



**HAL**  
open science

## Les microARN et leur potentiel thérapeutique en cancérologie : le point en 2020

Véronique Trézéguet, Christophe F Grosset

► **To cite this version:**

Véronique Trézéguet, Christophe F Grosset. Les microARN et leur potentiel thérapeutique en cancérologie : le point en 2020. journal de Biologie Médicale, 2020, 8 (32), pp.271. inserm-02519458

**HAL Id: inserm-02519458**

**<https://inserm.hal.science/inserm-02519458>**

Submitted on 26 Mar 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Les microARN et leur potentiel thérapeutique en cancérologie : le point en 2020

## MicroRNAs and their therapeutic potential in oncology: an overview in 2020

V. Trézéguet<sup>1,2</sup>, C. Grosset<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Univ. Bordeaux, Inserm, BMGIC, U1035, Equipe miRCaDe, 33076 Bordeaux, France

<sup>2</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2487-7571>

<sup>3</sup> ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0479-6291>

### Résumé

Depuis leur découverte dans les années 1990, les microARN (miARN) fascinent les scientifiques par leur capacité à réguler post-transcriptionnellement et de façon fine un large spectre de gènes et à contrôler la quasi-totalité des processus cellulaires. Les miARNs sont des médiateurs clés de la reprogrammation génique et des fonctions cellulaires en conditions physiologiques et pathologiques, notamment dans le cancer. Cette mini-revue résume les étapes de la biogénèse des miARN et de la régulation de la traduction et de la stabilité des ARNm. Nous rappelons les règles d'appariement entre un miARN et sa cible et évoquons le réseau moléculaire dense et complexe, fait de milliers d'interactions entre gènes et miARNs, mis en lumière grâce aux progrès phénoménaux de la bioinformatique et du séquençage des ARN au cours des vingt dernières années. Nous soulignons enfin leur rôle dans la carcinogenèse et leur potentiel thérapeutique comme agents anticancéreux avec quelques exemples de miARNs évalués lors d'essais cliniques. En conclusion, nous soulignons l'importance de poursuivre les efforts de recherche dans le domaine des miARNs et notamment sur la vectorisation des petits ARN, car malgré les obstacles à surmonter, ils restent des candidats majeurs et prometteurs dans le traitement du cancer.

**Mots clés :** MicroARN ; biogénèse ; cancer ; thérapie

\* **Auteur correspondant :**

**Christophe GROSSET**

E-mail : [christophe.grosset@u-bordeaux.fr](mailto:christophe.grosset@u-bordeaux.fr)

## Abstract

Since their discovery in the 1990s, microRNAs (miRNAs) have fascinated scientists with their ability to regulate a broad spectrum of genes post-transcriptionally and finely, and control almost all cellular processes. miRNAs are key mediators of gene reprogramming and cellular functions under physiological and pathological conditions, particularly in cancer. This mini-review summarizes the steps in miRNA biogenesis and regulation of mRNA translation and stability. We remind the molecular matching rules between a miRNA and its target and evoke the dense and complex molecular network-made up of thousands of interactions between genes and miRNAs-and highlighted by the phenomenal advances in bioinformatics and RNA sequencing in recent years. Finally, we highlight their role in carcinogenesis and their therapeutic potential as anti-cancer agents, giving some examples of miRNAs evaluated in clinical trials. In conclusion, we stress the importance of continuing research efforts in miRNA field, particularly for the vectorization of small RNAs, because despite the obstacles to be overcome, they remain major and promising candidates in cancer treatment.

