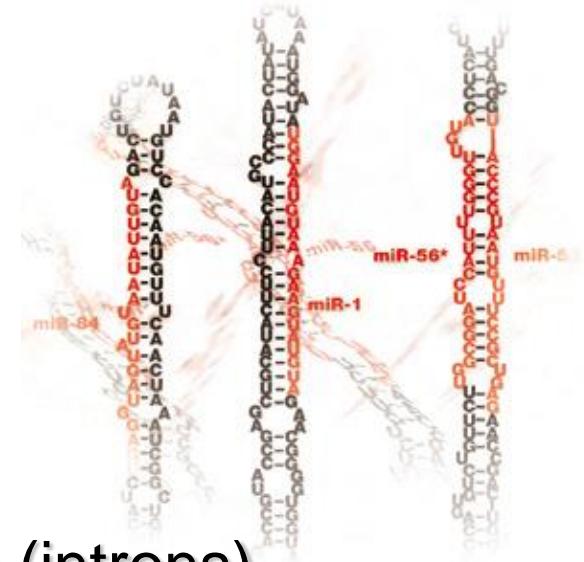


# Expressió i quantificació de miRNA en el teixit pulmonar neoplàsic i en la circulació perifèrica

Beca SOCAP 2009

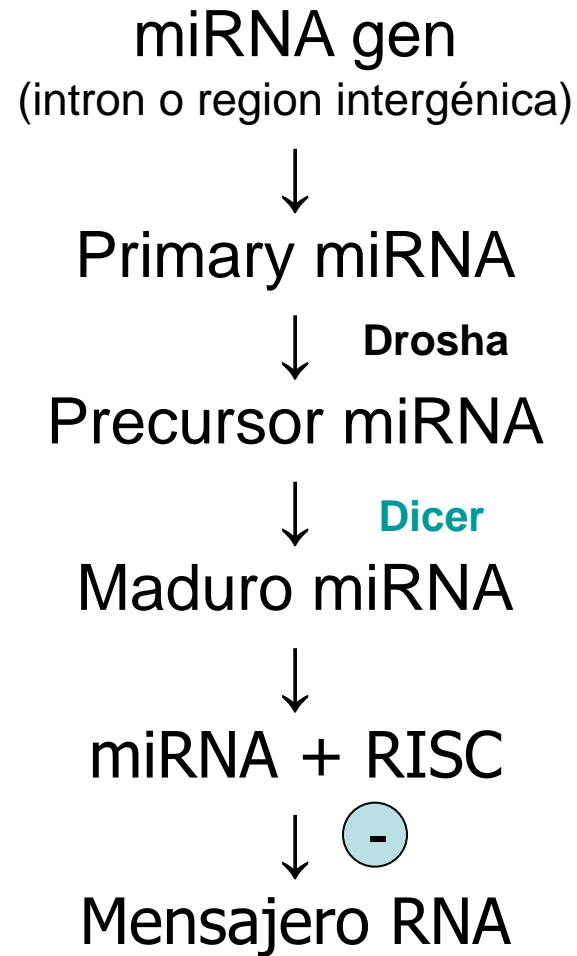
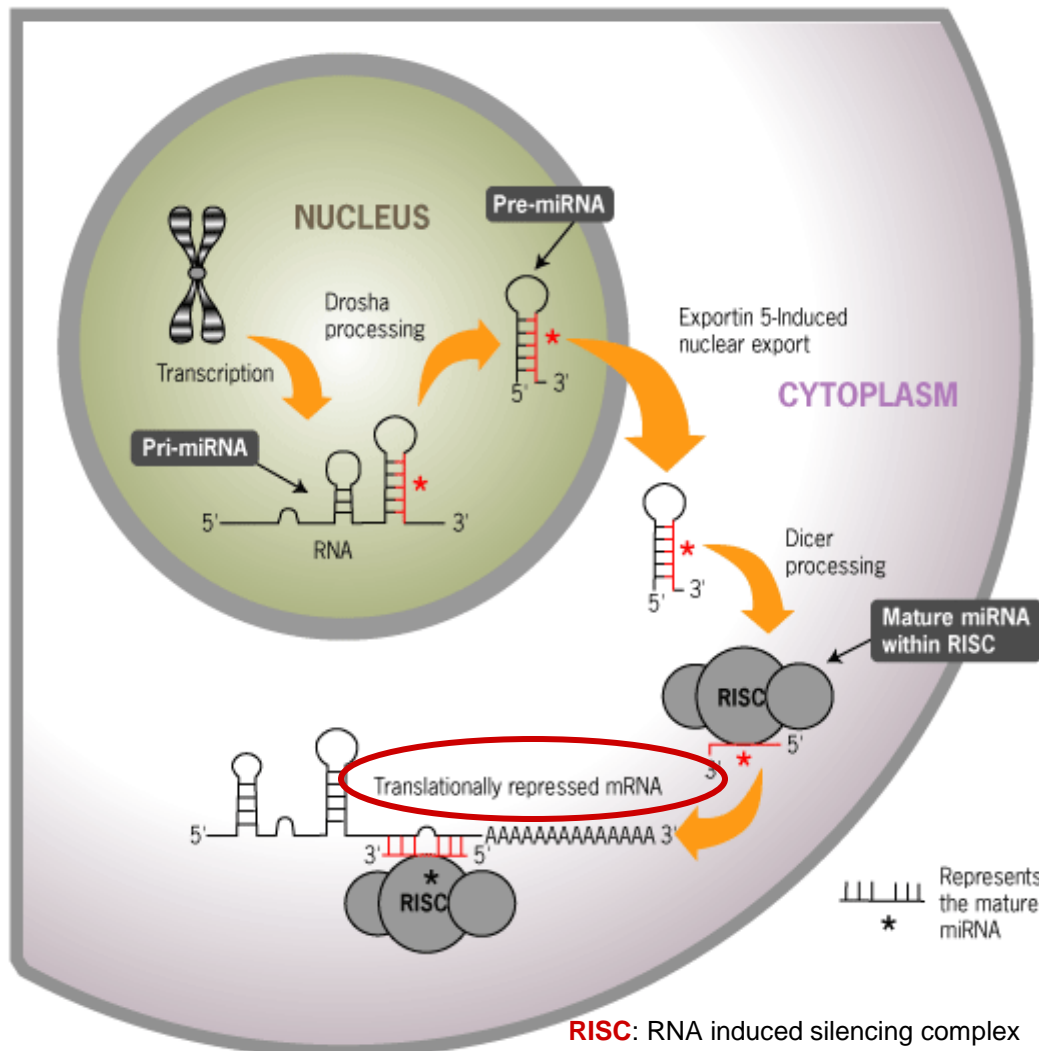
IP Dr. Ramon M<sup>a</sup> Marrades

