olsen A. et al. The Growing Burden of Invasive Melanoma: Projections of Incidence Rates and Numbers of New Cases in Six Susceptible Populations through 2031. *J Invest Dermatol* 2016;136(6):1161–71. DOI: 10.1016/j.jid.2016.01.035.
- Golianek-Whysall K., Sweetman D., Abu-Elmagd M. et al. MicroRNA regulation of the paired-box transcription factor Pax3 confers robustness to developmental timing of myogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(29):11936–41. DOI: 10.1073/pnas.1105362108.
- Elworthy S., Lister J.A., Carney T.J. et al. Transcriptional regulation of mitfa accounts for the sox10 requirement in zebrafish melanophore development. *Development* 2003;130(12):2809–18. PMID: 12736222.
- Nie X., Wang Q., Jiao K. et al. Dicer activity in neural crest cells is essential for craniofacial organogenesis and pharyngeal arch artery morphogenesis. *Mech Dev* 2011;128(3–4):200–7. DOI: 10.1016/j.mod.2010.12.002.
- Dynoodt P., Mestdagh P., van Peer G. et al. Identification of miR-145 as a key regulator of the pigmentary process. *J Invest Dermatol* 2013;133(1):201–9. DOI: 10.1038/jid.2012.266.
- Wandler A., Riber-Hansen R., Hager H. et al. Quantification of microRNA-21 and microRNA-125b in melanoma tissue. *Melanoma Res* 2017;27(5):417–28. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000374.
- Kim K.H., Bin B.H., Kim J. et al. Novel inhibitory function of miR-125b in melanogenesis. *Pigment Cell Melanoma Res* 2014;27:140–4. DOI: 10.1111/pcmr.12179.
- Li Y., Huang Q., Shi X. et al. MicroRNA 145 may play an important role in uveal melanoma cell growth by potentially targeting insulin receptor substrate-1. *Clin Med J* 2014;127(8):1410–6. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 0366–6999.20133206.
- Levy C., Khaled M., Robinson K.C. et al. Lineage-specific transcriptional regulation of DICER by MITF in melanocytes. *Cell* 2012;141:994–1005. DOI: 10.1016/j.Cell. 2010.05.004.
- Caramuta S., Eghazi S., Rodolfo M. MicroRNA expression profiles associated with mutational status and survival in malignant melanoma. *J Invest Dermatol* 2010;130(8):2062–70. DOI: 10.1038/jid.2010.63.
- Banerjee J., Chan Y.C., Chandan K. et al. MicroRNAs in skin and wound healing. *Physiol Genomics* 2011;43(10):543–56. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00157.2010.
- Lawrie C.H. MicroRNAs and haematology: small molecules, big function. *Br J Haematol*. 2007;137(6):503–12. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06611.x.
- Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx* 2004;1(2): 182–8. DOI: 10.1602/neurorx.1.2.182.
- Toffanin S., Hoshida Y., Lachenmayer A. et al. MicroRNA-based classification of hepatocellular carcinoma and oncogenic role of miR-517a. *Gastroenterology*. 2011;140(5):1618–28. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.009.
- Barshack I., Lithwick-Yanai G., Afek A. et al. MicroRNA expression differentiates between primary lung tumors and metastases to the lung. *Pathol Res Pract*. 2010;206(8):578–84. DOI: 10.1016/j.prrp.2010.03.005.
- Власов В.В., Рыкова Е.Ю., Пономарева А.А. и др. Циркулирующие микроРНК крови при раке легкого: пер-

- спективы использования для диагностики, прогноза и оценки эффективности терапии. Молекулярная биология 2015;49 (1):55–66. DOI: 10.7868/S0026898415010164. [Vlasov V.V., Rykova E.U., Ponomareva A.A. et al. Circulating blood micro-RNA in lung cancer: perspectives for the diagnostic and prognostic usage and treatment effectiveness assessment. Molekulyarnaya biologiya = Molecular biology 2015;49(1):55–66 (In Russ.)].
32. Швецова Ю.И., Палкина Н.В., Аксененко М.Б. и др. Анализ экспрессии микро-РНК при меланоме кожи. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2014;3:43–6. [Shvetsova U.I., Palkina N.V., Akseenko M.B. et al. Analysis of micro-RNA expression in skin melanoma. Onklogiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena = Oncology. Journal of P.A. Hertsen. 2014;3:43–6 (In Russ.)].
33. Ali H., Saleh S., Sethi S. et al. MicroRNA profiling of diagnostic needle aspirates from patients with pancreatic cancer. Br J Cancer 2012;107(8):1354–60. DOI: 10.1038/bjc.2012.383.