**Key-words:** MicroRNA; biogenesis; cancer; therapy

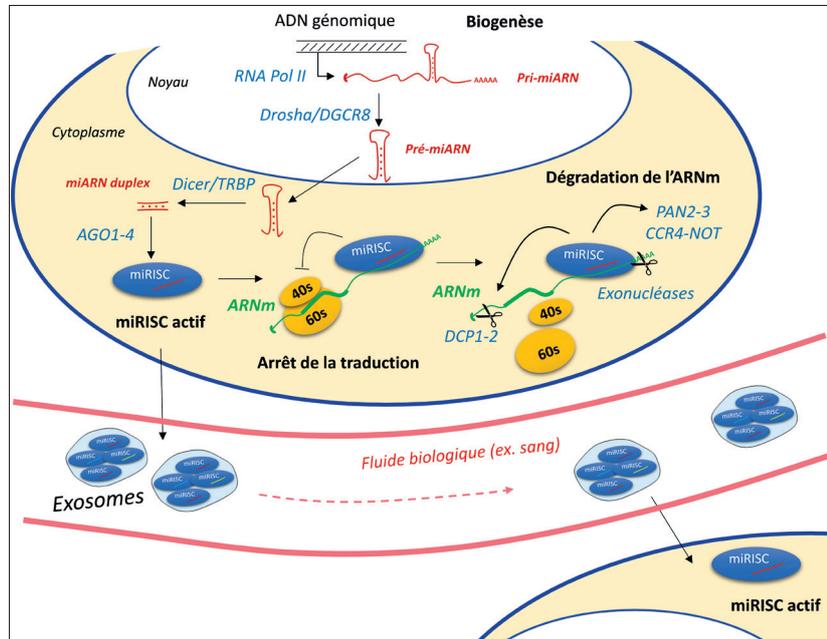
## Introduction

Les animaux, les végétaux et certains virus encodent dans leur génome et expriment des petits ARN non-codants de 18 à 24 nucléotides appelés microARN (miARN). Ces petites molécules assurent une régulation fine, dynamique et transitoire de l'expression des gènes et du taux de protéines produites par un mécanisme post-transcriptionnel qui fait intervenir les machineries de contrôle associées aux ARN messagers (ARNm). Leur rôle est donc essentiel dans la mise en place du programme génique, la réponse aux stimuli internes ou externes et l'activation ou l'inhibition de processus biologiques fondamentaux tels que la production d'énergie, la signalisation, la division, la mort ou la migration cellulaires, mais ils interviennent également dans certains processus pathologiques chez l'Homme comme la transformation tumorale et le cancer.

## Biogenèse canonique des miARN

La biogenèse de la grande majorité des miARN, dite canonique, s'effectue selon un processus séquentiel

complexe qui débute dans le noyau et se termine dans le cytoplasme (Figure 1). Des formes non-canoniques de biogenèse existent pour certains miARN mais ne sont pas décrites dans cette revue. La biogenèse canonique est initiée par la transcription des gènes de miARN par l'ARN Polymérase II qui synthétise un transcrit primaire appelé Pri-miARN. Ce transcrit primaire est polyadénylé côté 3', coiffé côté 5' et contient des structures secondaires particulières en forme d'épingle à cheveux reconnues spécifiquement par un premier complexe multiprotéique appelé "microprocesseur" et composé des protéines Drosha et DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region 8). La coupure du Pri-miRNA par Drosha/DGCR8 au niveau nucléaire donne naissance à un ARN précurseur structuré, appelé Pré-miARN et long d'environ 70 nucléotides qui est ensuite exporté par la protéine Exportine-5 dans le cytoplasme. Là, il est pris en charge par un second complexe protéique, composé de Dicer et de son cofacteur TRBP (TAR RNA-binding protein). Après une seconde coupure par le complexe Dicer/TRBP, un duplex miARN-miARN mature et partiellement complémentaire est généré puis chargé sur l'une des 4 protéines Argonautes au sein de laquelle les deux brins d'ARN sont séparés et l'un des



**Figure 1** : Récapitulatif des processus de biosynthèse et du mode de fonctionnement et de circulation des miRNA

deux brins est sélectionné selon des règles thermodynamiques qui restent à mieux définir. Ce processus de maturation aboutit à la production d'un complexe effecteur appelé miRISC (miRNA-induced silencing complex) qui possède un miARN simple-brin prêt à s'engager dans une interaction avec une de ses cibles. Par convention, le miARN provenant du bras 5' du pré-miARN est appelé "miR-XXX-5p" (ex : miR-1271-5p) alors que celui provenant du bras 3' est appelé "miR-XXX-3p" (ex : miR-1271-3p). Lorsque l'un ou l'autre des deux brins du duplex miARN-miARN est chargé dans RISC de façon quasi-exclusive, alors le miARN est appelé "miR-XXX" sans extension (ex : miR-4510). Pour finir, miRISC, chargé du miARN simple-brin sélectionné, s'apparie à l'ARNm cible et régule le taux de protéine selon un mécanisme post-transcriptionnel faisant intervenir à la fois les machineries de traduction et de dégradation de l'ARNm.