# Micro RNA (miRNA)

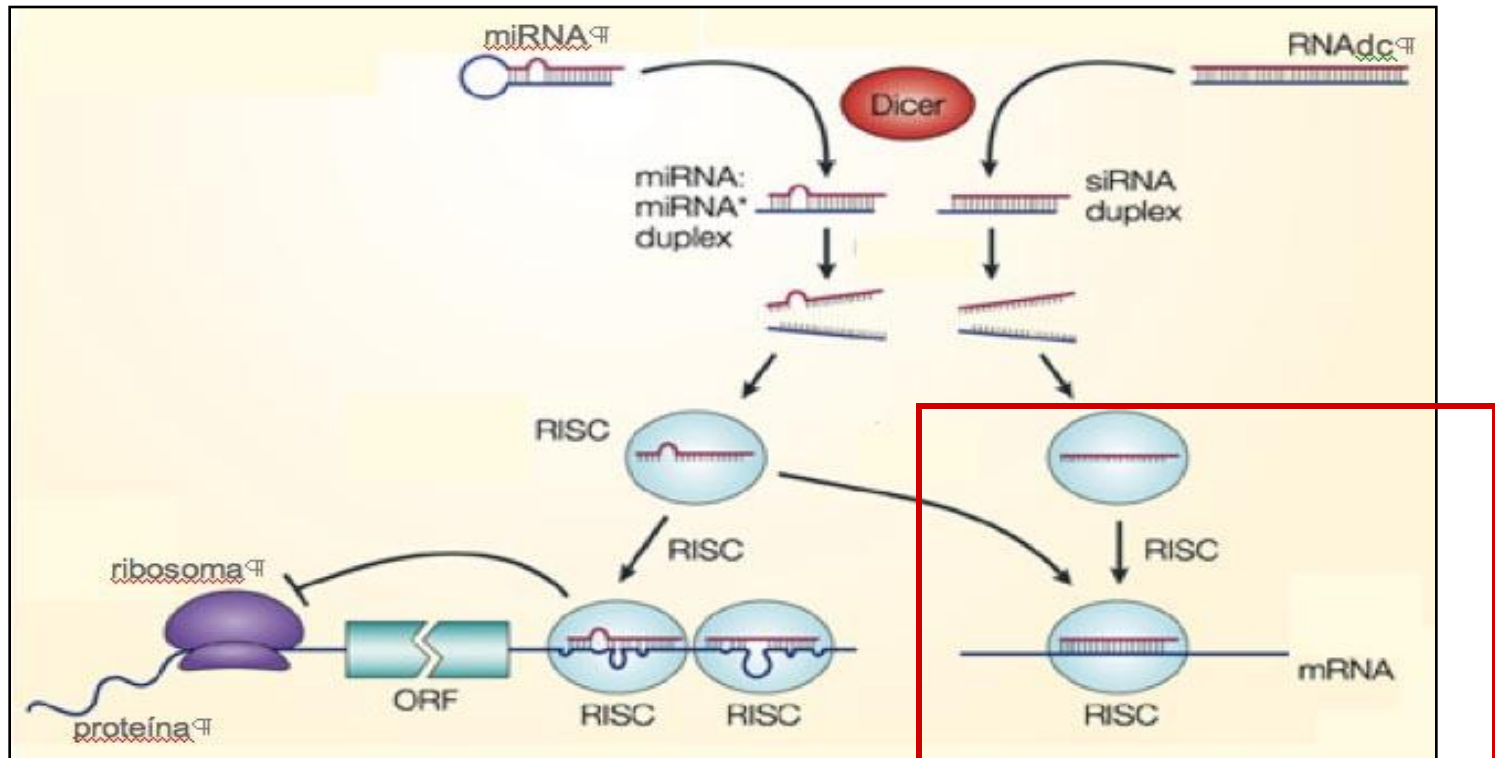


- Petites molècules de RNA no codificant de uns 22 nucleòtids (introns).
- Regulen l'expressió (traducció) de RNAm.
- Els miRNAs tenen diferents patrons d'expressió als diferents teixits.
- S'identifiquen mitjançant les tècniques habituals de detecció de RNA.

