Review Article

The Interaction between LncRNAs and Epigenetic Factors in Gastric Cancer Progression

Negin Raei [1], Reza Safaralizadeh [1,*], Mohammad Ali Hossein Pour Feizi [1], Saeid Latifi-Navid [2], Abbas Yazdanbod [3], Farhad Pourfarzi [3]

[1] Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] Department of Cell and Molecular Biology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[3] Digestive Disease Research Center, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

ABSTRACT

Gastric cancer (GC) is one of the most common malignancies in East Asian countries and the second cause of cancer-related deaths worldwide. Aberrant expression of long non-coding RNAs (lncRNAs) plays a crucial role in the development of GC. These molecules take part in various biological processes such as apoptosis, invasion, cell death markers, reprogramming of pluripotent stem cells, and genomic imprinting, which show that lncRNAs play an essential role in eukaryotic gene expression. LncRNAs interact with epigenetic factors including DNA methylases, histone modifiers, miRNAs, and chromatin remodeling complex, which lead to altered gene expression and cancer progression. Because the symptoms of GC usually develop in advanced stages, it is important to identify factors that are of clinical value for early diagnosis and prognosis of the disease. Therefore, in this review article, lncRNAs whose expression levels are increased in GC tissue and by interacting with epigenetic factors may be involved in the development of GC are discussed.

Keywords: LncRNA, Epigenetic, and Gastric cancer

please cite this paper as:
Raei N, Safaralizadeh R, Hossein Pour Feizi MA, Latifi-Navid S, Yazdanbod A, Pourfarzi F. The Interaction between LncRNAs and Epigenetic Factors in Gastric Cancer Progression. *Govaresh* 2020.25:6-16.

Corresponding author:
Reza Safaralizadeh, PhD
Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences.University of Tabriz, Tabriz, Iran.
Tel: + 98 41 33392694
Fax: + 98 41 33356027
E-mail: safaralizadeh@tabrizu.ac.ir

Received: 24 Jul. 2019
Edited: 18 Jan 2020
Accepted: 19 Jan 2020

مقاله مروری

میانکنش RNA های بلند غیر کدکننده با عوامل اپی ژنتیکی در پیشرفت سرطان معده

نگین راعی [۱]، رضا صفرعلیزاده [۱،*]، محمدعلی حسینپورفیضی [۱]، سعید لطیفی نوید [۲]، عباس یزدانبد [۳]، فرهاد پورفرضی [۳]

[۱] گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[۲] گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[۳] مرکز تحقیقات بیماری های گوارش، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

چکیده

سرطان معده[1] یکی از بدخیمی های شایع در کشورهای آسیای شرقی و به عنوان دومین عامل مرگ و میر در جهان می باشد. بیان نابجای RNA های بلند غیرکدکننده[2] نقش مهمی در بروز سرطان معده ایفا می کنند. این مولکول ها در فرایندهای بیولوژیکی مختلف مانند آپوپتوز، تهاجم، نشانگری برای مرگ سلول، برنامه ریزی مجدد سلول های بنیادی پرتوان و نشانه گذاری ژنومی شرکت می کنند و نشاندهنده ی این است که lncRNA ها نقش اساسی در تنظیم بیان ژن های یوکاریوت ایفا می کنند. lncRNA ها با عوامل اپی ژنتیکی شامل DNA متیلازها، تغییردهنده های هیستونی، miRNA ها و کمپلکس بازآرایی کروماتین میانکنش می دهند که منجر به تغییر بیان ژن و پیشرفت سرطان می شوند. به دلیل اینکه علایم سرطان معده معمولا در مراحل پیشرفته بروز می کند، شناسایی فاکتورهایی که ارزیابی آنها جهت تشخیص زودرس و پیش آگهی بیماری ارزش بالینی دارد، اهمیت بالایی دارد. از این رو، در این مقاله مروری، LncRNA هایی که میزان بیان آن ها در بافت سرطان معده افزایش یافته و از طریق میانکنش با فاکتورهای اپی ژنتیکی می توانند در بروز سرطان معده نقش داشته باشند، مورد بررسی قرار می گیرند.

کلید واژه: RNA های بلند غیر کدکننده، اپی ژنتیک و سرطان معده.

گوارش/ دوره ۲۵، شماره ۱/ بهار ۱۳۹۹/ ۱۶-۶

1. Gastric cancer
2. Long Non-coding RNAs

***نویسنده مسئول:** رضا صفرعلیزاده
تبریز، دانشگاه تبریز، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی
تلفن: ۳۳۳۹۲۶۹۴-۰۴۱
نمابر: ۳۳۳۵۶۰۲۷-۰۴۱
پست الکترونیک: safaralizadeh@tabrizu.ac.ir

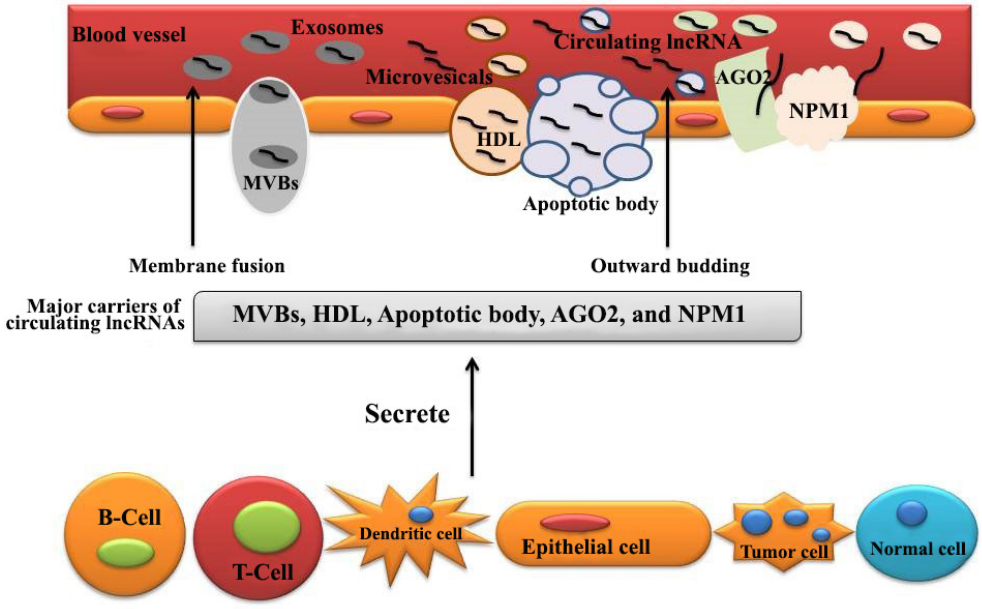
تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۰۲
تاریخ اصلاح نهایی: ۹۸/۱۰/۲۸
تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۲۹

زمینه و هدف:

سرطان معده یکی از بدخیمی های شایع در کشورهای آسیای شرقی و به عنوان دومین عامل مرگ و میر در جهان می باشد. در اکثر بیماران، سرطان معده در مراحل پیشرفته که تهاجم و متاستاز رخ داده است، شناسایی می شود. عوامل موثر در ابتلا به سرطان معده شامل ژنتیک میزبان، اپی ژنتیک، عفونت هلیکوباکترپیلوری که مورد تائید آژانس بین المللی تحقیقات سرطان[1] است، سلول های بنیادی مشتق از مغز استخوان و فاکتورهای محیطی (سیگار کشیدن، مصرف الکل، تغذیه نامناسب و غیره) می باشد.(۶-۱) برداشتن معده با عمل جراحی به عنوان تنها راهکار درمانی می باشد. علی رغم تلاش ها در زمینه های مختلف، موفقیت خیلی کمی در نجات و درمان بیماران حاصل شده است. پیشرفت در زمینه های درمانی مناسب که به منظور افزایش بقا انجام می شود، محدود شده است زیراکه ساز و کارهایی که منجر به گسترش سرطان معده می شوند ناشناخته هستند، بنابراین شناسایی یک سری ساز و کارهای مولکولی که منجر به پیشرفت سرطان معده می شود در تشخیص راهکار درمانی مناسب یک امر ضروری می باشد.(۷و۸)