## Mécanismes de régulation post-transcriptionnelle des ARNm par les miARN

La régulation d'un ARNm par un miARN est, là encore, un processus séquentiel et complexe qui fait intervenir plusieurs assemblages protéiques (Figure 1) [1]. Il débute

en premier lieu par la fixation de miRISC sur sa cible puis l'arrêt de traduction de l'ARNm qui, s'il se prolonge, est suivi par l'enlèvement de la queue poly(A) (ou désadénylation) du côté 3' grâce aux complexes PAN2-PAN3 et CCR4-NOT, et le retrait de la coiffe côté 5' via le complexe DCP1-DCP2. L'ARNm ainsi dépourvu de ses extrémités protectrices est rapidement dégradé par des exonucléases dont XRN1. Le bon fonctionnement de ce processus est assuré par de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques comme le degré de stabilité de l'appariement miARN:ARNm, la position du site de fixation du miARN au sein du transcrit, les RNA-binding proteins associées, les signaux environnementaux (stimulus, phosphorylation, sumoylation...) et plus globalement le contenu moléculaire de la cellule modèle qui peut fortement varier d'un type cellulaire à un autre [2].

Chez les mammifères, les miARN semblent cibler préférentiellement la région 3'-non traduite (3'-NT) des ARNm, puis la région codante et enfin, la région 5'-non traduite (5'-NT). La position du site de liaison du miARN, la séquence ARN environnante, les structures secondaire et tertiaire de l'ARNm ainsi que les protéines qui s'y fixent font partie des éléments qui contrôlent la force d'appariement d'un miARN avec sa cible. Si le site est situé dans la région 3'-NT, le miARN interagit plutôt avec l'ARNm grâce à sa partie 5' appelée "graine" ("seed" en anglais) qui comprend les nucléotides

2 à 7. Des appariements complémentaires avec la cible peuvent renforcer cette liaison initiale, notamment, avec la base 8 du miARN et les nucléotides 13 et 16 du côté 3' [3]. L'action des miARN serait aussi favorisée par la stabilisation des interactions entre la région 3'-NT de l'ARNm et le complexe miRISC grâce notamment à une adénosine située dans la séquence de la cible, immédiatement en aval du site du miARN [2]. Un nouveau type de mécanisme de reconnaissance et d'inhibition de la traduction, induit par les miARN mais associé à la région codante, a récemment été décrit [4]. De façon non-conventionnelle, les miARN se lient à la région codante de l'ARNm cible par le biais des bases situées côté 3' du miARN et répriment la traduction par un mécanisme dépendant des protéines Argonautes.

Depuis 2003, de nombreux outils de prédiction permettant de déterminer si un miARN peut interagir ou non avec telle ou telle cible ont été développés [5, 6]. Cependant, bon nombre de ces prédictions ont été remises en question [3, 7], ce qui sous-entend que seule une approche expérimentale rigoureuse, grâce notamment à l'utilisation de gènes rapporteurs et d'approches par mutagenèse dirigée [8], permet de valider la capacité d'un miARN à réguler un gène et de situer son site de fixation dans la séquence du transcrite cible.

## Les interactions miARN-transcrit : un niveau de complexité supplémentaire pour assurer un contrôle fin et dynamique de l'expression génique et de l'adaptabilité cellulaire

La compréhension et l'établissement de règles d'appariement combinés au développement d'outils bioinformatiques spécifiques ont permis de montrer qu'un même ARNm peut être la cible de plusieurs miARN et qu'un miARN peut réguler jusqu'à plusieurs dizaines d'ARNm différents. Il n'en demeure pas moins que la probabilité de régulation d'un ARNm par des miARN augmente avec sa taille et notamment la longueur de la région 3'-NT. De plus, selon les prédictions bioinformatiques, environ 60 % des ARNm codants seraient sous le contrôle d'au moins un miARN. L'exactitude de ce chiffre reste difficile à vérifier au niveau expérimental, sachant que les prédictions bioinformatiques sont elles-mêmes imparfaites. Cependant, avec le développement constant des outils de bioinformatique et de séquençage,

le "machine learning" et les méta-analyses de milliers de jeux de données de RNA-seq, il est possible d'envisager qu'un jour ce chiffre sera plus précisément défini. Quoi qu'il en soit le pourcentage exact de transcrits réellement sous l'influence des miARN, le corollaire est que la quasi-totalité des processus biologiques sont directement ou indirectement régulés par les miARN. Le réseau d'interconnexions biologiques entre les miARN et leurs ARNm cibles au sein d'une cellule est donc particulièrement complexe et il n'est pas sans rappeler le réseau des interconnexions neuronales observées dans le cerveau, avec ses nœuds, ses zones d'action et ses embranchements multiples. Cette image est d'autant plus expressive quand on rappelle que chez l'Homme, 2654 miARN sont dans le registre public miRBase ([www.mirbase.org](http://www.mirbase.org)) [9] et qu'une cellule peut exprimer entre 10 et 30 000 gènes.