# microRNA biogenesis



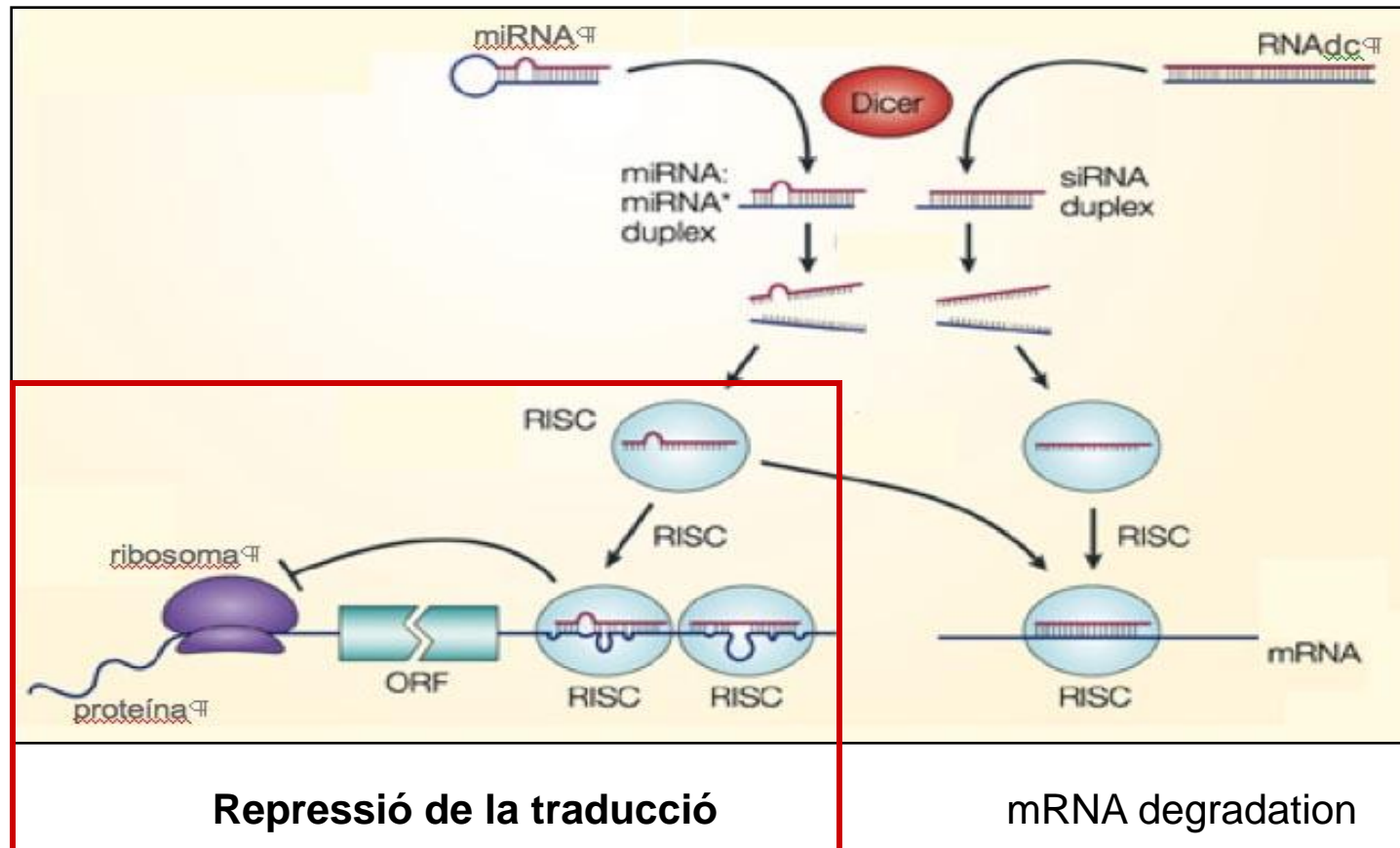
# miRNA mecanismes i funció



Translation repression

Degradació del mRNA

# miRNA mecanismes i funció



Regulació negativa de l'expressió gènica a nivell post-transcripcional

REVIEW ARTICLE

MOLECULAR ORIGINS OF CANCER

# Oncogenes and Cancer

Carlo M. Croce, M.D.

CANCER IS CAUSED BY ALTERATIONS IN ONCOGENES, TUMOR-SUPPRESSOR genes, and microRNA genes. These alterations are usually somatic events,

although germline mutations can predispose a person to heritable or familial cancer. A single genetic change is rarely sufficient for the development of a malignant tumor. Most evidence points to a multistep process of sequential alterations in several, often many, oncogenes, tumor-suppressor genes, or microRNA genes in cancer cells.

# Adding fuel to fire: microRNAs as a new class of mediators of inflammation

F J Sheedy, L A J O'Neill

*Ann Rheum Dis* 2008;**67**(Suppl III):iii50–iii55.

# Clinical Applications for microRNAs in Cancer

SP Nana-Sinkam<sup>1,2,3</sup> and CM Croce<sup>2,3,4</sup>

Clinical Pharmacology and Therapeutics

VOLUME 93 NUMBER 1 | JANUARY 2013 | [www.nature.com/cpt](http://www.nature.com/cpt)



Eur Respir J 2013; 41: 695–705  
DOI: 10.1183/09031936.00212011  
Copyright©ERS 2013

## REVIEW

# MicroRNAs and respiratory diseases

**Hitasha Rupani, Tilman Sanchez-Elsner and Peter Howarth**



ORIGINAL ARTICLE

# Treatment of HCV Infection by Targeting MicroRNA

Harry L.A. Janssen, M.D., Ph.D., Hendrik W. Reesink, M.D., Ph.D., Eric J. Lawitz, M.D.,  
Stefan Zeuzem, M.D., Maribel Rodriguez-Torres, M.D., Keyur Patel, M.D.,  
Adriaan J. van der Meer, M.D., Amy K. Patick, Ph.D., Alice Chen, B.A.,  
Yi Zhou, Ph.D., Robert Persson, Ph.D., Barney D. King, M.D.,  
Sakari Kauppinen, Ph.D., Arthur A. Levin, Ph.D., and Michael R. Hodges, M.D.

This article was published on March 27,  
2013, at [NEJM.org](http://NEJM.org).

**N Engl J Med 2013.**

**DOI: [10.1056/NEJMoa1209026](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1209026)**

*Copyright © 2013 Massachusetts Medical Society.*

# Introducció

- Factors de transcripció
  - SRY-related HMG box (SOX)2
  - Octamer-binding protein (OCT)4
  - NANOG

Son factors de transcripció relacionats amb la regulació de les cèl·lules embrionàries i la homeòstasi dels teixits adults

- La seva desregulació s'associa a carcinogènesis al pulmó i al esòfag.
- SOX 2 y OCT4 regula la expressió de miR-367
- L'expressió de miR-145 es regulada per p53

# Objectiu

- Determinar l'expressió de miR-367 y miR-145 en teixit tumoral i teixit normal
- Determinar si el gen de p53 esta mutat
- Veure la seva relació amb el pronòstic dels pacients

