

Titolo: RNA non codificanti nel microambiente e nell'angiogenesi del glioma - Non-Coding RNAs in Glioma Microenvironment and Angiogenesis

Codice: MUT005

Autore: Li et al.

Data: 2021

Rivista: Frontiers in Molecular Neuroscience 14

Argomento: mutagenesi

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.763610>

URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnmol.2021.763610>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2022/02/07/mut005-li-et-al-2021/>

Parole chiave: RNA non codificante, glioma, angiogenesi, esosomi, vescicole extracellulari, comunicazione, ambiente tumorale

Tumore: glioma

Traduzione: tradotte tutte le sezioni dell'articolo, ma la traduzione è molto semplificata e con diversi tagli per semplificare la lettura

Punti di interesse

Il glioma, in particolare il glioblastoma, è il tumore cerebrale più comune e letale. I vasi sanguigni associati al tumore nel glioma sono regolati da più tipi di cellule attraverso una varietà di meccanismi molecolari e diverse vie di comunicazione. L'angiogenesi è il processo meglio conosciuto con il quale cellule tumorali, attraverso complesse vie di comunicazioni, inducono in cellule non tumorali cambiamenti necessari per il funzionamento del tumore stesso.

Nell'angiogenesi infatti cellule tumorali comunicano con cellule endoteliali non tumorali, inducendole a produrre nuovi vasi sanguigni. I componenti del microambiente tumorale, comprese le cellule tumorali e gli stromi associati al tumore, producono vari tipi di mediatori molecolari per regolare l'angiogenesi del glioma. In quanto molecole regolatrici fondamentali, gli RNA non codificanti (ncRNA) all'interno delle cellule o secreti nel microambiente tumorale svolgono ruoli essenziali nell'angiogenesi del glioma. Questi ncRNA sono molecole utilizzate per trasmettere un messaggio regolatorio della funzione di altre cellule. La cellula A induce la cellula B a fare una specifica funzione. Le molecole di ncRNA sono gli intermediari di questa comunicazione. Queste molecole devono essere prodotte e trasportate attraverso vie di comunicazione affinché possano svolgere la loro funzione.

Meno del 2% del genoma dei mammiferi codifica per RNA messaggero (mRNA), ovvero RNA codificante per sintesi delle proteine. Ameno il 70% del genoma è in grado di produrre trascritti di RNA di diverse dimensioni, principalmente RNA non codificanti (ncRNA). Gli ncRNA svolgono funzione di gestione delle attività della cellula o funzione di regolazione.

Nella patologia tumorale, gli ncRNA con funzione di regolazione sono coinvolti nel processo di formazione di nuovi vasi sanguigni, chiamato angiogenesi tumorale. Nell'angiogenesi del glioma, sono stati studiati alcuni tipi di ncRNA: i micro RNA (miRNA), i ncRNA a catena lunga (lncRNA)

e gli ncRNA circolari (circRNA). I tanti tipi di miRNA possono sia favorire che bloccare l'angiogenesi, e sono coinvolti anche nella degradazione delle molecole di RNA messaggero. Le forme lunghe di ncRNA (lncRNA) possono legarsi a molecole grandi come le proteine o ad altre macromolecole di RNA come l'mRNA per regolarne la funzione. Inoltre possono legarsi anche al DNA per regolarne la trascrizione. Gli ncRNA circolari hanno una forma circolare chiusa, possono legarsi a molecole grandi e piccole, proteine o altre molecole di RNA influenzando la loro funzione.

Le cellule e i componenti non cellulari nel microambiente del glioma hanno vie di comunicazioni complesse alla base dei processi tumorali come la stimolazione dell'angiogenesi tumorale. Un ruolo chiave nel processo di comunicazione tra i vari componenti sono le giunzioni GAP e canali tra le cellule. In breve, sei proteine chiamate connessina (Cx) si assemblano su una cellula per formare semicanali che si accoppiano con semicanali di cellule adiacenti per mediare la comunicazione. I miRNA possono attraversare i canali di giunzione gap per stabilire la comunicazione intercellulare e influenzare direttamente l'espressione genica nelle cellule riceventi. miRNA possono trasferirsi tra i due tipi di cellule attraverso le connessioni GAP. Alcuni miRNA possono promuovere l'invasività e l'angiogenesi nel glioblastoma dopo il trasferimento in cellule endoteliali. Altri miRNA possono agire come soppressore tumorale.