اخیرا مطالعات نشان داده اند که اغلب ژنوم پستانداران رونویسی می شوند اما تعداد اندکی از آن ها ژن های کدکننده ی پروتئین هستند.(۹) امروزه یک سری RNA هایی شناسایی شده اند که تحت عنوان RNA های بلند غیر کدکننده هستند و نقش اساسی در سرطان زایی و رشد تومور دارند.(۱۰و۱۱) بررسی ژنوم انسان نشان داده است که تنها ۲۰۰۰۰ ژن های کدکننده ی پروتئین در ژنوم انسان وجود دارد که کمتر از ۲٪ ژنوم انسان را شامل می شود و کسر قابل توجهی از ژنوم انسان به صورت lncRNA ها رونویسی می شوند. lncRNA ها طولی بلندتر از ۲۰۰ نوکلئوتید دارند.(۱۲) lncRNA ها به دلیل خاصیت غیر کدکننده ی خودشان به عنوان noise رونویسی شناسایی می شوند.(۱۳) تابحال ۳۰۰۰ lncRNA شناسایی

1. International Agency for Research on Cancer



LncRNA های خارج سلولی، خودشان را در وزیکول های غشایی محصور می کنند تا اینکه ترشح شده و نسبت به RNAase مقاوم شوند؛ مثل اگزوزوم ها (Exosomes) و میکرووزیکول ها (Macrovesicles) که توسط جوانه زنی از اجسام چند وزیکولی (Multivesicular Bodies=MVB) از مسیر اندوسیتوز تشکیل می شوند. از طریق ادغام MVB ها با غشای پلاسمایی، ترشح اگزوزوم ها به صورت مداوم انجام می گیرد. RNA های خارج سلولی همچنین از بافت های توموری (Tumor cell) و سلول ها (B-Cell، T-Cell، Dendritic cell، Epithelial cell و Normal cell) آزاد می شوند و در لیپوپروتئین ها با چگالی بالا (HDL) یا اجسام آپوپتوزی (Apoptotic body) احاطه می شوند و یا اینکه به کمپلکس های پروتئینی مثل کمپلکس آرگونات (Ago-) و نوکلئوپلاسمین (NMP1-) متصل می شوند.

شکل ۱: منشا lncRNA های در حال گردش و نحوه ی انتقال آن ها به فضای خارج سلولی

شده است که به طور گسترده در فرایندهای بیولوژیکی شرکت می کنند (مانند آپوپتوز، تهاجم، نشانگری برای مرگ سلول، برنامه ریزی مجدد سلول های بنیادی پرتوان، نشانه گذاری ژنومی و غیره) (۱۴و۱۵)، که بیانگر نقش اساسی آن ها در تنظیم بیان ژن های یوکاریوتی می باشد.(۱۶) به هم خوردن تنظیم lncRNA ها در ارتباط با بیماری های انسانی، به ویژه سرطان می باشد، بنابراین شناسایی lncRNA های مرتبط با سرطان و شناسایی مسیرهای مولکولی و عملکرد بیولوژیکی آن ها در تشخیص بیولوژی مولکولی تومور و پیشرفت آن ضروری است.(۱۵, ۱۹-۱۷) نقش lncRNA ها در پیشرفت سرطان به طور ویژه مطالعه شده است، که به طور عمده از طریق تنظیم اپی ژنتیکی شامل DNA متیلازها، عوامل تغییر دهنده ی هیستونی و miRNA ها، فعال کردن مسیرهای انکوژنی و میانکنش با انواع RNA ها می باشد.(۲۰و۲۱) lncRNA ها می توانند با کمپلکس بازآرایی کروماتین میانکنش دهند که معمولا فاکتورهای تغییر دهنده ی کروماتین را به کار می گیرند و این عمل منجر به تغییر بیان ژن می شود و در دودمان سلولی به ارث می رسد.(۲۲)

منشا lncRNA های در حال گردش

ساز و کارهایی که منجر به ترشح lncRNA ها و انتقال آن ها به فضای خارج سلولی می شود به طور کامل شناسایی نشده است. برخی از محققین گمان می کنند که ترشح lncRNA ها همانند ترشح miRNA ها می باشد. بر اساس مطالعات مرتبط، lncRNA ها ممکن است که به سه روش نشان داده شده در شکل ۱ ترشح شوند.(۲۳)

۱) RNA های خارج سلولی، خودشان را در وزیکول های غشایی محصور می کنند تا اینکه ترشح شوند و نسبت به RNAase مقاوم شوند مثل اگزوزوم ها و میکرووزیکول ها. اگزوزوم ها و میکرووزیکول ها قطرشان در حدود ۱۰۰-۵۰ nm است که توسط جوانه زنی از اجسام چند وزیکولی[1] از مسیر اندوسیتوز تشکیل می شوند، سپس از طریق ادغام MVB ها با غشای پلاسمایی، ترشح اگزوزوم ها به صورت مداوم انجام می گیرد.(۲۴) در ابتدا اگزوزوم ها به صورت پروتئین های غشایی شناسایی شده بودند که هیچ عملکردی نداشتند.(۲۵) هرچند که مطالعات اخیر نشان دادند که اگزوزوم ها و میکرووزیکول ها RNA و پروتئین ها را احاطه می کنند و اطلاعات مربوط به رونویسی و ترجمه را انتقال می دهند. هانگ[2] و همکاران (۲۶) مطالعه ی عمیقی برای شناسایی و طبقه بندی RNAهای اگزوزومی انجام دادند و درنهایت مشاهده کردند که lncRNA ها در حدود ۳/۳۶٪ از RNA های اگزوزومی را تشکیل می دهند. مطالعه ی دیگری نشان داد که تفاوتی بین میزان lncRNA ها در پلاسما و اگزوزوم وجود ندارد این یافته ها نشان می دهد که lncRNA ها عمدتا در اگزوزوم هستند و اگزوزوم ها به عنوان محافظی برای lncRNA ها در پلاسما هستند.(۲۷)

۲) RNA های خارج سلولی از بافت های توموری و سلول ها آزاد می شوند، رن[3] و همکاران (۲۸) نشان دادند که میزان lncRNA ها در پلاسما به شدت افزایش یافته است. علاوه بر این میزان بیان lncRNA ها در پلاسمای بیماران بعد از عمل نسبت به قبل از عمل کاهش یافته و نشان می دهد که

1. Multivesicular Bodies (MVB)
2. Huang
3. Ren

lncRNA ها از سلول های توموری مشتق می شوند و می توانند به جریان خون وارد شوند. در کنار سلول های توموری در حال گردش و ابتدایی، lncRNA های در حال گردش چندین منبع دارند مثل سلول های نرمال کنار بافت سرطانی، سلول های ایمنی و سلول های خونی دیگر.(۲۷و۲۹)

۳) RNA های خارج سلولی در لیپوپروتئین ها با چگالی بالا (HDL) و یا اجسام آپوپتوزی احاطه می شوند و یا اینکه به کمپلکس های پروتئینی متصل می شوند. رایج ترین کمپلکس پروتئینی، کمپلکس آرگونات (Ago-)miRNA و نوکلئوپلاسمین (NMP-۱)miRN-۱ است. (۳۱،۳۰) عملکردهای بیولوژیکی lncRNA های درحال گردش و احتمال اینکه این lncRNA ها به عنوان نشانگر زیستی غیرتهاجمی ویژه باشند، به طور کامل شناسایی نشده است. ساز و کار هایی که بیان lncRNA های درحال گردش را تنظیم می کنند نامعلوم است. اگر بخواهیم ارتباط بین بیان lncRNA های درحال گردش و میزان بیان آن ها در سرطان را شناسایی کنیم نیاز به مطالعات و تحقیقات بیشتر در آینده دارد.(۲۳)