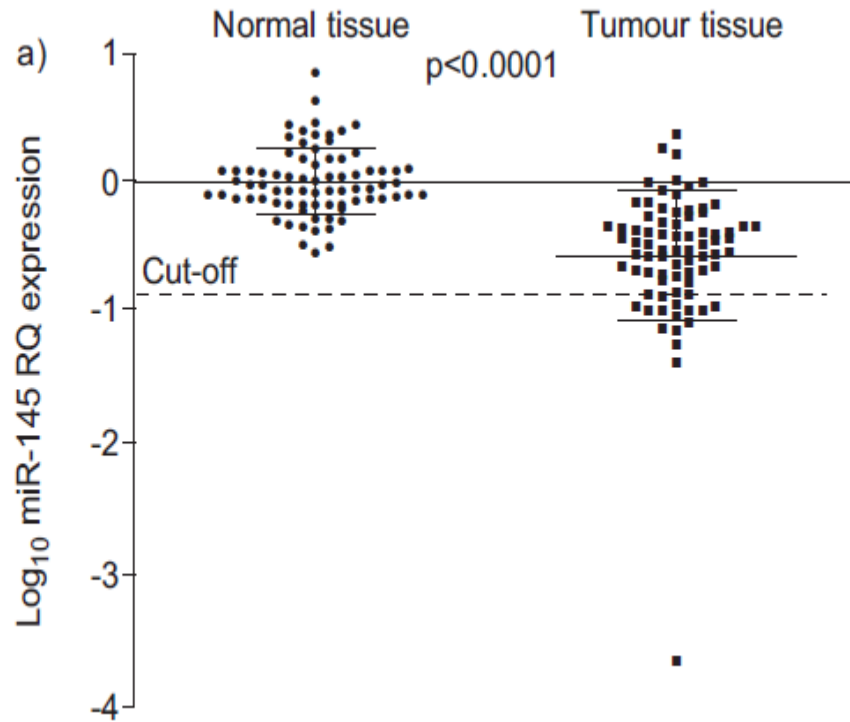
# Població

- 70 pacients
- 67 anys [46-83]
- 82% homes, 18% dones
- Tipus histològic
  - 51% ADK
  - 40% c. escatós
  - 9% altres
- Estadiatge
  - I 63%
  - II 17%
  - III 20%
- Tractament quirúrgic

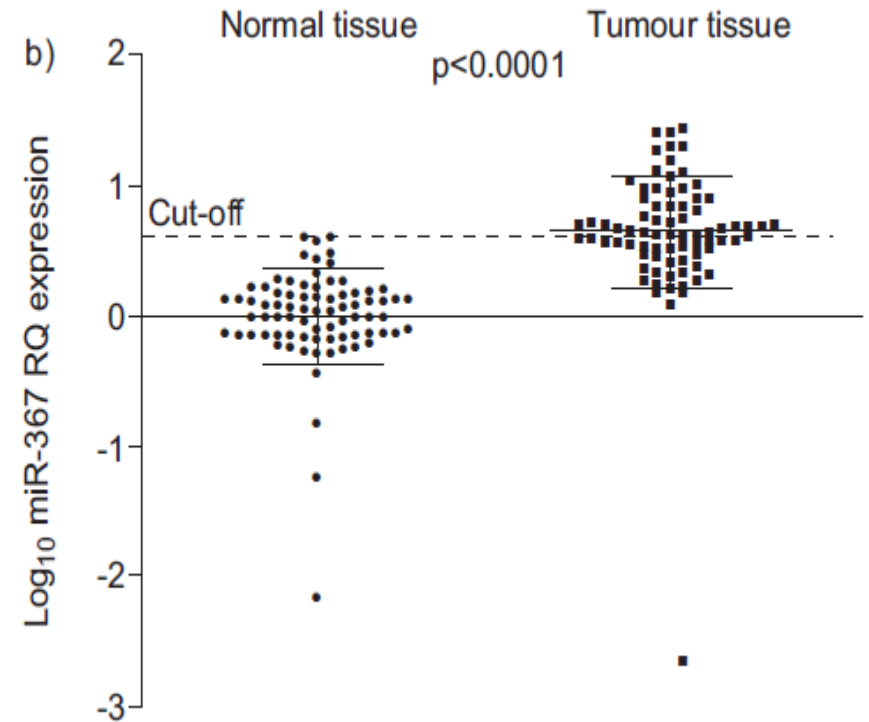
# Material i mètodes

- Mostra de tumor i de teixit normal obtingudes immediatament després de la cirurgia
- Mètodes
  - Extracció del RNA i ADN
  - Quantificació de microRNAs
  - Anàlisi de la mutació de p53
  - Evolució clínica
  - Mostra sanguínia abans de la intervenció i en cada control posterior.

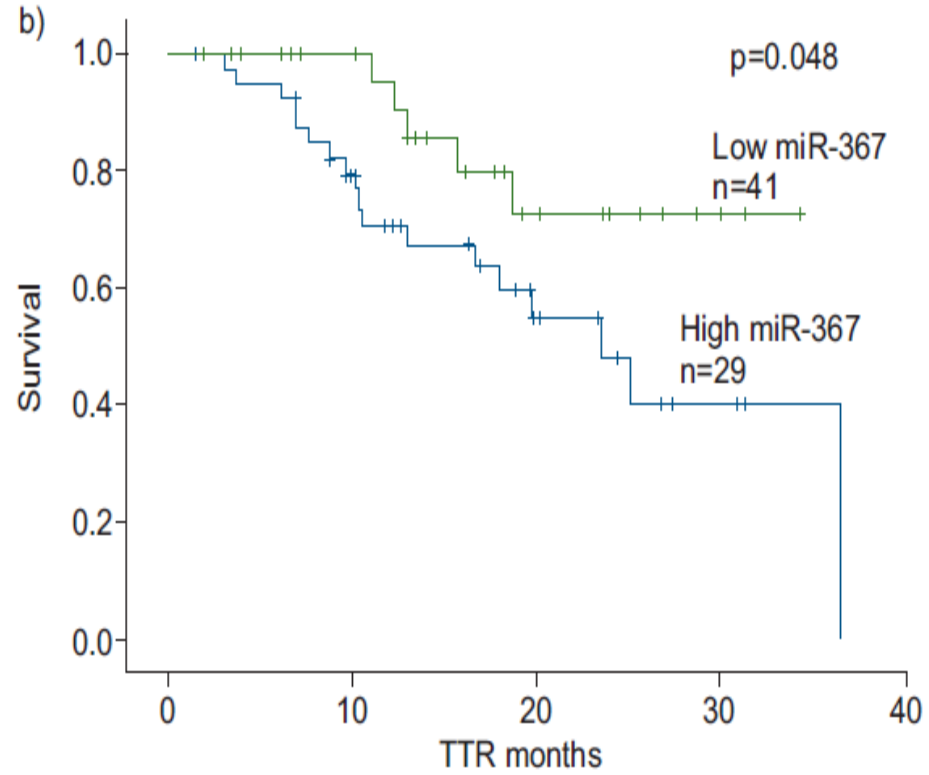
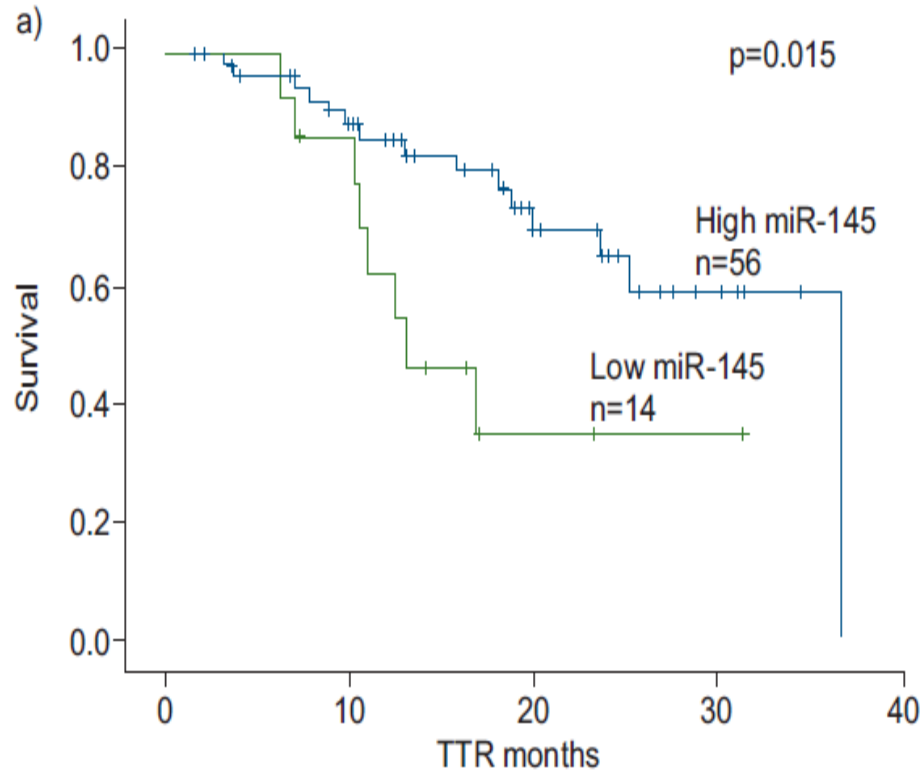
## Expressió de miR-145