34. Tetzlaff M.T., Liu A., Xu X. et al. Differential expression of miRNAs in papillary thyroid carcinoma compared to multinodular goiter using formalin fixed paraffin embedded tissues. Endocrine Pathol 2007;18(3):163–73. DOI: 10.1007/s12022 007 0023 7.
35. Fridman E., Dotan Z., Barshack I. et al. Accurate molecular classification of renal tumors using microRNA expression. J Mol Diagn 2010;12 (5):687–96. DOI: 10.2353/jmoldx.2010.090187.
36. Mitchell P.S., Parkin R.K., Kroh E.M. et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105 (30):10513–8. DOI: 10.1073/pnas.0804549105.
37. Lin S., Gregory R.I. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. Nat Rev Cancer 2015;15(6):321–33. DOI: 10.1038/nrc3932.
38. Mitchell P.S., Parkin R.K., Kroh E.M. et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(30):10513–8.
39. Ding N., Wang S., Qiong Y. et al. Deep sequencing analysis of microRNA expression in human melanocyte and melanoma cell lines. Gene 2015;572(1):135–45. DOI: 10.1016/j.gene.2015.07.013.
40. Stark M.S., Bonazzi V.F., Boyle G.M. et al. MiR-514a regulates the tumour suppressor NF1 and modulates BRAF sensitivity in melanoma. Oncotarget 2015; Advance Online Publications: P. 3.
41. Brandhagen A.N., Chelsea R.T., Tara M.U. et al. Cytostasis and morphological changes induced by mifepristone in human metastatic cancer cells involve cytoskeletal filamentous actin reorganization and impairment of cell adhesion dynamics. BMC Cancer 2013;13:35–9. DOI: 10.1186/1471-2407-13-35.
42. Misso G., Di Martino M.T., De Rosa G. et al. Mir-34: a new weapon against cancer? Mol Ther Nucleic Acids. 2014;3:e194. DOI: 10.1038/mtna.2014.47.
43. Cortez M.A., Ivan C., Valdecanas D. et al. PDL1 regulation by p53 via miR-34. J Natl Cancer Inst. 2015;108(1):182–6. DOI: 10.1093/jnci/djv303.
44. Bloomston M., Frankel W.L., Petrocca F. et al. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. JAMA 2007;297(17):1901–8. DOI: 10.1001/jama.297.17.1901.
45. Mattia G., Errico M.C., Felicetti F. Constitutive activation of the ETS-1-miR-222 circuitry in metastatic melanoma. Pigment Cell Melanoma Res. 2011;24(5):953–65. DOI: 10.1111/j.1755-148X.2011.00881.x.
46. Cutrona G., Matis S., Ferrarini M. Effects of miRNA-15 and miRNA-16 expression replacement in chronic lymphocytic leukemia: implication for therapy. Leukemia 2017;31:1894–904. DOI: 10.1038/leu.2016.394.
47. Beg M.S., Brenner A.J., Sachdev J. Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. Invest New Drugs 2017;35(2):180–8. DOI: 10.1007/s10637 016 0407-y.
48. A Multicenter Phase I Study of MRX34, MicroRNA miR-RX34 Liposomal Injection. U. S. National Library of Medicine [Сайт]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01829971>.
49. Киселева Я.Ю., Радько С.П., Бодоев Н.В. Циркулирующие микроРНК как диагностические маркеры онкологических заболеваний. Вестник Российской академии естественных наук 2015;5:79–85. [Kiseleva Ya.Yu., Radko S.P., Bodoev N.V. Circulating micro-RNA as a diagnostic markers of the cancer. Vestnik Rossiyskoy akademii estestvennyh nauk = Herald of the Russian Academy of Sciences 2015;5:79–85 (In Russ.)].
50. Qian H., Yang C., Yang Y. MicroRNA-26a inhibits the growth and invasiveness of malignant melanoma and directly targets on MITF gene. Cell Death Discov 2017;3:17028–35. DOI: 10.1038/cddiscovery.2017.28.
51. Fattore L., Costantini S. MicroRNAs in melanoma development and resistance to target therapy. Oncotarget 2017;8(13):22262–78. DOI: 10.18632.

ORCID авторов / ORCID of authorsИ.Ж. Шубина / I.Zh. Shubina: <http://orcid.org/0000-0002-9374-3158>И.В. Самойленко / I.V. Samoilenko: <http://orcid.org/0000-0001-7150-5071>М.В. Киселевский / M.V. Kiselevsky: <http://orcid.org/0000-0002-0132-167X>**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.