lncRNA ها به عنوان عاملی در تغییرات اپی ژنتیکی

اپی ژنتیک به عنوان علمی است که شامل تغییرات ارثی در DNA می باشد که ساختار کروماتین را در بر می گیرد و شامل تغییرات در توالی DNA نمی باشد. این تغییرات می تواند سیستم رونویسی سلول را شامل شود که منجر به خاموشی بیان یک ژن خاص برای چندین نسل می شود هر چند که این تغییرات متفاوت از تغییراتی مثل جهش در ژنوم است که منجر به ایجاد توالی جدید می شود. نشانه گذاری ژنومی یک پدیده ی ژنتیکی ارثی می باشد (۳۲) که توسط آن ژن های خاص براساس الگویی خاص بیان می شوند بسته به اینکه کدام آلل از کدام والد به ارث رسیده است.(۳۳) ژن های نشانه گذاری[1] شده توسط عواملی که تحت عنوان نواحی کنترل نشانه گذاری هستند نشانه گذاری می شوند که نقش اساسی در این فرایند دارند.(۳۴) نشانه گذاری ژنومی در سلول های زاینده (اسپرم و تخمک) والدین اتفاق می افتد و این حالت نشانه گذاری شده در طی تقسیمات میتوزی در سلول های سوماتیک حفظ می شود.(۳۵) پیشرفت سرطان معده می تواند توسط فاکتورها و ساز و کار های مختلفی ایجاد شود که از جمله آن ها می توان به LncRNA ها اشاره کرد.(۲۲) نقش lncRNA ها در پیشرفت سرطان به طور ویژه مطالعه شده است که به طور عمده از طریق تنظیم اپی ژنتیکی، فعال کردن مسیر های انکوژنی و میانکنش با انواع RNA ها در پیشرفت سرطان شرکت می کنند. lncRNA ها می توانند با کمپلکس بازآرایی کروماتین میانکنش دهند که معمولا فاکتور های تغییر دهنده ی کروماتین مثل DNA متیل ترانسفرازها را به کار می گیرند و این عمل منجر به تغییر بیان ژن می شود و در دودمان سلولی به ارث می رسد.(۳۶) DNA رترو ویروسی وارد شده در ژنوم به عنوان عامل اساسی در ایجاد بیماری و وکتور ارزشمندی در انتقال ژنوم می باشد، هر چند که این DNA به عنوان عامل اساسی در خاموش سازی رونویسی می باشد بنابراین تنظیم اپی ژنتیکی کروماتین نقش اساسی در تنظیم بیان ژن، رشد عادی، نمو جنین، خاموش سازی کروماتین و حتی ایجاد بیماری ایفا می کند.

یکی از lncRNA هایی که در پیشرفت سرطان از طریق تنظیم اپی ژنتیکی شرکت می کند HOTAIR است.(۳۹-۳۷) این lncRNA از طریق میانکنش با کمپلکس PRC۲ که یک کمپلکس بازآرایی اساسی کروماتین است در خاموشی بیان ژن شرکت می کند.(۴۰) به هم خوردن تنظیم HOTAIR منجر به بکارگیری زیر واحد های PRC۲ در ناحیه پروموتری ژن های مهارکننده ی تومور می شود که نهایتا منجر به خاموشی این ژن ها و مهار پسرفت تومور می شود. مطالعات نشان داده اند که در کنار HOTAIR، lncRNA XIST و lncRNA ANRIL نیز با ساز و کار مشابه با PRC۲ میانکنش می دهند. مطالعات نشان داده اند که بیش از ۲۰۰ lncRNA در فرآیند نشانه گذاری ژنومی شرکت می کنند.(۴۱) lncRNA kncq۱ot۱، lncRNA H۱۹، lncRNA TARID، lncRNA ASIDHRS۴ و lncRNADACOR۱ به عنوان lncRNA هایی شناسایی شده اند که در موقعیت یابی نوکلئوزومی از طریق کمپلکس های SWI/SNF شرکت می کنند. علاوه بر این lncRNA NET-۱، lncRNA UCA۱، lncRNA HIF۱A-AS۱ و lncRNA Evf۲ نیز از طریق میانکنش با SWI/SNF در موقعیت یابی نوکلئوزومی[2] شرکت می کنند.(۴۳،۴۲) lncRNA Firre در غیر فعال سازی کروموزوم X می تواند شرکت کند lncRNA ها همچنین می توانند به عنوان فعال کننده ی کروماتین از طریق فعال کردن H۳K۴me۳ در پروموتر ژن عمل کنند.(۴۵،۴۴)

نقش lncRNA ها در تنظیم متیلاسیون DNA

تنظیم متیلاسیون DNA توسط lncRNA ها به عنوان یک ساز و کار اساسی است که بیان ژن را در طی پیشرفت سرطان کنترل می کند. بیان متفاوتی از lncRNA ها در شروع سرطان، پیشرفت و متاستاز گزارش شده است برای مثال lncRNA ecCEBPA یک lncRNA جدیدی است که توسط ژن CEBPA کد می شود که برای جلوگیری از متیلاسیون ژن CEBPA ضروری است و منجر به بیان شدید mRNA CEBPA در لوسمی از طریق ارتباط با DNMT۱ می شود.(۴۶) lncRNA HOTAIR که از لوکوس HOX رونویسی می شود، متیلاسیون کروماتین لوکوس HOXD را از طریق از سرگیری کمپلکس مهاری PRC۲ تحت تاثیر قرار می دهد. در سلول های کارسینومای حنجره، بیان HOTAIR به شدت افزایش یافته است و متیلاسیون CpG در ناحیه پروموتر ژن سرکوبگر تومور PTEN افزایش یافته است که منجر به از دست رفتن بیان PTEN در سلول های سرطانی می شود.(۴۷) Linc-POU۳F۳ یک lncRNA ای است که در حدود ۴۰۰۰ جفت باز بالا دست ژن فاکتور رونویسی POU۳F۳ قرار گرفته است که پایداری و تکثیر را در سلول ها افزایش می دهد. این تاثیرات انکوژنی از Linc-POU۳F۳ در رابطه با EZH۲ هستند که سطح متیلاسیون را در ژن های همسایه تنظیم می کند. تغییرات در سطح Linc-POU۳F۳ متیلاسیون ژن POU۳F۳ را افزایش می دهد. (۴۸) در سلول ها و بافت سرطان معده بیان lncRNA AK۰۵۸۰۰۳ که یک رونوشت ۱۱۹۷ جفت بازی و در رشته ی رفتی (Forward) کروموزوم ۱۰q۲۲ قرار گرفته است در شرایط هیپوکسی به شدت افزایش یافته است. این lncRNA مهاجرت و تهاجم را در سلول های سرطان معده افزایش می دهد که از طریق بیان SNCG که یک ژن در رابطه با تهاجم است این عمل انجام می شود.(۴۹) سطح mRNA SNCG به شدت در رابطه با بیان lncRNA AK۰۵۸۰۰۳ در نمونه های سرطان معده است. تحت شرایط هیپوکسی lncRNA-AK۰۵۸۰۰۳ منجر به

1. Imprinting Control Regions (ICRs)

2. Nucleosome positioning

افزایش بیان SNCG از طریق کاهش متیلاسیون CpG در پروموتر SNCG می شود. مطالعه ناک داون ژن اثبات کرد که خاموش سازی lncRNA AK۰۵۸۰۰۳ بیان SNCG را در سطح mRNA تنظیم می کند.(۴۹) این یافته ها نشان داده اند که SNCG/ lncRNA AK۰۵۸۰۰۳ /هیپوکسی یک مسیر پیام رسانی جدید درگیر در متاستاز و تهاجم سرطان معده است. AK۱۲۳۰۷۲ یک lncRNA اینترونیک آنتی سنس است که معمولا در سرطان معده افزایش بیان دارد، AK۱۲۳۰۷۲ منجر به افزایش تهاجم و متاستاز از طریق افزایش پایداری و بیان mRNA c-myc می شود. مشابه با lncRNA AK۰۵۸۰۰۳، AK۱۲۳۰۷۲ نیز منجر به افزایش تهاجم و متاستاز در سرطان معده از طریق هدف گیری EGFR تحت شراطی هیپوکسی می شود. ناک داون AK۱۲۳۰۷۲ به صورت ویژه منجر به افزایش متیلاسیون جزایر CpG در ژن EGFR می شود و کاهش بیان EGFR رخ می دهد.(۵۱،۵۰)

lncRNA HOTTIP در رده ی سلولی CS۱۲ سرطان معده بیان بیش از حد دارد و ناک داون HOTTIP بیان ژن های HOXA ۵′ را کاهش می دهد که شامل HOXA۱۳ می باشد. بیان زیاد HOXA۱۳ و آبشار پائین دستی اش در فعالیت تومورزایی سلول های CS۱۲ درگیر هستند. مطالعه ی مولکولی دیگری اثبات کرد که از سرگیری MLL۱ و WDR۵ و متیلاسیون H۳ در ناحیه CpG از پروموتر HOXA۱۳ در سلول های CS۱۲ رخ می دهد. علاوه بر این متیلاسیون کاهش یافته ی DNA در این ناحیه که با محدودیت DNMT۱ و از سرگیری DNMT۳b مشاهده شده است.(۵۲) مهار HOTTIP منجر به از سرگیری DNMT۳b می شود اما DNMT۱ مهار نمی شود. خاموش سازی HOTTIP همچنین منجر به کاهش از سرگیری WDR۲ و MLL۱ می شود و میزان تری متیلاسیون H۳K۴ می شود. RNA آنتی سنس HOXA۱۱ (HOXA۱۱-AS)، lncRNA ای است که به عنوان یک عامل اساسی در شناسایی پیشرفت سرطان می باشد. بیماران سرطان معده با بیان بیش از حد HOXA۱۱-AS بقای کم دارند. خاموش سازی HOXA۱۱-AS منجر به مهار رشد، مهاجرت و تهاجم و القای آپوپتوز می شود که با رونویسی EZF۱، CDKN۱A(p۲۱) و E-cadherin مداخله می کند.(جدول ۱)(۵۴-۵۱)