## Expressió de miR-367

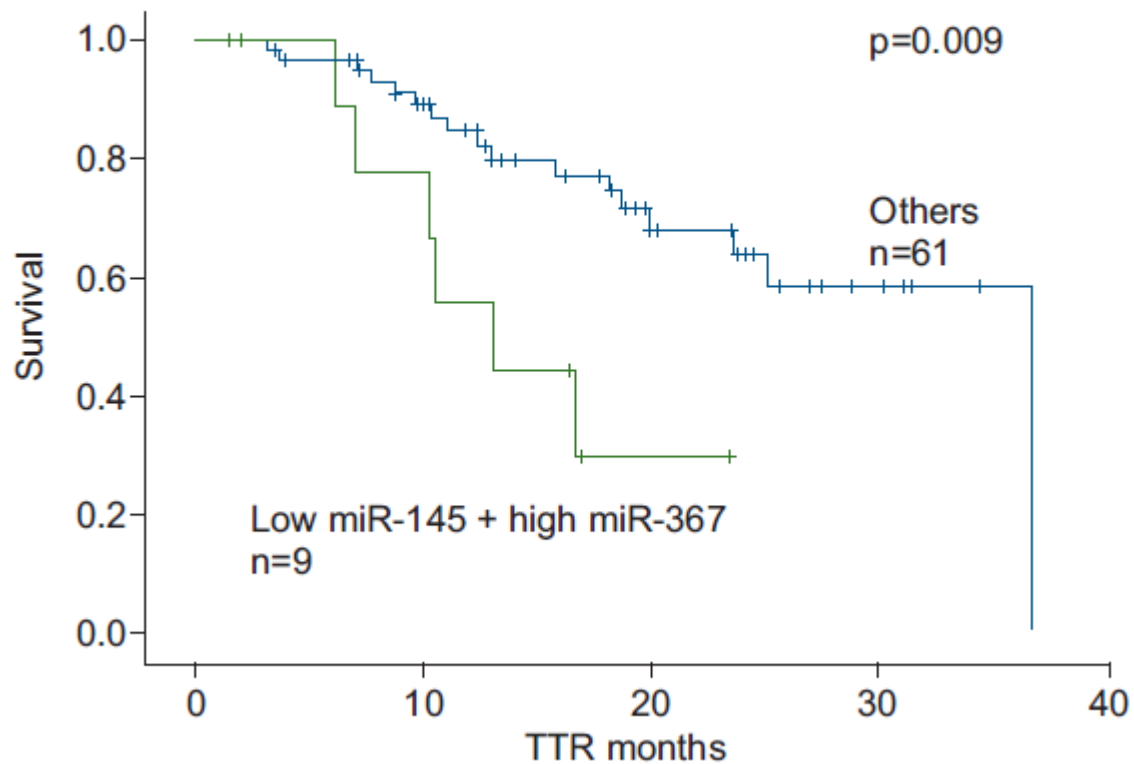


## Relació entre expressió de microRNAs i supervivència





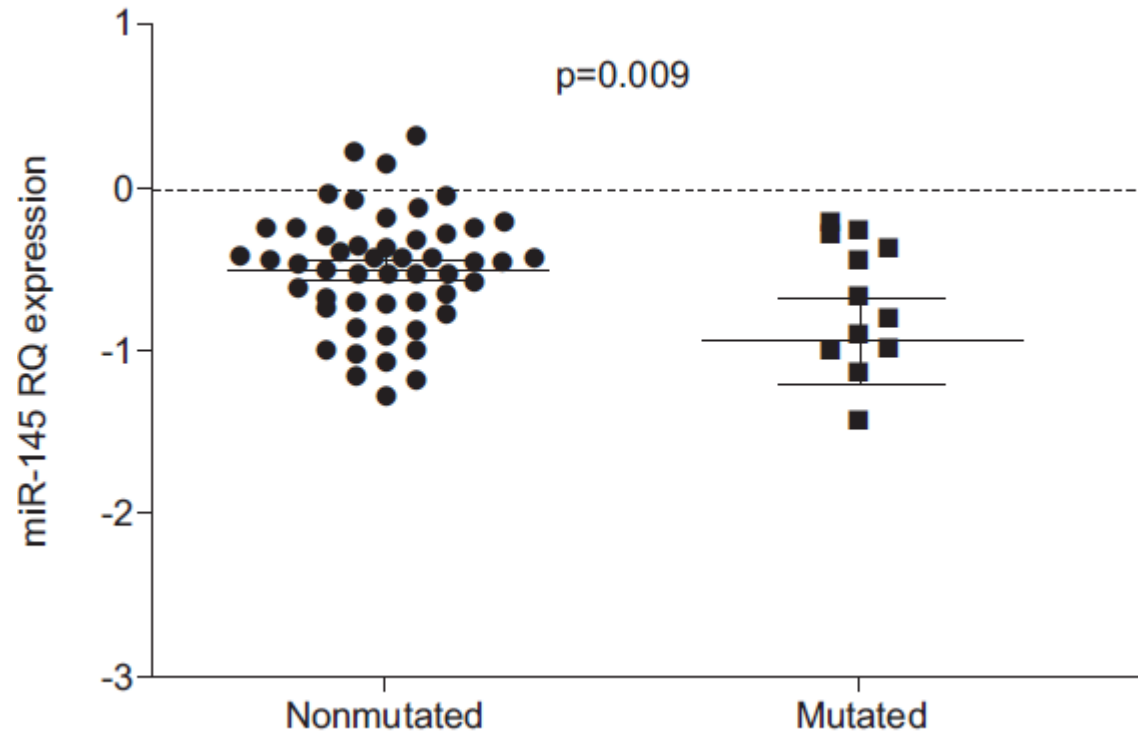
## Relació entre expressió de microRNAs i supervivència



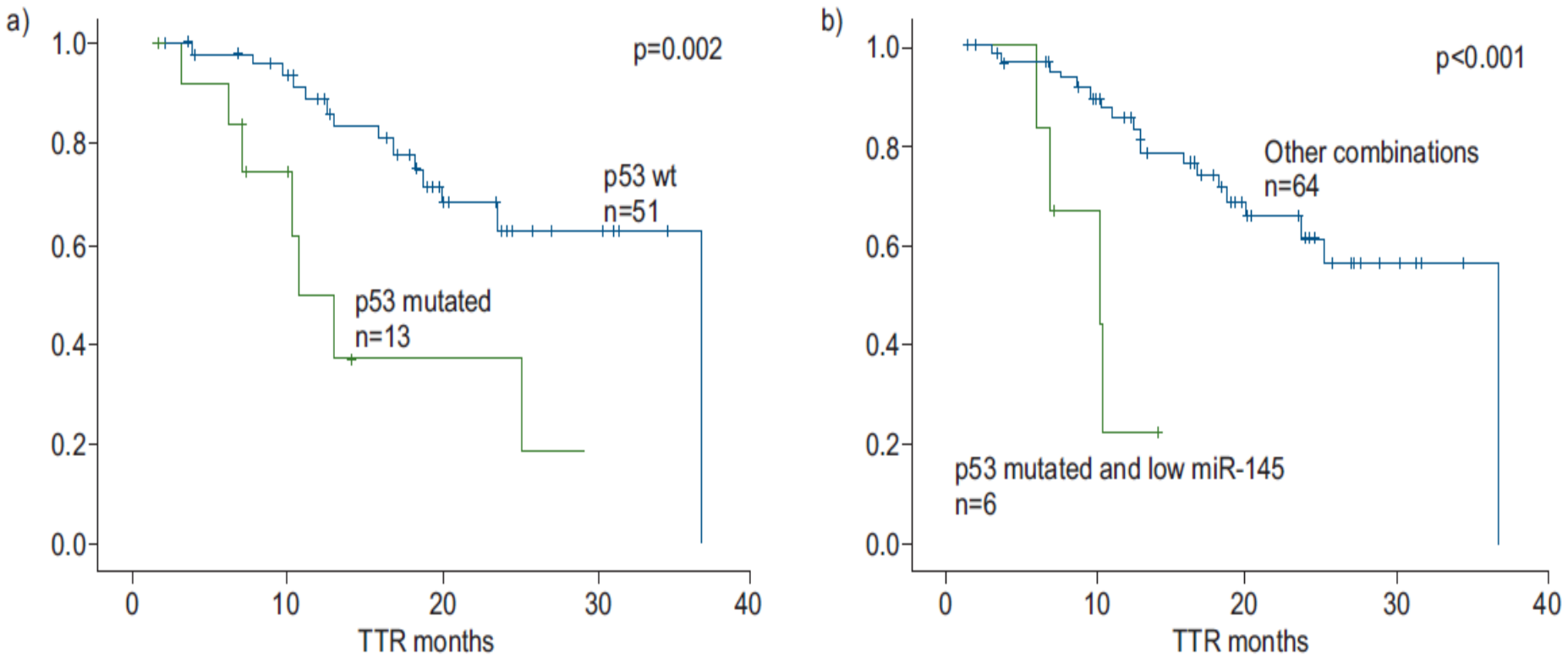
**TABLE 2** p53 mutations

Sample	Codon	Nucleotide change	Amino acid change	Exon
07-394	157	GTC>TTC	Val>Phe	5
07-413	141	TGC>GGC	Cys>Gly	5
09-311	157	GTC>TTC	Val>Phe	5
08-647	129	GCC>GTC	Ala>Val	5
07-326	214	CAT>GAT	His>Asp	6
07-306	213	CGA>TGA	Arg>STOP	6
09-310	196	CGA>TGA	Arg>STOP	6
08-008	215	AGT>ATT	Ser>Iso	6
09-022	242	TGC>AGC	Cys>Ser	7
09-213	248	CGG>CAGG	Insertion	7
08-206	272	GTG>GAG	Val>Glu	8
09-327	273	CGT>CTT	Arg>Leu	8
08-562	285	GAG>GTG	Glu>Val	8

## Relació entre miR-145 i mutació de p53



# Relació entre mutació de p53, expressió de microRNAs i supervivència



**FIGURE 5.** Kaplan-Meier curves for time to relapse (TTR) a) in patients with mutated or wild-type p53 and b) in patients with both mutated p53 and low miR-145 expression versus all other patients. wt: wild type.