## Les miARN circulent au sein de l'organisme via les fluides biologiques

Bien que la grande majorité des miARN ait une localisation cellulaire, on en détecte un nombre non négligeable dans le milieu extracellulaire sous forme circulante (miARNcirc) ou extracellulaire (miARNec). Cette configuration leur permet de circuler dans tout l'organisme via les fluides biologiques, tels que le sang, l'urine, le liquide céphalorachidien, les larmes ou la salive. Ces miARNcirc sont particulièrement stables car protégés des RNases par des protéines chaperonnes, notamment les protéines Argonaute et les lipoprotéines, ou enveloppés dans des microvésicules (exosomes, microparticules, corps apoptotiques) [10, 11]. Ces observations et les résultats de différentes études ont montré que le complexe effecteur miRISC peut être véhiculé par le sang et exporté d'un point à l'autre de l'organisme pour agir sur une cible à plus ou moins longue distance de son lieu de production selon un schéma rappelant celui des hormones (Figure 1) [12]. Ce mécanisme, dit de trans-communication cellulaire, ouvre de nouvelles perspectives en diagnostic et pronostic cliniques par le dosage plasmatique des miARN circulants à différents stades de la prise en charge médicale [13] et en thérapie anti-cancéreuse, notamment dans le domaine de la vectorisation des petits ARN (voir ci-après). Malgré tout, certaines équipes pensent qu'étant donné le faible nombre de miRISC par exosome, l'impact physiologique et physiopathologique de ce phénomène serait marginal [2].

## MicroARN, cancer et thérapie

Etant donné le rôle régulateur central joué par les miARN dans l'expression des gènes et les processus biologiques, leur implication en pathologie humaine, notamment dans le cancer, était prévisible. La première description d'un lien causal entre dérégulation d'un miARN et cancer a été faite en 2002 avec la perte ou la baisse d'expression de miR-15 et miR-16 dans la leucémie lymphoïde chronique [14]. Depuis, plus de 40 000 publications incluant les mots clés "microARN" et "cancer" ont été recensées sur le site Pubmed démontrant l'immense intérêt suscité par ces petits régulateurs géniques auprès de la communauté scientifique. Là encore, la conséquence immédiate de ces observations a été le développement de nombreuses stratégies visant à tirer parti de la capacité des miARN à réguler l'expression de plusieurs gènes et cibles à la fois. En effet, cette redondance fonctionnelle et l'origine biologique des miARN permettent d'envisager une résolution des problèmes de chimiorésistance, de toxicité et de récurrence tumorale en ciblant plusieurs oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeur simultanément à l'aide de dérivés synthétiques de ces petits ARN (miARN mimétique ou inhibiteur) ou en les combinant avec d'autres approches thérapeutiques que ce soit la chimio-, la radio-, l'hormono-, la cryo- ou depuis peu l'immunothérapie. Malheureusement, aujourd'hui encore, de nombreux obstacles restent à surmonter afin que ces petits ARN soient utilisables en thérapie. Tout d'abord, leur transport par le sang doit être efficace et garantir leur fonctionnalité. Ils doivent atteindre préférentiellement la tumeur sans trop diffuser dans les tissus normaux, être captés par les cellules tumorales et s'y concentrer suffisamment pour être actifs sur leurs cibles et provoquer un arrêt de croissance.

A titre d'exemple, des études ont été réalisées avec un modèle de xénotransplantes de cellules de carcinome hépatocellulaire (CHC) humain chez la souris après administration d'une combinaison de miR-122-5p et d'antimiR-21-5p synthétiques encapsulés dans des nanoparticules biodégradables de poly (lactico-glycolic acid) (PLGA) guidée par ultrasons focalisés [15]. Cette approche physique appelée "sonoporation" ou "sonoperméabilisation" permet de générer des microbulles de gaz et ainsi d'augmenter la pénétration des nanoparticules circulantes dans les tissus environnants. Dans le CHC, l'expression du miARN suppresseur de tumeur miR-122-5p est fortement diminuée, alors que celle de l'oncomiR miR-21-5p est fortement augmentée. L'administration combinée d'un miR-122-5p synthétique et d'un inhibiteur spécifique de miR-21-5p (ou antimiR-21-5p)

induit ainsi une forte diminution de la viabilité et de la prolifération des cellules de CHC *in vitro* et *in vivo* et accroît la sensibilité des cellules initialement résistantes à la chimiothérapie à base de doxorubicine [15] démontrant à nouveau l'intérêt des petits ARN en thérapie combinatoire.