Un altro modo di trasportare un'informazione da una cellula ad un'altra, nella forma di ncRNA, è attraverso l'uso di vescicole extracellulari (EV). Queste vescicole si distaccano dalle cellule, sono dotate di membrana a doppio strato. Sono classificate in base alle loro dimensioni. Diversi tipi di cellule possono secernere più tipi di EV. Gli esosomi e le microvescicole sono vescicole di piccole dimensioni. Le EV trasportano molecole bioattive con le quali la cellula donatrice influenza la cellula ricevente. Le biomolecole contenute e trasportate nelle EV includono DNA, cDNA, vari tipi di RNA e proteine (citoplasmatiche e legate alla membrana). Gli ncRNA sono il contenuto più comune e abbondante delle EV. Per regolare l'angiogenesi, le vescicole sono usate per trasportare ncRNA. Una singola cellula di glioblastoma è in grado di secernere circa 10.000 EV in 48 ore. Alcuni studi hanno dimostrato che le cellule di glioma esprimono alti livelli di un tipo di lncRNA che può essere caricato negli esosomi e trasmesso alle cellule endoteliali per sovraregolare in queste ultime la produzione del fattore pro-angiogenico VEGFA.

Nel microambiente del glioma ci sono diverse tipi di cellule, principalmente cellule staminali di glioma (GSC), cellule staminali mesenchimali associate al glioma e cellule del sistema immunitario. Tutte queste cellule producono specifici ncRNA e vescicole extracellulari coinvolte nell'angiogenesi.

Gli ncRNA sopra descritti, sono quelli per ora studiati e di cui si conosce il loro coinvolgimento nell'angiogenesi del glioma. In realtà ci sono altre molecole di ncRNA (piRNA, YRNA, e tsRNA) e molecole proteiche, strettamente associate alle molecole di RNA e alla loro funzionalità (proteine che legano molecole di RNA indicate con la sigla RBP) che potrebbero avere un ruolo regolatorio ma di cui si conosce poco o niente.

In sintesi il microambiente tumorale in continua evoluzione domina l'angiogenesi da molteplici aspetti. Gli ncRNA sono prodotti da una varietà di cellule donatrici per regolare più percorsi in una serie di diverse cellule riceventi nel microambiente tumorale per influenzare l'angiogenesi del glioma. Sono molecole utilizzate dalla cellula che li produce per influenzare ad una certa distanza il comportamento di diverse cellule, tumorali e non. La complessità della rete di regolazione del ncRNA è sia una possibilità che una sfida per lo sviluppo della terapia del RNA contro l'angiogenesi.

Glossario

Stroma: tessuto che forma l'impalcatura di sostegno di un organo, entro la quale si dispongono le cellule proprie dell'organo stesso. La struttura di sostegno è formata da tessuto connettivo le cui fibre si dispongono in vario modo. Nello stroma di un organo decorrono vasi sanguigni, vasi linfatici e nervi propri dell'organo stesso.

Stroma tumorale: è l'ambiente cellulare ed extracellulare attorno al quale esiste e si sviluppa il tumore. Nel caso di tumori solidi è formato da vasi sanguigni circostanti (formati parzialmente dalle cellule endoteliali associate al tumore); cellule del sistema immunitario, cellule connettivali (es. fibroblasti associati al tumore); matrice extracellulare del tumore (ECM)

Trascrizione del DNA: produzione nel nucleo della cellula di RNA messaggero da parte di enzimi chiamati RNA polimerasi sulla base della sequenza nucleotidica del DNA. L'mRNA viene portato poi nel citoplasma per la sintesi proteica. La sequenza di ribonucleotidi del mRNA viene quindi trasformata in una sequenza di amminoacidi formando le proteine.

Nucleotide: macromolecola organica formata da una molecola di zucchero a 5 atomi di carbonio, una base azotata, e un gruppo fosfato. Nel DNA lo zucchero è il desossiribosio, nel RNA lo zucchero è il ribosio. Una sequenza di più nucleotidi forma una molecola di DNA o RNA.

mRNA: è la molecola di RNA che deriva dalla trascrizione del DNA e che codifica per le proteine. Dal nucleo della cellula, viene portato nel citoplasma, in particolare nei ribosomi dove la sequenza di nucleotidi del RNA viene trasformata in una sequenza di amminoacidi formando una catena proteica.

tRNA: RNA transfer (o RNA di trasporto), abbreviato in tRNA, è una piccola catena di RNA (costituita da circa 70-90 nucleotidi) che trasferisce un amminoacido specifico di una catena proteica in crescita al sito ribosomiale della sintesi proteica durante la traduzione del mRNA.