# Conclusions

- miR-145 y miR-367 podrien ser útils com factors pronòstics en el càncer de pulmó de cèl·lula no petita.
- p53 sembla relacionada amb l'expressió de miR-145 en el càncer de pulmó de cèl·lula no petita.

Eur Respir J 2013; 41: 1–1  
DOI: 10.1183/09031936.00048712  
Copyright©ERS 2013

**Editorials** / Who can pay for innovative medicines? page 495 /  
A BOLD statement on how to case-find moderate/severe COPD page 503  
**Originals** / Radial probe EBUS versus CT-guided needle biopsy for  
evaluation of peripheral pulmonary lesions: an economic analysis page 539 /  
Cost-effectiveness of tiotropium versus salmeterol, the POET-COPD trial  
page 556 / Dynamic respiratory mechanics and exertional dyspnoea in  
pulmonary arterial hypertension page 578 / Tuberculosis treatment outcome  
monitoring in European Union countries: systematic review page 635  
**Reviews** / MicroRNAs and respiratory diseases page 695 / Smoking  
and asthma: dangerous liaisons page 716  
**Series** / Surgical treatment of chronic thromboembolic pulmonary  
hypertension page 735 / Imaging the inflammatory activity of sarcoidosis  
page 743

# Low miR-145 and high miR-367 are associated with unfavourable prognosis in resected nonsmall cell lung cancer

**Marc Campayo<sup>\*,f</sup>, Alfons Navarro<sup>#,f</sup>, Nuria Viñolas<sup>\*</sup>, Tania Diaz<sup>#</sup>, Rut Tejero<sup>#</sup>, Josep M. Gimferrer<sup>¶</sup>, Laureano Molins<sup>¶</sup>, Maria L. Cabanas<sup>+</sup>, Jose Ramirez<sup>+</sup>, Mariano Monzo<sup>#</sup> and Ramon Marrades<sup>§</sup>**

This work was supported by grants from FIS 080135, 09 00547, SEPAR and SOCAP.

# Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma

Charles H. Lawrie,<sup>1</sup> Shira Gal,<sup>1</sup> Heather M. Dunlop,<sup>1</sup> Beena Pushkaran,<sup>1</sup> Amanda P. Liggins,<sup>1</sup> Karen Pulford,<sup>1</sup> Alison H. Banham,<sup>1</sup> Francesco Pezzella,<sup>1</sup> Jacqueline Boulton,<sup>1</sup> James S. Wainscoat,<sup>1</sup> Christian S. R. Hatton<sup>2</sup> and Adrian L. Harris<sup>3</sup>

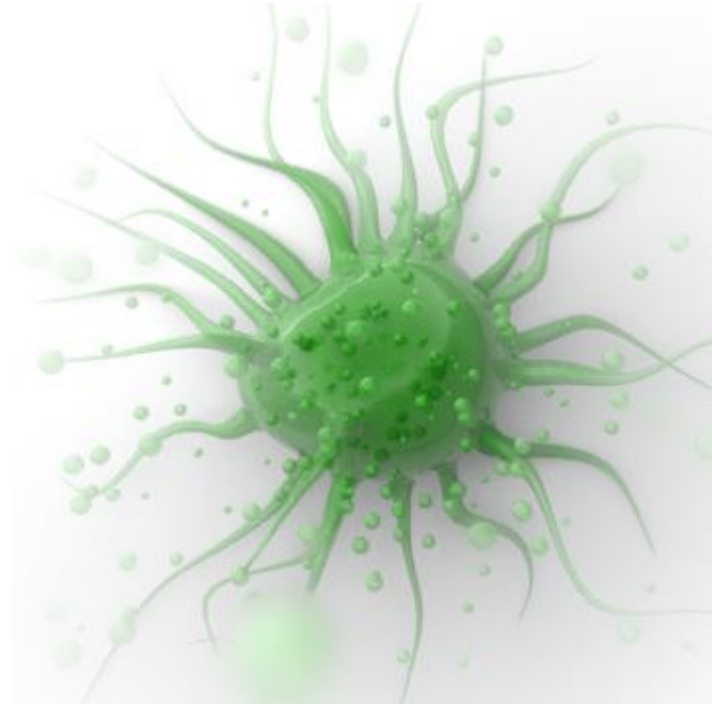
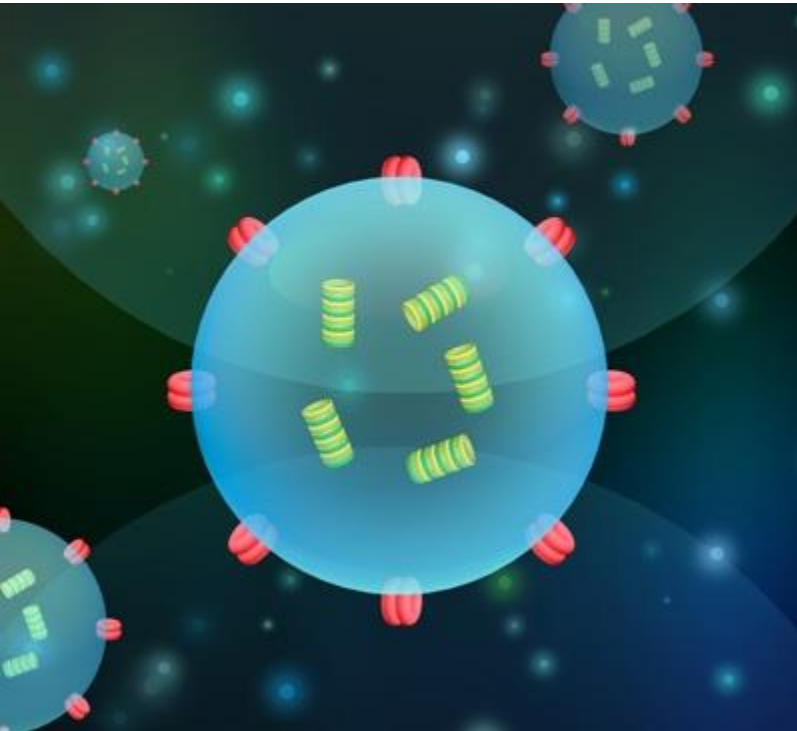
© 2008 The Authors  
*British Journal of Haematology*, **141**, 672–675