نقش lncRNA ها در تغییرات هیستونی

lncRNA ها کمپلکس های تغییر دهنده ی کروماتین را به لوکوس خاص از ژنوم هدایت می کنند و بیان ژن را تحت تاثیر می گذارند، به عنوان مثال HOTAIR به عنوان اولین lncRNA شناسایی شده است که با PRC۲ و کمپلکس LSD۱/COREST/RES از طریق انتهای ′۵ و ′۳ میانکنش می دهند. PRC۲ فاکتور اصلی تنظیمی کروماتین است که متشکل از متیلاز EZH۲، SUZ۱۲ و EDD می باشد، PRC۲ در تری متیلاسیون لیزین ۹ و ۲۷ در H۳ (H۳K۲۷me۳) درگیر می باشد.(۵۵،۵۶) در حالی که LSD۱ شامل دمتیلازی است که دمتیلاسیون H۳K۴me۲ را منجر می شود. HOTAIR موجب تجمع کمپلکس PRC۲ و LSD۱ شده و لوکوس های خاص ژنی را فعال می کند که منجر به القای تغییرات در H۳K۲۷me۳ و H۳K۴me۲ می شود.(۳۷) بیان بیش از حد HOTAIR در بافت های سرطانی مختلف شناسایی شده است: شامل سرطان کلورکتال، پانکراس، کارسینوم هپاتوسلولار و کارسینوم نازوفارنکس. HOTAIR مسئول تنظیم خاطره سلولی اپی ژنتیکی و پیشرفت سرطان است.(۵۷) در تومورهای معده بیان بیش از حد HOTAIR شدیدا در رابطه با سیستم مرحله بندی TNM و متاستاز گره لنفاوی است. علاوه بر این یک ارتباط شدید مابین HOTAIR و بیان SUZ۱۲ در بافت آدنوکارسینوم معده گزارش شده است. SUZ۱۲ بخشی از PRC۲ است که به مولکول های RNA از طریق دومین انگشت روی در طی خاموش سازی کروماتین متصل می شود.(۵۷،۵۱)

MALAT۱[1] به عنوان یک lncRNA حفاظت شده ای در پستانداران است که از کروموزوم ۱۱q۱۳ بیان می شود. MALAT۱ شامل بیش از ۸۰۰ نوکلئوتید می باشد و با فرایندهای فیزیولوژیکی مختلفی مرتبط است مثل پردازش متناوب[2]، سازماندهی هسته ای و واسطه گر اپی ژنتیکی بیان ژن.(۵۸،۵۱) MALAT۱ در بافت سرطان معده شدیدا افزایش بیان دارد و در رابطه با تهاجم سلولی و مهاجرت از طریق افزایش بیان فاکتور رشد اپیدرمال ۷ (EGFL۷) می باشد. MALAT۱ منجر به افزایش بیان EGFL۷ از طریق تغییر میزان استیلاسیون هیستون H۳ در ناحیه پروموتری ژن EGFL۷ می شود. GClnc۱ یک lncRNA شناسایی شده ی جدید در سرطان معده است. بیان این lncRNA افزایش یافته و در رابطه با تومورزایی و اندازه تومور و متاستاز می باشد. GCln۱ در پیش آگهی از طریق میانکنش با WDR۵ و هیستون متیل ترانسفراز KAT۲A که یک عضو اصلی از کمپلکس متیل ترانسفراز است عملکرد خود را ایفا می کند. GCln۱ تجمع WDR۵، KAT۲A را هماهنگ می کند و تغییرات هیستونی مربوط به ژن SOD۲ را اختصاصی می کند، و از این رو، GClnc۱ به عنوان یک فاکتور انکوژن در سرطان معده می باشد.(۵۹) lncRNA-LINC۰۰۶۷۳ یک RNA داخل ژنی است که در کروموزوم ۱۷q۱.۲۵ قرار گرفته است و به شدت در سرطان معده افزایش می یابد. ناک داون LINC۰۰۶۷۳ منجر به مهار تقسیم سلولی و تهاجم می شود و آپوپتوز را القا می کند. بنابراین LINC۰۰۶۷۳ در سرطان زایی نقش دارد. SP۱ منجر به فعال سازی رونویسی LINC۰۰۶۷۳ از طریق اتصال مستقیم به ناحیه ی پروموتری ژن LINC۰۰۶۷۳ می شود. مطالعه ی مولکولی نشان داده است که LINC۰۰۶۷۳ با EZH۲ و LSD۱ میانکنش می دهد و این کمپلکس در مهار KLF۲ و بیان LAST۲ درگیر می باشد. این مطالعه نشان داد که بیان فعال شده ی LINC۰۰۶۷۳ توسط SP۱ منجر به پیشرفت و گسترش سرطان معده می شود که با عملکرد به عنوان داربست برای LSD۱ و EZH۲ و مهار بیان ژن های سرکوب گر تومور مثل KLF۲ و LATS۲ منجر به این امر می شود.(۶۰)

AGAP۲-AS۱ یک lncRNA آنتی سنس است در کروموزوم ۱۲q۱.۱۴ قرار گرفته است. بیان AGAP۲-AS۱ در بافت سرطان معده افزایش یافته است. ناک داون AGAP۲-AS۱ منجر به مهار تکثیر سلول های سرطان معده و مهاجرت و تهاجم می شود. مشابه با LINC۰۰۶۷۸ چندین جایگاه اتصالی SP۱ در ناحیه پروموتر AGAP۲-AS۱ وجود دارد و SP۱ می تواند به تمامی این جایگاه ها در ناحیه پروموتر AGAP۲-AS۱ متصل شود و بیان AGAP۲-AS۱ را القا کند. بنابراین AGAP۲-AS۱ از لحاظ اپی ژنتیکی منجر به مهار P۲۱ و بیان E-Cadherin از طریق میانکنش با EZH۲ و LSD۱ می شود که نشان دهنده ی این است که AGAP۲-AS۱ نیز نقش انکوژنی در سرطان معده دارد.(۶۱)

1. Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript1
2. Alternative splicing

جدول ۱: میانکنش lncRNA های با بیان افزایش یافته با عوامل اپی ژنتیکی و ارزش بالینی آن ها در سرطان معده

LncRNA	Mechanism	Target	Clinical Significance	HR	CI ٪۹۵	*p*-value	References
AK۰۵۸۰۰۳	Hypoxia; Methylation in the CpG islands	SNCG	Associated with invasion and metastasis	-	-	< ۰/۰۱	(۵۱ ,۴۹)
AK۱۲۳۰۷۲	Hypoxia; Methylation in the CpG islands	EGFR	Associated with invasion and metastasis	-	-	< ۰/۰۱	(۵۱ ,۵۰)
HOTTIP	Methylation in the CpG islands; H۳K۴ methylation	HOXA۱۳	Associated with increased cell growth, invasion, metastasis, inhibited apoptosis	۱/۵۷	۱/۲۰-۲/۰۵	< ۰/۰۱	(۸۳ ,۵۱)
HOXA۱۱-AS	DNA methylation; Histone modification; miR-۱۲۹۷	E۲F۱,P۲۱, E-cadherin, and EZH۲	Associated with increased cell growth, invasion, metastasis, reduced survival and poorer prognosis	-	-	۰/۰۳ ≥	(۵۴ ,۵۱)
HOTAIR	H۳K۲۷ trimethylation; miR-۳۴a	C-Met and Snail	Associated with TNM staging and lymph node metastasis	۱/۹۳	۱/۵۳-۲/۴۳	< ۰/۰۱	(۸۳ ,۵۱)
MALAT۱	H۳ histone acetylation	EGFL۷	Associated with invasion and metastasis	۱/۷۰	۱/۳۳-۲/۱۸	< ۰/۰۱	(۸۳ ,۵۱)
GClnc۱	Histone modification	SOD۲	Associated with tumor size, metastasis, and poor prognosis	۲/۵۰	۱/۴۷-۴/۲۴	< ۰/۰۱	(۵۹ ,۵۱)
LINC۰۰۶۷۳	SP۱; Histone modification	KLF۲ and LATS۲	Associated with invasion and inhibited apoptosis	۲/۹۴۳	۱/۲۲۶-۴/۲۰۸	< ۰/۰۰۱	(۸۴ ,۵۱)
AGAP۲-AS۱	SP۱; Histone modification	P۲۱, E-cadherin	Associated with increased cell growth, invasion, metastasis, poorer prognosis and reduced overall survival	-	-	۰/۰۱ ≥	(۸۵ ,۵۱)
ZFAS-۱	Histone modification	NDK۲; KLF۲	Associated with increased cell growth ,inhibited apoptosis, poor prognosis, and reduced survival	۲/۵۱	۱/۳۴-۴/۶۹	< ۰/۰۱	(۸۳ ,۶۲ ,۵۱)
PVT۱	Histone modification	p۱۵; p۱۶	Associated with poor prognosis	۲/۱۷	۱/۳۱-۳/۶۰	< ۰/۰۱	(۸۳ ,۵۱)
LINC۰۰۶۶۸	E۲F۱; Histone methylation	P۱۵, P۱۶, P۲۱, P۲۷, and P۵۷	Associated with TNM staging, invasion, and poor prognosis	۱/۰۱۸	۱/۰۰۹-۱/۰۲۷	<۰,۰۰۱	(۶۴ ,۵۱)
TUG۱	Histone methylation	P۵۷	Associated with TNM staging, invasion, and poor prognosis	۱/۰۶۶	۱/۰۲۳-۱/۱۱۲	<۰,۰۱	(۶۶ ,۵۱)
LINC۰۰۱۵۲	Histone methylation	P۱۵ and p۲۱	Associated with TNM staging, invasion, and poor prognosis	۱/۶۵۹	۲/۷۳۱–۱/۰۰۸	۰,۰۰۱ >	(۶۷ ,۵۱)
ANRIL	Histone modification; miR-۹۹a/miR-۴۴۹a	P۱۵INK۴B, P۱۶INK۴A, mTOR, and CDK۶	Associated with cell cycle progression and inhibited apoptosis	۱/۶۸	۱/۱۶-۲/۴۳	<۰,۰۱	(۸۳ ,۷۳ ,۵۱)