Sintesi proteica: è il processo biochimico attraverso il quale l'informazione genetica contenuta nel mRNA (RNA messaggero) nella forma di una sequenza di ribonucleotidi, viene convertita in una catena di amminoacidi, ovvero in una proteina. Le proteine svolgono nella cellula un'ampia gamma di funzioni.

Traduzione dell'articolo

Riassunto

Il glioma, in particolare il glioblastoma, è il tumore cerebrale più comune e letale. In linea con i complicati processi di vascolarizzazione e la forte eterogeneità intratumorale, i vasi sanguigni associati al tumore nel glioma sono regolati da più tipi di cellule attraverso una varietà di meccanismi molecolari. I componenti del microambiente tumorale, comprese le cellule tumorali e gli stromi associati al tumore, producono vari tipi di mediatori molecolari per regolare l'angiogenesi del glioma. In quanto molecole regolatrici critiche, gli RNA non codificanti (ncRNA) all'interno delle cellule o secreti nel microambiente tumorale svolgono ruoli essenziali nell'angiogenesi del glioma. In questa recensione, riassumiamo brevemente gli studi recenti sulla produzione, la consegna e le funzioni degli ncRNA nel microambiente tumorale, nonché i meccanismi molecolari alla base della regolazione dell'angiogenesi da parte degli ncRNA. Discutiamo anche delle strategie terapeutiche basate su ncRNA nella terapia anti-angiogenica per il trattamento del glioma.

Introduzione

Già nel 1971, Folkman propose che la crescita dei tumori solidi sarebbe stata inibita in assenza di angiogenesi e che sia la crescita del tumore che le metastasi dipendessero dalla formazione di nuovi vasi sanguigni. Ha sottolineato che l'inibizione dell'angiogenesi era di grande importanza nella terapia del tumore (Folkman, 1974). Hanahan e Weinberg (2011) hanno riportato l'angiogenesi tumorale come una delle prime 10 caratteristiche dei tumori, affermando che l'angiogenesi ha svolto

un ruolo cruciale nella proliferazione, invasione e metastasi del tumore (Plate et al., 2012). In generale, la neovascolarizzazione è essenziale per la crescita di tumori con un diametro superiore a 1-2 mm, fornendo nutrimento e ossigeno ed eliminando le scorie metaboliche (Cao, 2009). Finora sono stati riconosciuti sei modelli di angiogenesi nei tumori solidi: angiogenesi germogliante, vasculogenesi, co-selezione vascolare, crescita vascolare intussuscettiva, mimetismo vasculogenico e transdifferenziazione delle cellule staminali tumorali (Jain e Carmeliet, 2012).

Il glioma è il tumore del sistema nervoso centrale intracranico più comune e aggressivo. Essendo un tumore altamente vascolarizzato, la crescita, l'invasione e la recidiva del glioma dipendono tutte dall'angiogenesi, risultando in una correlazione tra densità vascolare e grado di malignità e prognosi (Hanahan e Weinberg, 2011). In particolare, il glioblastoma (GBM), il glioma più maligno, ha un gran numero di nuovi vasi displastici ed è il tumore cerebrale più vascolarizzato nell'uomo (Dubois et al., 2014; Giusti et al., 2016; Quezada et al., 2018). Il glioma è anche caratterizzato dall'eterogeneità del tessuto tumorale. All'interno del microambiente tumorale composto da cellule tumorali, cellule stromali e componenti non cellulari, l'angiogenesi del glioma è un processo complesso con diversi modelli regolati da molteplici fattori. In quanto categoria di molecole regolatrici critiche nel microambiente tumorale, gli RNA non codificanti sono indispensabili per la comunicazione tra diversi componenti cellulari e la rigida regolazione dell'espressione e della secrezione di fattori angiogenici e citochine durante l'angiogenesi tumorale.