Chez le porc, des essais similaires ont été réalisés pour faire pénétrer ces nanoparticules au sein des tissus profonds. Les résultats semblent prometteurs mais doivent être validés sur un nombre plus important d'animaux. Enfin, le système de délivrance par sonoperméabilisation a fait l'objet d'une évaluation clinique de phase I visant à administrer de la gemcitabine à des patients atteints d'un cancer inopérable du pancréas. L'espérance de vie des patients a plus que doublé et leur qualité de vie a été significativement améliorée, ce qui suggère une meilleure biodisponibilité et efficacité de la drogue lorsqu'elle est associée à la sonoperméabilisation [16]. Ces essais sont actuellement poursuivis avec une cohorte de patients plus large mais ces résultats démontrent d'ores et déjà que cette technique permet l'administration de miARN à visée thérapeutique chez l'Homme. En parallèle, une équipe chinoise a développé un système de nanoparticules, appelé BOMB, biodégradable, onco-sensible et basé sur des mégamères de polyéthylène glycol (PEG) avec l'idée d'administrer n'importe quel type de petits ARN chez l'animal et potentiellement chez les patients. L'agent de liaison de ces mégamères est sensible aux conditions du microenvironnement tumoral, telles que le pH légèrement acide et le milieu réducteur, ce qui semble faciliter l'administration ciblée de petits ARN comme les miARN au niveau du tissu tumoral [17].

Dans le cas des glioblastomes, tumeurs primaires du système nerveux central, la barrière hématoencéphalique est l'obstacle majeur à l'administration d'une thérapie, quelle qu'elle soit. Dans la plupart des glioblastomes, miR-21-5p est surexprimé et miR-100-5p sous-exprimé. Avec l'idée que pour atteindre les cellules cérébrales, l'administration par voie intranasale est une alternative satisfaisante à l'administration par voie sanguine, Sukumar et al. [18] ont conçu des nanoparticules polyfonctionnelles à base de cyclodextrines, de fer et d'or, appelées PolyGION, permettant la vectorisation et l'administration d'un mélange de miR-100-5p et d'antimiR-21-5p. Testées *in vivo* chez la souris avec un modèle de greffe orthotopique de cellules de glioblastomes, les nanoparticules administrées par voie nasale se sont accumulées dans la tumeur et sa taille a diminué très significativement. L'effet est d'autant plus fort lorsque les souris sont traitées en parallèle par chimiothérapie avec du témozolomide ce qui démontre une

fois encore l'avantage des approches combinées "drogue + petits ARN".

Au niveau clinique, deux industriels ont évalué l'efficacité des miARN en thérapie ciblée. Un premier essai clinique de phase I utilisant un miR-34a-5p synthétique vectorisé dans des nanoparticules liposomales (appelé MIRX34) a été réalisé dans le cadre d'un traitement du CHC, mais cet essai a dû être interrompu à cause de réactions immunitaires majeures [19]. En revanche, un essai clinique de phase I utilisant un miR-16-5p synthétique encapsulé dans une coque bactérienne (appelé TargomiR) s'est terminé avec succès pour le traitement du mésothéliome pleural malin et est actuellement en phase II [20]. Ainsi, malgré de nombreux obstacles et parfois des échecs, l'utilisation des miARN en thérapie anticancéreuse est profitable et démontre la nécessité de poursuivre les recherches sur la vectorisation des petits ARN afin d'améliorer les nanoparticules de transport, dont celles dérivant des exosomes.

## Conclusion

Depuis leur découverte dans les années 90, les miARN et leur ciblage multigénique ont suscité un vif intérêt auprès de la communauté scientifique et ont ouvert de nouvelles perspectives en thérapie, notamment anticancéreuse. Une meilleure compréhension de leur mécanisme d'action et de leur mode de production, associée à leur description dans les fluides biologiques sous la forme de nanoparticules circulantes a permis de mieux cerner leur rôle biologique et de lever le voile sur la diversité de leurs actions au sein d'un organisme entier et d'une cellule unique. Avec l'arrivée des nouvelles approches d'immunothérapie et l'échec de la thérapie basée sur MRX34 dans le cancer du foie, l'année 2014 a marqué un réel tournant dans le domaine de la recherche sur les miARN avec l'apparition d'un certain scepticisme, voire un rejet, de certains spécialistes et agences de financement quant à leur potentiel thérapeutique en pathologie humaine. Malgré tout, certains groupes poursuivent leurs travaux en recherche fondamentale et translationnelle et les derniers résultats de la littérature dans ce domaine font état de bien des succès. Il y a donc fort à parier que dans quelques années, les miARN aient de nouveau les faveurs des scientifiques et des industriels, sachant que leur fonction adjuvante a largement été démontrée en préclinique dans le traitement du cancer et que les systèmes d'adressage et d'administration des petits ARN continuent de progresser et de se spécialiser. Il est donc plus que probable que dans un futur proche, l'arsenal pharmaceutique utilisé pour traiter certaines maladies