lncRNA ZFAS-۱[1] یک RNA شناسایی شده ی جدید است و بیان آن در سرطان معده افزایش یافته است. بیان افزایش یافته این RNA در رابطه با پیش آگهی ضعیف است. این RNA در تومورزایی از طریق افزایش تکثیر سلولی و جلوگیری از آپوپتوز در سلول ها ی سرطانی شرکت می کند. تاثیرات انکوژنی ZFAS-۱ تا حدودی توسط خاموش سازی اپی ژنتیکی بیان KLF۲ و KND۲ از طریق ازسرگیری LSD۱ و KLF۲ به ناحیه پروموتری NDK۲ و KLF۲ واسطه گری می شود. این عملکرد متعاقبا رونویسی آن ها را از طریق افزایش تری متیلاسیون لیزین در H۳K۲۷me۳ و دی متیلاسیون H۳K۴me۲ مهار می کند. (۶۲) مطالعات نشان داده اند که lncRNA ZFAS-۱ به عنوان یک فاکتور انکوژن در بیماران با سرطان معده است. lncRNA ها چرخه ی سلولی را در سلول های سرطان معده از طریق خاموش سازی اپی ژنتیکی CKI ها (cyclin-dependent protein kinase inhibitors) شامل: p۱۵، p۱۶، p۲۱، p۲۷ و p۵۷ تنظیم می کنند. lncRNA PVT۱ در جایگاه ترانسلوکاسیون کروموزوم شماره ی ۶ قرار گرفته است. بیان PVT۱ در بیماران با سرطان معده و رده ی سلولی سرطان معده افزایش یافته است و در رابطه با پیش آگهی ضعیف می باشد. این RNA در ارتباط با افزاینده EZH۲ می باشد و منجر به مهار بیان p۱۵ و p۱۶ می شود که این دو عامل توقف چرخه ی سلولی را منجر می شوند. خاموش سازی PVT۱ تکثیر سلولی را از طریق القا توقف چرخه سلولی در مرحله G۱ کاهش می دهد و آپوپتوز را در سلول های بدخیم منجر می شود که نهایتا تضعیف تومورزایی اتفاق می افتد. این یافته ها نشان می دهند که PVT۱ مهار اپی ژنتیکی p۱۵ و p۱۶ را از طریق PRC۲ منجر می شود و تکثیر سلول های سرطان معده را افزایش می دهد.(۶۳,۵۱)

1. Zinc Finger Antisense1

LINC۰۰۶۶۸ یک lncRNA ۱۷۵۱ جفت بازی شناسایی شده در سرطان معده است، EZF۱ که به عنوان یک فاکتور رونویسی برای بیان LINC۰۰۶۶۸ می باشد، در پیشرفت چرخه سلولی نقش اساسی را ایفا می کند. بیان زیاد LINC۰۰۶۶۸ در سرطان معده گزارش شده است. بیان این RNA به شدت در رابطه با تهاجم، سیستم مرحله بندی TNM و پیش آگهی ضعیف می باشد. LINK۰۰۶۶۸ ، تکثیر سلول های سرطان معده را از طریق اتصال به PRC۲ و فعال سازی EZH۲ افزایش می دهد.(۶۴) متیلاسیون هیستون در رابطه با PRC۲ منجر به مهار CKI ها می شود.(۶۵) این مطالعه نشان می دهد که بیان بیش از حد LINC۰۰۶۶۸ که در رابطه با EZF۱ می باشد منجر به کاهش بیان CKI ها از طریق متیلاسیون هیستون می شود، بنابراین تکثیر سلول های بدخیم را افزایش می دهد. (۶۴) مشابه به LINC۰۰۶۶۸، تنظیم TUG۱ و LINC۰۰۱۵۲ در سرطان معده بهم خورده است. مهار بیان TUG۱ و LINC۰۰۱۵۲ منجر به مهار تکثیر سلول های سرطان معده از طریق متوقف سازی چرخه ی سلولی در مرحله ی G۰/G۱ می شوند. TUG۱ و LINC۰۰۱۵۲ هر دو به PRC۲ متصل می شوند و این ارتباط برای خاموش سازی CKI ها ضروری است. (۶۶) این یافته ها نشان داده اند که متیلاسیون هیستون در رابطه با PRC۲ و خاموشی اپی ژنتیکی CKI ها توسط LINC۰۰۶۶۸، TUG۱ و LINC۰۰۱۵۲ سازمان دهی می شود، به طور کلی این فرآیند بیان CKI ها را کنترل می کنند و پیشرفت چرخه سلولی در سرطان معده را منجر می شوند. (جدول ۱)(۶۷،۶۶)

نقش lncRNA ها در بیان و فعالیت miRNA

مطالعات نشان داده اند که lncRNA به عنوان RNA های رقابت کننده ی اندوژن (ceRNA) هستند و به عنوان آنتاگونیست با miRNA ها در mRNA هدف آن ها عمل می کنند. lncRNA-miRNA-mRNA نقش اساسی در تومور زایی و متاستاز می تواند ایفا کند که مشابه به انکوژن ها و ژن های سرکوبگر تومور عمل می کنند.(۷۰-۶۸) بیان miRNA-۳۴a کاهش یافته و ارتباط منفی با بیان HOTAIR در سرطان معده دارد. HOTAIR و PRC۲ منجر به کاهش بیان miRNA-۳۴a و افزایش فعالیت مولکول های هدف miRNA-۳۴a می شود که شامل: c-Met و snail می باشد و نقش اساسی در تبدیل اپی تلیال به مزانشیم[1] در مراحل پیشرفته سرطان معده دارد. miRNA-۳۴a در مدل های ناک داون EZH۲ و SUZ۱۲ دچار بیش بیان شده است، مطالعات مولکولی اثبات کرده اند که EZH۲ مستقیما به ناحیه ی پروموتر miRNA-۳۴a متصل می شود و تغییرات هیستونی H۳K۲۷me۳ را القا می کند. ناک داون HOTAIR و EZH۲ منجر به کاهش اتصال EZH۲ به H۳K۲۷ می شود. این مطالعات نشان می دهند که HOTAIR منجر به از سرگیری کمپلکس PRC۲ می شود و در نهایت بیان miRNA-۳۴a از طریق تغییرات H۳K۲۷me۳ در طی پیشرفت سرطان، متوقف می شود. ANRIL، که تحت عنوان CDKN۲B-AS۱ یک ncRNA آنتی سنس برای لوکوس INK۴ است که از خوشه ژنی NKA-ARF-INK۴B بیان می شود. ANRIL پیشرفت چرخه ی سلولی و مقاومت نسبت به آپوپتوز را از طریق خاموش سازی اپی ژنتیکی ژن های سرکوبگر p۱۵INK۴B و p۱۶INK۴A افزایش می دهد. این خاموشی از طریق اتصال EZH۲ و تری متیلاسیون H۳K۲۷ اتفاق می افتد.(۷۱و۷۲) علاوه براین ANRIL منجر به خاموش سازی اپی ژنتیکی miRNA۹۹a/miRNA۴۴۹a در سلول های سرطان معده می شود که از طریق اتصال به PRC۲ با EZH۲ و SUZ۱۲ رخ می دهد. این کمپلکس مسیر mTOR و CDK۶/E۲F۱ را مهار می کند، نتیجتا تکثیر و رشد سلول های سرطان معده افزایش می یابد.(۷۳) در سرطان معده HOXA۱۱-AS نه تنها به عنوان یک داربست برای EZH۲، LSD۱ و DNMT۱ عمل می کند بلکه به عنوان یک اسفنج مولکولی برای miRNA-۱۲۹۷ عمل می کند که با اثر مهاری آن بر ترجمه ی EZH۲ مقابله می کند. علاوه بر این بیان فاکتور E۲F۱ بیان HOXA۱۱-AS را فعال می کند که نتیجتا بیان ژن های درگیر در چرخه ی سلولی از فاز G۱ به S افزایش می یابد. این یافته ها نشان داده اند که تداخل HOXA۱۱-AS/miRNA-۱۲۹۷/EZH۲ نقش اساسی در رشد سلول، مهاجرت، تهاجم دارد.(جدول ۱)(۵۱و۵۴)