Tipi di ncRNA che regolano l'angiogenesi nel microambiente del glioma

Con lo sviluppo di una metodologia di sequenziamento ad alto rendimento, è stata chiarita la maggior parte della sequenza di DNA nel genoma umano. Meno del 2% del genoma dei mammiferi codifica per RNA messaggero necessario per la sintesi delle proteine, e almeno il 70% del genoma è in grado di produrre trascritti di diverse dimensioni, principalmente RNA non codificanti (ncRNA) (Feingold et al., 2004). Gli ncRNA svolgono ruoli importanti nella regolazione delle attività della vita come la replicazione del DNA, la trascrizione, l'elaborazione dell'RNA, la traduzione e le funzioni delle proteine. Funzionalmente, gli ncRNA possono essere grossolanamente divisi in due categorie: di gestione e ncRNA regolatori (Hirayama e Shinozaki, 2010). Gli ncRNA di gestione sono parti del macchinario molecolare richiesto per le attività di base della vita, compreso il trasporto dell'RNA che trasporta gli amminoacidi, il piccolo RNA nucleolare che guida la modifica e l'elaborazione dell'RNA e l'RNA ribosomiale coinvolto nella sintesi proteica. Gli ncRNA regolatori, come micro RNA (miRNA), RNA lungo non codificante (lncRNA) e RNA circolare (circRNA), partecipano a molteplici processi regolando tra cui l'angiogenesi tumorale (Morris e Mattick, 2014).

microRNA (miRNA)

I miRNA sono importanti piccoli ncRNA con una lunghezza di 20-22 nucleotidi. Classicamente, i miRNA si legano ad una proteina specifica (Ago2) formando un complesso che si lega all'RNA messaggero bersaglio e lo degrada (Yang F. et al., 2017). Numerosi studi hanno indicato i ruoli critici dei miRNA nell'angiogenesi del glioma. Alcuni tipi di miRNA che sovraregolano fattori per promuovere l'angiogenesi sono a concentrazioni più elevati nelle cellule endoteliali, rispetto ad un tessuto cerebrale sano. Altri miRNA possono invece svolgere ruoli inibitori nella regolazione della vascolarizzazione (Shi et al., 2012; Yue et al., 2012; Adlakha e Saini, 2014; Zhang et al., 2018).

RNA non codificanti lunghi (lncRNA)

Gli RNA non codificanti lunghi (lncRNA) sono trascritti più lunghi di 200 nucleotidi (Zhao W. et al., 2019). L'espressione anormale di lncRNA funzionali nei gliomi suggerisce il coinvolgimento degli lncRNA nell'occorrenza, nello sviluppo e in altri fenotipi maligni dei gliomi (Peng et al.,

2018). Gli lncRNA possono funzionare attraverso diversi meccanismi. In primo luogo, gli lncRNA possono legarsi e regolare la modifica, la stabilità, la localizzazione e l'interazione delle proteine loro bersaglio. Possono anche legarsi ad altre molecole di RNA a filamento lungo, inclusi mRNA, regolandone la funzione. Possono legarsi anche ai miRNA e regolandone la loro funzione. Infine, gli lncRNA si legano ai DNA genomici per regolare la trascrizione genica (Li et al., 2021). Sebbene molti studi hanno dimostrato la promozione dell'angiogenesi da parte di diversi lncRNA attraverso vari percorsi a valle, gli lncRNA possono regolare anche negativamente l'angiogenesi.

RNA circolare (circRNA)

I CircRNA sono una nuova famiglia di ncRNA presenti in tutte le cellule eucariotiche. CircRNA forma in modo covalente una struttura ad anello chiuso. Poiché la struttura del circRNA non permette il passaggio di biomolecole endogene, il circRNA è resistente alla digestione da parte degli enzimi specifici per degradare gli RNA e alla degradazione non classica mediata da miRNA. La biogenesi dei circRNA è regolata da specifici elementi con un pattern di espressione tessuto-specifico e cellula-specifico (Kristensen et al., 2019). Classicamente, i circRNA si legano e adsorbono specificamente i miRNA, alleviando così gli effetti inibitori dei miRNA sui geni bersaglio a valle. Tuttavia, i circRNA hanno la capacità di legarsi direttamente alle proteine e di influenzare le loro funzioni. Inoltre, i circRNA possono essere associati e influenzare la funzione di anche altri tipi di RNA. Studi futuri potrebbero rivelare il coinvolgimento dei circRNA nell'angiogenesi attraverso questi meccanismi non classici.

Comunicazioni intercellulari correlate a ncRNA che regolano l'angiogenesi del glioma

Le cellule e i componenti non cellulari nel microambiente del glioma hanno comunicazioni complesse che spesso favoriscono l'angiogenesi tumorale (Broekman et al., 2018). Gli ncRNA nel microambiente del glioma utilizzano più approcci di comunicazione per eseguire le loro funzioni come regolatori chiave dell'angiogenesi (Figura 1).