chez l'Homme, le cancer en particulier, comprendra aussi des formes dérivées et vectorisées de miARN.

## Remerciements

Nous remercions les Comités Dordogne, Gironde et Landes de la Ligue Régionale contre le Cancer, l'Institut National du Cancer (Subventions INCa\_PLBIO\_2012\_110 et INCa\_TRANSLA\_2013\_209), la Fondation pour la Recherche Médicale (Subvention n°DBI20131228566), le Ministère de la Santé et la Direction Générale de l'Offre de Soins (Subvention n°DGOS/PF4/0013/105), l'Etat Français dans le cadre de son programme "Investments for the future" piloté par l'Université de Bordeaux (Post-doc IdEx program, Subvention ANR-10-IDEX-03-02), la Région Nouvelle-Aquitaine, la Fondation Groupama, l'Association pour le Développement du Liban, ainsi que toutes les associations de patients (Aidons Marina, Cassandra, ESCAPE, Eva Pour la Vie, Kaëna et les Lapinours, La Fondation Flavien, Les Amis de Marius, Les Motards Solidaires, Sphères) pour leur soutien.

## Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

## Références

- 1- Jonas S et al. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat Rev Genet.* 2015;16(7):421-33.
- 2- Gebert LFR et al. Regulation of microRNA function in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(1):21-37.
- 3- Jalvy-Delville S et al. Molecular basis of differential target regulation by miR-96 and miR-182: the Glypican-3 as a model. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(3):1356-65.
- 4- Zhang K et al. A novel class of microRNA-recognition elements that function only within open reading frames. *Nat Struct Mol Biol.* 2018;25(11):1019-27.
- 5- Peterson SM et al. Common features of microRNA target prediction tools. *Front Genet.* 2014;5:23.
- 6- Singh NK. MiRNAs target databases: developmental methods and target identification techniques with functional annotations. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74(12):2239-61.
- 7- Pinzon N et al. MicroRNA target prediction programs predict many false positives. *Genome Res.* 2017;27(2):234-45.
- 8- Indersie E et al. Tracking cellular and molecular changes in a species-specific manner during experimental tumor progression *in vivo*. *Oncotarget.* 2018;9(22):16149-62.

- 9- Kozomara A et al. MiRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D155-62.
- 10- Valadi H et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9(6):654-9.
- 11- Hunter MP et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. *PLoS One.* 2008;3(11):e3694.
- 12- Sato-Kuwabara Y et al. The fusion of two worlds: non-coding RNAs and extracellular vesicles--diagnostic and therapeutic implications (Review). *Int J Oncol.* 2015;46(1):17-27.
- 13- Mitchell PS et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(30):10513-8.
- 14- Calin GA et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(24):15524-9.
- 15- Mullick Chowdhury S et al. Ultrasound-guided therapeutic modulation of hepatocellular carcinoma using complementary microRNAs. *J Control Release.* 2016;238:272-80.
- 16- Dimcevski G et al. A human clinical trial using ultrasound and microbubbles to enhance gemcitabine treatment of inoperable pancreatic cancer. *J Control Release.* 2016;243:172-81.
- 17- Wu W et al. A PEGylated megamer-based microRNA delivery system activatable by stepwise microenvironment stimulation. *Chem Commun.* 2019;55(63):9363-6.
- 18- Sukumar UK et al. Intranasal delivery of targeted polyfunctional gold-iron oxide nanoparticles loaded with therapeutic microRNAs for combined theranostic multimodality imaging and presensitization of glioblastoma to temozolomide. *Biomaterials.* 2019;218:119342.
- 19- Beg MS et al. 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.
- 20- Van Zandwijk et al. Safety and activity of microRNA-loaded minicells in patients with recurrent malignant pleural mesothelioma: a first-in-man, phase 1, open-label, dose-escalation study. *Lancet Oncol.* 2017;18(10):1386-96. ■