LncRNA ها به عنوان نشانگر زیستی در سرطان معده

lncRNA هایی که در مایعات بدن (پلاسما و ترشحات معده) بیماران مبتلا به سرطان معده شناسایی شده اند: CCAT۲، TINCR، AOC۴P و BANCR هستند. این lncRNA ها می توانند به عنوان فاکتورهایی باشند که با استفاده از آن ها می توان بیماران با سرطان معده را از افراد سالم تفکیک کرد و همچنین مراحل مختلف سرطان معده را شناسایی کرد.(۷۴و۷۵)

lncRNA HVLC در خون بیماران با سرطان معده شناسایی شده است که به عنوان نشانگر زیستی تشخیصی سرطان معده می باشد. (۷۶) پروفایل بیانی H۱۹ در پلاسمای بیماران با سرطان معده نشان داده است که این lncRNA به عنوان نشانگر زیستی تشخیصی قوی در مراحل اولیه برای شناسایی سرطان معده می باشد.(۷۷) بیان بیش از حد LINC۰۰۱۵۲ در پلاسمای بیماران با سرطان معده ارزیابی شده است که ارزش تشخیصی بیشتری نسبت به CA۱ و CEA دارد. LINC۰۰۱۵۲ را به عنوان فاکتور تشخیصی خونی قوی در سرطان معده می توان معرفی کرد، این lncRNA در ترشحات معده بیماران مبتلا به سرطان معده نیز شناسایی شده است. lncRNA AA۱۷۴۰۸۴ به عنوان نشانگر زیستی نسبتا قوی و ویژه ی تشخیصی سرطان معده در نمونه های ترشحات معده می باشد. سطح بیان AA۱۷۴۰۸۴ در بیماران با سرطان معده شدیدا افزایش یافته است. هر چند که این lncRNA به عنوان نشانگر زیستی تشخیصی مناسب در پلاسمای بیماران با سرطان معده نمی باشد.(۷۵) lncRNA هایی که در بیوپسی افراد مبتلا به سرطان معده شناسایی شده اند: LINC۰۰۱۵۲ (۲۳)، LSINCT (۷۸)، H۱۹ (۷۷) و PVT۱ (۷۹) می باشندکه نسبت به بافت نرمال کناری بیان بیش از حد را دارند، در حالیکه CUDR (۸۰)، PTENPI (۸۱)، AA۱۷۴۰۸۴ (۷۵) و LINC۰۰۹۸۲ (۸۲) کاهش بیان را نشان داده اند.(۲۰) این lncRNA ها به عنوان فاکتورهای پیش آگهی و تشخیصی در غربالگری بیماران با سرطان معده می باشند.

از LncRNA هایی که میزان بیان آن ها در بافت سرطان معده افزایش یافته و از طریق میانکنش با فاکتورهای اپی ژنتیکی می توانند در بروز سرطان معده نقش داشته باشند، می توان AK۰۵۸۰۰۳، AK۱۲۳۰۷۲، HOTTIP، MALAT۱، HOTAIR، HOXA۱۱-AS، GClnc۱، LINC۰۰۶۷۳، PVT۱، ZFAS-۱، AGAP۲-AS۱، LIC۰۰۶۶۸، TUG۱، LINC۰۰۱۵۲ و

1. Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT)

ANRIL را نام برد. (جدول ۱) این lncRNA ها با علایم بالینی ارتباط دارند و به عنوان نشانگر زیستی در تشخیص زودرس مطرح می باشند. علاوه بر این، دارای ارزش تشخیصی در پیش آگهی افراد مبتلا به سرطان معده می باشند. با بررسی میزان بیان lncRNA ها در نمونه بیوپسی، پلاسما و ترشحات معده افراد مبتلا به بیماری گوارشی، و نیز ارتباط آن ها با مرحله بندی تومور و پاسخ به درمان، می توان پیش آگهی بیماری را تعیین و در نهایت میزان بقا را افزایش داد. از آنجایی که بازده درمان دارویی در سرطان معده بسیار پایین است و با توجه به تفاوت های ژنتیکی بین افراد و بیان ویژه ی بافتی lncRNA ها، شخصی سازی درمان یک امر ضروری محسوب می شود. بر این اساس، lncRNA ها پتانسیل بالایی برای درمان هدفمند مولکولی و شخصی سازی درمان[1] می توانند داشته باشند.(۲۰، ۵۱-۴۹و۵۴ و۵۹ و۶۲ و ۶۴ و ۶۶ و ۶۷ و ۷۳ و ۸۵-۸۳)

نتیجه گیری

در سال های اخیر تغییرات اپی ژنتیکی به عنوان یک فاکتور اساسی در تومورزایی و پیشرفت سرطان شناسایی شده است. مطالعات زیادی با تمرکز بر عوامل اپی ژنتیکی انجام شده است تا اینکه از عوامل اپی ژنتیکی برای درمان بیماریها از طریق برگشت دادن اختلالات اپی ژنتیکی استفاده شود. هر چند که ساز و کار هایی که باعث ایجاد تغییرات اپی ژنتیکی در تومورها می شود به طور کامل شناسایی نشده است و مطالعات زیادی لازم است تا اینکه آگونیست ها و مهار کننده های موثر و ویژه در درمان اپی ژنتیکی شناسایی شوند. بیان lncRNA ها و توانایی آن ها در کنترل تنظیم اپی ژنتیکی به عنوان یک فاکتور جدید است. lncRNA ها نه تنها به عنوان نشانگر های زیستی مهم بلکه به عنوان اهداف درمانی در درمان تومورها و شخصی سازی درمان شناسایی شده اند. محققین زیادی در حال بررسی lncRNA ها به عنوان عوامل پیش آگهی، تشخیصی و درمانی در سرطان های مختلف به ویژه سرطان معده هستند. امروزه با استفاده از تکنیک های مهندسی ژنتیک؛ RNAi/shRNA ها و یا سیستم ویرایشی CRISPR/cas۹ می توان میزان بیان lncRNA هایی که به صورت نابجا افزایش یافته، کاهش داد. از این رو، ایجاد پایگاه داده lncRNA ها ضروری می باشد و انتظار می رود کارایی استفاده از lncRNA ها به عنوان نشانگر زیستی و یکی از اهداف درمانی در درمان سرطان، به ویژه سرطان معده افزایش یابد.