Fattori solubili

Numerosi studi hanno sottolineato le funzioni cardine dei fattori solubili nell'angiogenesi, inclusi i comuni fattori proangiogenici VEGF, angiopoietina e i comuni inibitori angiogenici. I fattori solubili sono mediatori critici delle funzioni degli ncRNA nella regolazione dell'angiogenesi. Ad esempio, alcuni lncRNA sono in grado di legare e sottoregolare dei miRNA e promuovere l'espressione dei fattori solubili che stimolano la vascolarizzazione (Zheng et al., 2018). È stato riportato che il fattore proangiogenico più comune VEGFA è regolato da più ncRNA tra cui diversi lncRNA (Cai et al., 2017; Sun et al., 2020; Ye et al., 2020). È ragionevole che gli ncRNA possano regolare più fattori solubili per controllare deliberatamente l'angiogenesi (Yu et al., 2017; Yang et al., 2018).

La comunicazione intercellulare Gap Junction (GJIC)

Durante l'invasione e la progressione del glioma, la comunicazione intercellulare tramite gap junction (GJIC) è un importante processo di comunicazione basato su giunzioni gap e canali tra due cellule adiacenti che collegano il citoplasma delle cellule (Katakowski et al., 2010; Hong et al., 2015). In breve, sei proteine connessina (Cx) si assemblano su una cellula per formare semicanale (linker) che si accoppiano con semicanali di cellule adiacenti per mediare GJIC (Laird, 2006). I miRNA possono attraversare i canali di giunzione gap per stabilire la comunicazione intercellulare e influenzare direttamente l'espressione genica nelle cellule riceventi (Lim et al., 2011). Cx43 è l'isoforma di connessina più abbondante negli astrociti e la sotto-regolazione di Cx43 compromette la motilità e l'invasività delle cellule tumorali probabilmente interrompendo il GJIC tra astrociti e cellule tumorali (Bates et al., 2007). GJIC svolge anche un ruolo nel trasferimento funzionale di

miRNA tra cellule del glioblastoma (GBM) e cellule endoteliali microvascolari umane (HMEC; Thuringer et al., 2016). miRNA possono trasferirsi tra i due tipi di cellule attraverso GJIC. Alcuni miRNA possono promuovere l'invasività e l'angiogenesi GBM dopo il trasferimento in cellule endoteliali, altri miRNA possono agire come soppressore tumorale (Thuringer et al., 2017). La comunicazione diretta da cellula a cellula tramite GJIC è superiore alla comunicazione indiretta in termini di specificità ed efficienza (Lemcke et al., 2015).

Vescicole extracellulari

A causa della mancanza di marcatori molecolari specifici, le vescicole extracellulari (EV) sono classificate in piccole vescicole (<200 nm) e medio/grandi (>200 nm) in base alle loro dimensioni (Thery et al., 2018). Diversi tipi di cellule possono secernere più tipi di EV inclusi esosomi (30–150 nm di diametro) derivati dalle vescicole interne e microvescicole (100–1.000 nm di diametro) formate dal germogliamento esterno della membrana cellulare (Skog et al., 2008; Raposo e Stoorvogel, 2013). Le EV svolgono un ruolo importante negli eventi di comunicazione cellulare come il contatto diretto cellula-cellula, la fusione della membrana plasmatica e l'endocitosi mediata dal recettore. Attraverso la trasmissione dei componenti bioattivi delle cellule donatrici nelle cellule riceventi, le EV regolano i comportamenti delle cellule riceventi e influenzano il microambiente tumorale (Skog et al., 2008; Balaj et al., 2011; Montecalvo et al., 2012). Le biomolecole contenute e trasportate nelle EV includono DNA genomico, cDNA, vari RNA e proteine (citoplasmatiche e legate alla membrana), ma gli ncRNA sono il contenuto più comune e abbondante delle EV e vengono trasferiti tra le cellule nella regolazione dell'angiogenesi nel microambiente tumorale (Valadi et al., 2007; Van Der Vos et al., 2011; Rooj et al., 2016). Una singola cellula glioblastoma è in grado di secernere circa 10.000 EV in 48 ore (Whitehead et al., 2020). Le cellule di glioma esprimono alti livelli di un tipo di lncRNA che può essere caricato negli esosomi e trasmesso alle cellule endoteliali per sovraregolare il fattore pro-angiogenico VEGFA nelle cellule endoteliali riceventi per stimolare l'angiogenesi (Ma X. et al., 2017).