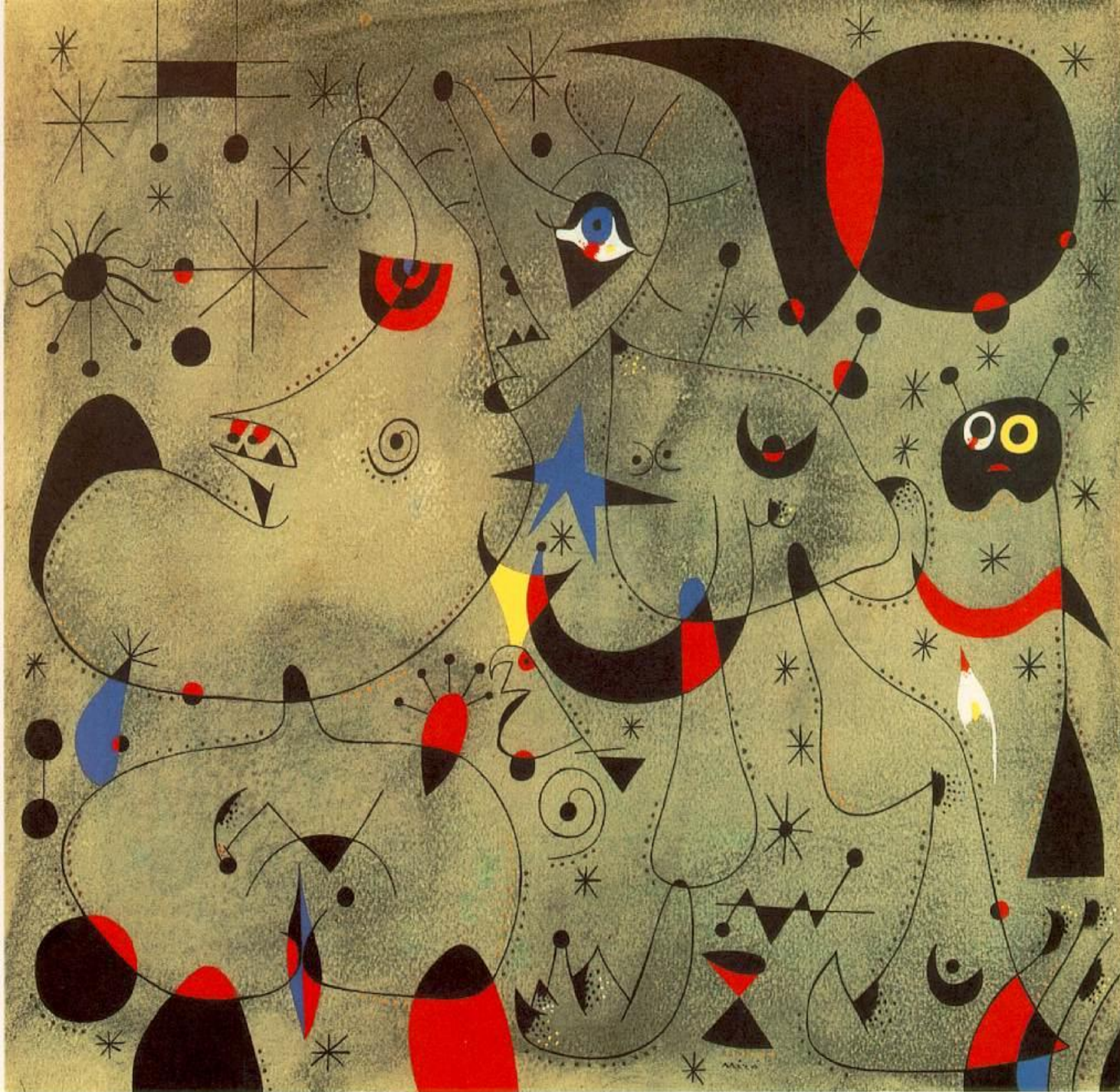
**TABLE 2** Techniques used to profile microRNA (miRNA) expression

Technique	Details
<b>Northern blotting</b>	<p>Uses radioactive probes</p> <p>Low sensitivity unless LNA-modified oligonucleotide probes used</p> <p>Very time-consuming and requires large amounts (5–25 µg) of total RNA from each sample</p> <p>Therefore, not practical in large clinical studies</p>
<b>Cloning</b>	<p>Identified many of the original miRNAs</p> <p>Time-consuming and impractical for large-scale detection of hundreds of miRNAs</p>
<b>miRNA oligo microarray</b>	<p>Involves hybridisation of miRNAs to oligonucleotides</p> <p>Allows for the detection of large numbers of miRNAs in one experiment</p> <p>Possible cross-detection of immature forms of miRNA</p> <p>Labour intensive, relatively expensive and a high level of expertise needed</p> <p>Requires large amounts of high-quality RNA to achieve reliable results</p>
<b>Bead-based flow cytometry</b>	<p>Involves both amplification and hybridisation</p> <p>Each latex bead is assigned to a unique miRNA</p> <p>For the PCR reaction biotinylated PCR forward primers are used, which can react enzymatically with streptavidin–phycoerythrin to emit a coloured signal that can be registered by a flow cytometer</p> <p>Can be used to indicate presence and quantity of specific miRNAs</p> <p>Extremely labour intensive</p>
<b>Real-time PCR/qPCR</b>	<p>Gold standard of nucleic acid quantification</p> <p>Able to detect low copy numbers with high sensitivity and specificity</p> <p>Can be used for clinical samples with minute amounts of available RNA</p> <p>Can discriminate between isoforms of related miRNAs that differ by only one or two base pairs</p> <p>qPCR-based microarrays can simultaneously determine expression levels for large numbers of miRNAs in a single experiment</p>
<b><i>In situ</i> detection</b>	<p>Can be used in paraffin-embedded, formalin-fixed tissue</p> <p>Can be used to locate the cellular and sub-cellular distribution of the miRNA</p> <p>Two methods: RT <i>in situ</i> PCR and <i>in situ</i> hybridisation with an LNA probe</p>
<b>Deep sequencing</b>	<p>Allows simultaneous sequencing of millions of RNA (or DNA) molecules</p> <p>Measures absolute abundance, allowing for the discovery of novel miRNAs</p> <p>Expensive but becoming more available to researchers</p>



# Exosomes i microvesicules





Thanks  
Merci  
Gracias  
Obrigado

Danke

Gràcies  
Grazie

ありがとう

Multumesc  
Gratia