1. Personalized Therapy

REFERENCES:

1. Basiri Z, Safaralizadeh R, Bonyadi MJ, Somi MH, Mahdavi M, Latifi-Navid S. *Helicobacter pylori* vacA d1 genotype predicts risk of gastric adenocarcinoma and peptic ulcers in northwestern Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:1575-9.
2. Raei N, Latifi-Navid S, Zahri S. *Helicobacter pylori* cag Pathogenicity Island cagL and orf17 Genotypes Predict Risk of Peptic Ulcerations but not Gastric Cancer in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16:6645-50.
3. Raei N, Behrouz B, Zahri S, Latifi-Navid S. *Helicobacter pylori* Infection and Dietary Factors Act Synergistically to Promote Gastric Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016;17:917-21.
4. Bakhti SZ, Raei N, Latifi-Navid S, Zahri S, Yazdanbod A. Inverse relationship between cagG-positive Helicobacter pylori status and risk of gastric ulcer. *Br J Biomed Sci* 2019;76:95-7.
5. Raei N, Latifi-Navid S, Zahri S. *Helicobacter pylori* Infection and Stem Cells: Two Main Factors at the Origin of Gastric Cancer. *Govaresh* 2016;20:219-29.
6. Pourfarzi F, Whelan A, Kaldor J, Malekzadeh R. The role of diet and other environmental factors in the causation of gastric cancer in Iran--a population based study. *Int J Cancer* 2009;125:1953-60.
7. Pinheiro H, Bordeira-Carrico R, Seixas S, Carvalho J, Senz J, Oliveira P, et al. Allele-specific CDH1 downregulation and hereditary diffuse gastric cancer. *Hum Mol Genet* 2010;19:943-52.
8. Sun M, Xia R, Jin F, Xu T, Liu Z, De W, et al. Downregulated long noncoding RNA MEG3 is associated with poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer. *Tumour Biol* 2014;35:1065-73.
9. Liao Q, Liu C, Yuan X, Kang S, Miao R, Xiao H, et al. Large-scale prediction of long non-coding RNA functions in a coding-non-coding gene co-expression network. *Nucleic Acids Res* 2011;39:3864-78.
10. Kazemzadeh M, Safaralizadeh R, Feizi MA, Ravanbakhsh R, Somi MH, Hashemzadeh S. LOC100287225, novel long intergenic non-coding RNA, misregulates in colorectal cancer. *Cancer Biomark* 2016;16:499-505.
11. Kazemzadeh M, Safaralizadeh R, Feizi MA, Somi MH, Shokoohi B. Misregulation of the dependence receptor DCC and its upstream lincRNA, LOC100287225, in colorectal cancer. *Tumori* 2017;103:40-3.
12. Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011;71:6320-6.
13. Sapari NS, Loh M, Vaithilingam A, Soong R. Clinical potential of DNA methylation in gastric cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2012;7:e36275.
14. Liu B, Ye B, Yang L, Zhu X, Huang G, Zhu P, et al. Long non-coding RNA lncKdm2b is required for ILC3 maintenance by initiation of Zfp292 expression. *Nat Immunol* 2017;18:499-508.
15. Kazemzadeh M, Safaralizadeh R, Orang AV. LncRNAs: emerging players in gene regulation and disease pathogenesis. *J Genet* 2015;94:771-84.
16. Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet* 2009;10:155-9.
17. Luo J, Chen J, Li H, Yang Y, Yun H, Yang S, et al. LncRNA UCA1 promotes the invasion and EMT of bladder cancer

cells by regulating the miR-143/HMGB1 pathway. *Oncol Lett* 2017;14:5556-62.

18. Zhan Y, Li Y, Guan B, Wang Z, Peng D, Chen Z, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 promotes proliferation and suppresses apoptosis of bladder cancer cells through upregulating Bcl-2. *Oncotarget* 2017;8:76656-65.
19. Stephanova DI, Kossev A. Theoretical predication of temperature effects on accommodative processes in simulated amyotrophic lateral sclerosis during hypothermia and hyperthermia. *J Integr Neurosci* 2016;15:553-69.
20. Bolha L, Ravnik-Glavac M, Glavac D. Long Noncoding RNAs as Biomarkers in Cancer. *Dis Markers* 2017;2017:7243968.
21. Gao YF, Wang ZB, Zhu T, Mao CX, Mao XY, Li L, et al. A critical overview of long non-coding RNA in glioma etiology 2016: an update. *Tumour Biol* 2016;37:14403-13.
22. Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nat Rev Genet* 2014;15:7-21.
23. Shi T, Gao G, Cao Y. Long Noncoding RNAs as Novel Biomarkers Have a Promising Future in Cancer Diagnostics. *Dis Markers* 2016;2016:9085195.
24. Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, Rajendran L, Wenzel D, Wieland F, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science* 2008;319:1244-7.
25. Johnstone RM. Exosomes biological significance: A concise review. *Blood Cells Mol Dis* 2006;36:315-21.
26. Huang X, Yuan T, Tschannen M, Sun Z, Jacob H, Du M, et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. *BMC genomics* 2013;14:319.
27. Li Q, Shao Y, Zhang X, Zheng T, Miao M, Qin L, et al. Plasma long noncoding RNA protected by exosomes as a potential stable biomarker for gastric cancer. *Tumour Biol* 2015;36:2007-12.
28. Ren S, Wang F, Shen J, Sun Y, Xu W, Lu J, et al. Long non-coding RNA metastasis associated in lung adenocarcinoma transcript 1 derived miniRNA as a novel plasma-based biomarker for diagnosing prostate cancer. *Eur J Cancer* 2013;49:2949-59.
29. Arita T, Ichikawa D, Konishi H, Komatsu S, Shiozaki A, Shoda K, et al. Circulating long non-coding RNAs in plasma of patients with gastric cancer. *Anticancer Res* 2013;33:3185-93.
30. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:5003-8.
31. Wang K, Zhang S, Weber J, Baxter D, Galas DJ. Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. *Nucleic Acids Res* 2010;38:7248-59.
32. Ashapkin VV, Linkova NS, Khavinson V, Vanyushin BF. Epigenetic mechanisms of peptidergic regulation of gene expression during aging of human cells. *Biochemistry (Mosc)* 2015;80:310-22.
33. You JS, Jones PA. Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin? *Cancer Cell* 2012;22:9-20.
34. Wood AJ, Oakey RJ. Genomic imprinting in mammals: emerging themes and established theories. *PLoS Genet* 2006;2:e147.
35. Huang R, Jaritz M, Guenzl P, Vlatkovic I, Sommer A, Tamir IM, et al. An RNA-Seq strategy to detect the complete coding and non-coding transcriptome including full-length imprinted macro ncRNAs. *PLoS One* 2011;*6*:e27288.
36. Martin C, Zhang Y. Mechanisms of epigenetic inheritance. *Curr Opin Cell Biol* 2007;19:266-72.
37. Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010;464:1071-6.
38. Lu L, Zhu G, Zhang C, Deng Q, Katsaros D, Mayne ST, et al. Association of large noncoding RNA HOTAIR expression and its downstream intergenic CpG island methylation with survival in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;136:875-83.
39. Sorensen KP, Thomassen M, Tan Q, Bak M, Cold S, Burton M, et al. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker of metastasis in estrogen receptor-positive primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013;142:529-36.
40. Beckedorff FC, Amaral MS, Deocesano-Pereira C, Verjovski-Almeida S. Long non-coding RNAs and their implications in cancer epigenetics. *Biosci Rep* 2013 ;33. pii: e00061.
41. He Y, Meng XM, Huang C, Wu BM, Zhang L, Lv XW, et al. Long noncoding RNAs: Novel insights into hepatocelluar carcinoma. *Cancer Lett* 2014;344:20-7.
42. Lee RS, Roberts CW. Linking the SWI/SNF complex to prostate cancer. *Nat Genet* 2013;45:1268-9.
43. Prensner JR, Iyer MK, Sahu A, Asangani IA, Cao Q, Patel L, et al. The long noncoding RNA SChLAP1 promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. *Nat Genet* 2013;45:1392-8.
44. Wang KC, Yang YW, Liu B, Sanyal A, Corces-Zimmerman R, Chen Y, et al. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature* 2011;472:120-4.
45. Lai F, Orom UA, Cesaroni M, Beringer M, Taatjes DJ, Blobel GA, et al. Activating RNAs associate with Mediator to enhance chromatin architecture and transcription. *Nature* 2013;494:497-501.
46. Di Ruscio A, Ebralidze AK, Benoukraf T, Amabile G, Goff LA, Terragni J, et al. DNMT1-interacting RNAs block gene-specific DNA methylation. *Nature* 2013;503:371-6.

47. Li D, Feng J, Wu T, Wang Y, Sun Y, Ren J, et al. Long intergenic noncoding RNA HOTAIR is overexpressed and regulates PTEN methylation in laryngeal squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 2013;182:64-70.

48. Li W, Zheng J, Deng J, You Y, Wu H, Li N, et al. Increased levels of the long intergenic non-protein coding RNA POU3F3 promote DN A methylation in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Gastroenterology* 2014;146:1714-26 e5.

49. Wang Y, Liu X, Zhang H, Sun L, Zhou Y, Jin H, et al. Hypoxia-inducible lncRNA-AK058003 promotes gastric cancer metastasis by targeting gamma-synuclein. *Neoplasia* 2014;16:1094-106.