Cellule nel microambiente del glioma coinvolte nell'angiogenesi regolata da ncRNA

Cellule di glioma e cellule staminali di glioma (GSC)

Gli ncRNA possono provenire da origini cellulari multiple nel microambiente eterogeneo del glioma. Tra le cellule di glioma, le cellule staminali di glioma (GSC) o le cellule che iniziano il glioma sono una piccola percentuale di cellule tumorali simili a cellule staminali con capacità di auto-rinnovamento e differenziazione. Le GSC sono arricchite nelle nicchie perivascolari e funzionano come cellule regolatorie chiave per promuovere l'angiogenesi (Calabrese et al., 2007; Cheng et al., 2020). Gli esosomi derivati da GSC hanno un ruolo centrale nell'angiogenesi e contengono molti ncRNA oltre a fattori pro-angiogenici (Treppe et al., 2017; Quezada et al., 2018). Skog et al. (2008) hanno inizialmente riportato che i miRNA caricati negli EV possono essere assorbiti dalle cellule endoteliali in coltura per promuovere l'angiogenesi nei GBM. Recentemente Lucero et al. (2020) hanno evidenziato che cellule endoteliali del cervello umano esposte a EV derivati da GSC hanno attivato la trascrizione di più geni nelle cellule endoteliali che sono altamente correlati all'angiogenesi.

Cellule staminali mesenchimali

Le cellule staminali mesenchimali associate al glioma (gbMSC) sono cellule stromali associate allo sviluppo maligno dei gliomi. gbMSCs sono divise in vari sottogruppi con i ruoli diversi nella progressione del glioma. Alcune aumentano la proliferazione e la migrazione delle cellule di glioma, altre promuovono l'angiogenesi (Yi et al., 2018). A causa dell'importanza funzionale delle cellule mesenchimali staminali nell'angiogenesi del glioma, possono essere sia origine che bersagli di ncRNA per la regolazione dell'angiogenesi. Finora ci sono studi molto limitati sugli ncRNA nelle

MSC (Liu L. et al., 2020). Studi futuri ispireranno sicuramente lo sviluppo di nuove strategie anti-angiogeniche per il trattamento del glioma.

Cellule immunitarie

I tessuti del glioma contengono più tipi di cellule immunitarie e i macrofagi associati al tumore (TAM) e la microglia poiché le principali cellule immunitarie infiltranti il glioma rappresentano oltre il 30% della popolazione di cellule di massa GBM (Hambardzumyan et al., 2016). Gli ncRNA forniti dagli EV e ricevuti dalle cellule immunitarie possono essere coinvolti nell'angiogenesi. Ad esempio, un tipo di miRNA contenuto in EV viene consegnato e ingerito dalla microglia, determinando la regolazione di specifici RNA messaggeri bersagli a valle e promuovendo così l'angiogenesi (Abels et al., 2019). Studi futuri potrebbero scoprire più funzioni delle cellule immunitarie che si infiltrano nel glioma come cellule sorgente e cellule riceventi degli ncRNA per regolare l'angiogenesi nel microambiente tumorale.

Terapia anti-angiogenica mirando agli ncRNA nel microambiente del glioma

La terapia anti-angiogenica ha mostrato progressi promettenti nel trattamento di molti tumori maligni, ma le strategie attuali sono meno ottimistiche nel trattamento dei gliomi (Carmeliet e Jain, 2011; Gilbert et al., 2014). L'evidenza accumulata ha dimostrato che gli ncRNA come molecole regolatrici chiave sono coinvolti nel controllo di diversi geni bersaglio e molteplici vie di segnalazione, partecipando così al processo angiogenico dinamico e complesso. Il targeting degli ncRNA nel microambiente del glioma farà luce su nuove strategie per lo sviluppo della terapia anti-angiogenica.

I tipi di ncRNA utilizzati nella terapia con RNA

La terapia con RNA si riferisce alla terapia mirata basata sull'RNA che mira a una specifica sequenza di RNA o utilizza molecole a base di RNA come farmaci. Rispetto ai tradizionali farmaci chimici a piccola molecola e ai grandi biofarmaci molecolari, la terapia con RNA potrebbe essere più quantitativa, dinamica e flessibile. Oltre ai suddetti farmaci a base di RNA, il targeting dell'interazione fisiologica tra vari tipi di ncRNA può fornire nuovi approcci per le terapie anti-angiogeniche (Zhao J. et al., 2019; Teppan et al., 2020). Un gran numero di studi preclinici e clinici ha dimostrato un brillante futuro della terapia con RNA con un ampio spettro di potenziali bersagli nell'angiogenesi tumorale.

EV come strumenti di consegna per la terapia dell'RNA

Gli EV, in particolare gli esosomi, possono funzionare come strumenti privilegiati per la consegna di carichi di RNA nel microambiente tumorale per la terapia angiogenica dei gliomi (Spinelli et al., 2019; Yekula et al., 2020). Rispetto ai nanomateriali liposomiali, metallici e polimerici, gli esosomi hanno una migliore biodisponibilità, meno citotossicità e immunogenicità. La struttura della membrana degli EV fornisce un ambiente stabile e appropriato per le molecole trasportate e le molecole di segnalazione sulla superficie delle membrane delle EV possono guidare la consegna precisa a specifiche cellule bersaglio. La capacità delle EV di attraversare la barriera ematoencefalica è particolarmente importante per il trattamento dei tumori cerebrali. A causa di questi vantaggi, le EV hanno un forte potenziale per essere trasformati in efficaci sistemi di rilascio di ncRNA. Inoltre, le cellule donatrici di EV possono essere geneticamente modificate per produrre EV con superfici modificate che potrebbero portare a un rilascio più efficace alle cellule bersaglio. Pertanto, le EV possono funzionare come strumenti di erogazione efficaci per la terapia dell'RNA per esprimere RNA soppressori del tumore nel microambiente tumorale o in specifiche cellule tumorali.

Nonostante i vantaggi sopra menzionati, l'utilizzo degli EV nella terapia con RNA è stato ostacolato

da diversi problemi. Non esiste uno standard universalmente accettato per l'isolamento, la purificazione e la conservazione degli esosomi. I meccanismi che regolano lo smistamento e l'assorbimento delle EV nel microambiente tumorale rimangono poco chiari. Gli studi di diversi laboratori sono alquanto incomparabili a causa dell'eterogeneità delle EV e della mancanza di un metodo di quantificazione standardizzato. L'applicazione delle EV nella terapia dell'RNA richiede un consenso sulla metodologia.

Il futuro emergente degli ncRNA nell'angiogenesi

La biologia dell'RNA in rapido sviluppo sta svelando il ruolo critico degli ncRNA nell'angiogenesi da molteplici aspetti senza precedenti. Non solo nuove funzioni, ma anche nuove categorie di ncRNA sono state scoperte nell'ultimo decennio, il che sicuramente approfondirà la nostra comprensione degli ncRNA nel contesto del microambiente del glioma.

Modifiche dell'RNA

Finora sono state riportate più di cento modificazioni dell'RNA, che possono essere reversibili e che regolano la funzione dell'RNA bersaglio della modificazione. Il caso più noto è l'aggiunta reversibile di un gruppo metilico nel RNA messaggero (mRNA) prodotto dalla trascrizione del DNA per la sintesi delle proteine. Tali modificazioni dell'RNA si verificano anche negli ncRNA regolatori, che possono influenzare il legame proteico degli lncRNA, la maturazione dei miRNA e la traduzione dei circRNA per regolarne la biogenesi e le funzioni. Le modifiche dinamiche possono conferire agli ncRNA la flessibilità di adattarsi al microambiente in continua evoluzione e promuovere la progressione del tumore.

Ad oggi, la maggior parte degli studi si è concentrata sull'identificazione di mRNA modificati con metilazione, mentre si sa poco sulla medesima modifica in ncRNA. Indagini future sull'impatto delle modifiche sulla produzione, sulla posizione cellulare, sulla selezione del bersaglio e su altre caratteristiche degli ncRNA ispireranno sicuramente ulteriori esplorazioni sulla regolazione dell'angiogenesi da parte degli ncRNA nel microambiente del glioma.

Proteine che legano l'RNA

Le proteine leganti l'RNA (RBP) sono una classe di proteine che si legano agli RNA, inclusi mRNA e ncRNA, per regolarne la biogenesi e i livelli di espressione (Xia et al., 2012; Xu Y. et al., 2019). Sono disponibili informazioni su 1.344 proteine leganti RNA e le malattie ad esse correlate (Hashemikhabir et al., 2015). Specifiche proteine si legano a ncRNA per regolare gli RNA messaggeri, codificanti le proteine. Questi complessi sono importanti per l'elaborazione, maturazione, trasporto, localizzazione e traduzione dell'mRNA (Gerstberger et al., 2014; Janakiraman et al., 2018). Allo stesso tempo, l'interazione tra RBP e ncRNA influenza i livelli di espressione di RBP e/o ncRNA, regolandone quindi anche le loro funzioni. Di conseguenza, l'interazione RBP-ncRNA è coinvolta nello sviluppo di malattie neurodegenerative, malattie metaboliche e vari tipi di cancro (Kim et al., 2017). I ruoli delle RBP come regolatori a monte degli ncRNA nel microambiente del glioma e nell'angiogenesi sono in gran parte sconosciuti.