50. Yang Z, Wang R, Zhang T, Dong X. Hypoxia/lncRNA-AK123072/EGFR pathway induced metastasis and invasion in gastric cancer. *Int J Clin Exp Med* 2015;8:19954-68.

51. Zhou Z, Lin Z, Pang X, Tariq MA, Ao X, Li P, et al. Epigenetic regulation of long non-coding RNAs in gastric cancer. *Oncotarget* 2017;9:19443-58.

52. Wang SS, Wuputra K, Liu CJ, Lin YC, Chen YT, Chai CY, et al. Oncogenic function of the homeobox A13-long noncoding RNA HOTTIP-insulin growth factor-binding protein 3 axis in human gastric cancer. *Oncotarget* 2016;7:36049-64.

53. Li T, Xu C, Cai B, Zhang M, Gao F, Gan J. Expression and clinicopathological significance of the lncRNA HOXA11-AS in colorectal cancer. *Oncol Lett* 2016;12:4155-60.

54. Sun M, Nie F, Wang Y, Zhang Z, Hou J, He D, et al. LncRNA HOXA11-AS Promotes Proliferation and Invasion of Gastric Cancer by Scaffolding the Chromatin Modification Factors PRC2, LSD1, and DNMT1. *Cancer Res* 2016;76:6299-310.

55. Cai B, Song XQ, Cai JP, Zhang S. HOTAIR: a cancer-related long non-coding RNA. *Neoplasma* 2014;61:379-91.

56. Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010 Aug 6;329:689-93.

57. Chen FJ, Sun M, Li SQ, Wu QQ, Ji L, Liu ZL, et al. Upregulation of the long non-coding RNA HOTAIR promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis and poor prognosis. *Mol Carcinog* 2013;52:908-15.

58. Deniz E, Erman B. Long noncoding RNA (lincRNA), a new paradigm in gene expression control. *Funct Integr Genomics* 2017;17:135-43.

59. Sun TT, He J, Liang Q, Ren LL, Yan TT, Yu TC, et al. LncRNA GClnc1 Promotes Gastric Carcinogenesis and May Act as a Modular Scaffold of WDR5 and KAT2A Complexes to Specify the Histone Modification Pattern. *Cancer Discov* 2016;6:784-801.

60. Zheng J, Huang X, Tan W, Yu D, Du Z, Chang J, et al. Pancreatic cancer risk variant in LINC00673 creates a miR-1231 binding site and interferes with PTPN11 degradation. *Nat Genet* 2016;48:747-57.

61. Li W, Sun M, Zang C, Ma P, He J, Zhang M, et al. Upregulated long non-coding RNA AGAP2-AS1 represses LATS2 and KLF2 expression through interacting with EZH2 and LSD1 in non-small-cell lung cancer cells. *Cell Death Dis* 2016;7:e2225.

62. Zhou H, Wang F, Chen H, Tan Q, Qiu S, Chen S, et al. Increased expression of long-noncoding RNA ZFAS1 is associated with epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer. *Aging (Albany NY)* 2016;8:2023-38.

63. Liu YW, Sun M, Xia R, Zhang EB, Liu XH, Zhang ZH, et al. LincHOTAIR epigenetically silences miR34a by binding to PRC2 to promote the epithelial-to-mesenchymal transition in human gastric cancer. *Cell Death Dis* 2015;6:e1802.

64. Zhang E, Yin D, Han L, He X, Si X, Chen W, et al. E2F1-induced upregulation of long noncoding RNA LINC00668 predicts a poor prognosis of gastric cancer and promotes cell proliferation through epigenetically silencing of CKIs. *Oncotarget* 2016;7:23212-26.

65. Fan T, Jiang S, Chung N, Alikhan A, Ni C, Lee CC, et al. EZH2-dependent suppression of a cellular senescence phenotype in melanoma cells by inhibition of p21/CDKN1A expression. *Mol Cancer Res* 2011;9:418-29.

66. Zhang E, He X, Yin D, Han L, Qiu M, Xu T, et al. Increased expression of long noncoding RNA TUG1 predicts a poor prognosis of gastric cancer and regulates cell proliferation by epigenetically silencing of p57. *Cell Death Dis* 2016;7:e2109.

67. Chen WM, Huang MD, Sun DP, Kong R, Xu TP, Xia R, et al. Long intergenic non-coding RNA 00152 promotes tumor cell cycle progression by binding to EZH2 and repressing p15 and p21 in gastric cancer. *Oncotarget* 2016;7:9773-87.

68. Ma J, Hong L, Chen Z, Nie Y, Fan D. Epigenetic regulation of microRNAs in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2014;59:716-23.

69. Xia T, Liao Q, Jiang X, Shao Y, Xiao B, Xi Y, et al. Long noncoding RNA associated-competing endogenous RNAs in gastric cancer. *Sci Rep* 2014;4:6088.

70. Mohammadi K, Safaralizadeh R. A Review on miRNAs as New Biomarkers for Colorectal Cancer. *J Fasa Univ Med Sci* 2019;9:1200-10.

71. Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, Suzuki S, Liu N, Kitagawa M, et al. Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15(INK4B) tumor suppressor gene. *Oncogene* 2011;30:1956-62.

72. Yap KL, Li S, Munoz-Cabello AM, Raguz S, Zeng L, Mujtaba S, et al. Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell* 2010;38:662-74.

73. Zhang EB, Kong R, Yin DD, You LH, Sun M, Han L, et al. Long noncoding RNA ANRIL indicates a poor prognosis of gastric cancer and promotes tumor growth by epigenetically silencing of miR-99a/miR-449a. *Oncotarget* 2014;5:2276-92.

74. Qian K, Liu G, Tang Z, Hu Y, Fang Y, Chen Z, et al. The long non-coding RNA NEAT1 interacted with miR-101 modulates breast cancer growth by targeting EZH2. *Arch Biochem Biophys* 2017;615:1-9.

75. Shao Y, Ye M, Jiang X, Sun W, Ding X, Liu Z, et al. Gastric juice long noncoding RNA used as a tumor marker for screening gastric cancer. *Cancer* 2014;120:3320-8.

76. Zhao Y, Guo Q, Chen J, Hu J, Wang S, Sun Y. Role of long non-coding RNA HULC in cell proliferation, apoptosis and tumor metastasis of gastric cancer: a clinical and in vitro investigation. *Oncol Rep* 2014;31:358-64.

77. Zhou X, Yin C, Dang Y, Ye F, Zhang G. Identification of the long non-coding RNA H19 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of gastric cancer. *Sci Rep* 2015;5:11516.

78. Xu MD, Qi P, Weng WW, Shen XH, Ni SJ, Dong L, et al. Long non-coding RNA LSINCT5 predicts negative prognosis and exhibits oncogenic activity in gastric cancer. *Medicine (Baltimore)* 2014;93:e303.

79. Kong R, Zhang EB, Yin DD, You LH, Xu TP, Chen WM, et al. Long noncoding RNA PVT1 indicates a poor prognosis of gastric cancer and promotes cell proliferation through epigenetically regulating p15 and p16. *Mol cancer* 2015;14:82.

80. Dong L, Qi P, Xu MD, Ni SJ, Huang D, Xu QH, et al. Circulating CUDR, LSINCT-5 and PTENP1 long noncoding RNAs in sera distinguish patients with gastric cancer from healthy controls. *Int J Cancer* 2015;137:1128-35.

81. Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature* 2010;465:1033-8.

82. Fei ZH, Yu XJ, Zhou M, Su HF, Zheng Z, Xie CY. Upregulated expression of long non-coding RNA LINC00982 regulates cell proliferation and its clinical relevance in patients with gastric cancer. *Tumour Biol* 2016;37:1983-93.

83. Gao S, Zhao ZY, Wu R, Zhang Y, Zhang ZY. Prognostic value of long noncoding RNAs in gastric cancer: a meta-analysis. *Onco Targets Ther* 2018;11:4877-91.

84. Ba MC, Long H, Cui SZ, Gong YF, Yan ZF, Wu YB, et al. Long noncoding RNA LINC00673 epigenetically suppresses KLF4 by interacting with EZH2 and DNMT1 in gastric cancer. *Oncotarget* 2017;8:95542-53.

85. Qi F, Liu X, Wu H, Yu X, Wei C, Huang X, et al. Long noncoding AGAP2-AS1 is activated by SP1 and promotes cell proliferation and invasion in gastric cancer. *J Hematol Oncol* 2017;10:48.