Altri tipi di ncRNA

In letteratura in merito al ruolo nell'angiogenesi nel glioma sono disponibili informazioni su gli ncRNA descritti, quindi gli miRNA, lncRNA e circRNA. Tuttavia, si stanno accumulando evidenze sull'importanza biologica dei altri tipi di ncRNA come i piRNA, gli YRNA, e i tsRNA.

piRNA

Gli RNA che interagiscono con la proteina PIWI, sono chiamati piRNA (RNA interagenti con PIWI), e sono una classe di piccoli RNA presenti principalmente nelle cellule germinali e staminali

dei mammiferi (Girard et al., 2006). I piRNA sono stati trovati per la prima volta nelle cellule germinali, e sono coinvolti nel mantenimento della stabilità del genoma. Studi successivi sui piRNA nelle cellule somatiche e tumorali evidenziano la diversità e l'importanza dei piRNA. La proteina PIWI umana è espressa in modo anomalo nei tumori della mammella, del pancreas, del fegato e nel glioblastoma (Lee et al., 2006; Huang et al., 2021). Ma poco si sa sui piRNA nei tumori.

YRNA

Gli YRNA sono una classe di piccoli RNA con ruoli unici come molecole di segnalazione nei processi fisiologici e biochimici, ma le esatte funzioni molecolari degli YRNA rimangono sfuggenti. Gli YRNA rappresentano una proporzione relativamente ampia negli esosomi derivati dal tumore. Gli studi hanno dimostrato che gli YRNA funzionano per avviare la replicazione del DNA cromosomico, che è correlata alla proliferazione cellulare (Gulia et al., 2020). Christov et al. (2008) hanno scoperto che l'espressione di YRNA era drammaticamente più alta nei tumori solidi rispetto ai corrispondenti tessuti normali.

tsRNA

Sono piccoli RNA derivati dal RNA transfer (coinvolto nella sintesi delle proteine durante la trascrizione del RNA messaggero). I tsRNA hanno un'espressione specifica per tessuto e cellula e sono coinvolti in una varietà di funzioni biologiche, come la risposta allo stress, la traduzione delle proteine, la biogenesi dei ribosomi, la trasmissione intergenerazionale delle informazioni epigenetiche acquisite, la proliferazione cellulare, l'apoptosi e la tumorigenesi (Tan et al., 2019). I livelli tsRNA negli esosomi plasmatici erano significativamente più alti nei pazienti con epatocarcinoma (Zhu et al., 2019). Alcuni tsRNA sono stati usati per le diagnosi di adenocarcinoma duttale pancreatico con elevata precisione (Xue et al., 2021). Il ruolo dei tsRNA nell'angiogenesi del glioma richiede un'ulteriore esplorazione.

Discussione

Il microambiente tumorale in continua evoluzione domina l'angiogenesi da molteplici aspetti. Gli ncRNA sono prodotti da una varietà di cellule donatrici per regolare più percorsi in una serie di diverse cellule riceventi nel microambiente tumorale per influenzare l'angiogenesi del glioma. La complessità della rete di regolazione dell'ncRNA è sia una possibilità che una sfida per lo sviluppo della terapia dell'RNA contro l'angiogenesi. Da un lato, le terapie con ncRNA possono funzionare su più cellule bersaglio e più vie di segnalazione con elevata libertà di sopprimere l'angiogenesi. D'altra parte, bisogna essere molto cauti per evitare effetti fuori bersaglio indesiderati quando si utilizzano gli ncRNA. Per quanto riguarda la somministrazione di farmaci nella terapia con ncRNA, le vescicole extracellulari possono funzionare come strumenti sicuri ed efficaci per trasportare gli ncRNA nel microambiente tumorale. Tuttavia, l'utilizzo delle EV richiede un sistema standard ampiamente accettato. Da notare, gli EV prodotti naturalmente come molecole di supporto del tumore possono essere importanti bersagli clinici per la terapia anti-angiogenica. Presi insieme, gli ncRNA come molecole regolatrici critiche nel microambiente tumorale sono profondamente coinvolti nell'angiogenesi del glioma. Studi futuri garantirebbero sicuramente la terapia anti-angiogenica a base di ncRNA.