

VLOGA IN POMEN mikroRNA V PATOGENEZI, DIAGNOSTIKI IN ZDRAVLJENJU KOŽNEGA MELANOMA – PREGLED LITERATURE

Dominik Škrinjar¹, Mario Gorenjak^{2,3}, Uroš Potočnik^{2,3,4,5}

¹ Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor, Slovenija

² Center za humano molekularno genetiko in farmakogenomiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor, Slovenija

³ Katedra za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor, Slovenija

⁴ Laboratorij za biokemijo, molekularno biologijo in genomiko, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru, Maribor, Slovenija

⁵ Oddelek za znanstvenoraziskovalno delo, Univerzitetni klinični center Maribor, Maribor, Slovenija

Elektronski naslov: domiskrinjar7@gmail.com

Izvleček

Melanom predstavlja eno najbolj agresivnih oblik kožnega raka, pri čemer njegova incidenca narašča po vsem svetu. Zgodnja diagnoza je ključnega pomena, saj pomembno vpliva na preživetje in potek bolezni pri bolnikih. MikroRNA (miRNA) igrajo pomembno vlogo v patogenezi melanoma, saj sodelujejo v regulaciji genetskih in molekularnih procesov, ki vplivajo na razvoj, rast in širjenje tumorja. Poleg tega imajo miRNA velik potencial kot diagnostični in prognostični biomarkerji, saj omogočajo zaznavanje sprememb na molekularni ravni že v zgodnjih fazah bolezni. Krožeče miRNA, ki so prisotne v telesnih tekočinah, predstavljajo obetaven neinvaziven pristop za zgodnje odkrivanje melanoma ter spremljanje njegovega napredovanja in odziva na terapijo. Terapevtski potencial miRNA vključuje razvoj ciljnih terapij, ki lahko učinkovito modulirajo izražanje specifičnih miRNA, s čimer vplivajo na ključne signalne poti. Pomemben izziv predstavlja tudi razumevanje vloge miRNA pri odpornosti melanoma na obstoječe sistemske terapije, kar lahko vodi v razvoj kombiniranih terapij za premagovanje odpornosti. Poglobljeno razumevanje molekularnih interakcij med miRNA in njihovimi ciljnimi geni omogoča natančnejše prilagajanje terapevtskih pristopov in izboljšanje kliničnih izidov. Raziskave na področju miRNA tako obetajo pomemben prispevek k izboljšanju diagnostike, zdravljenja in prognostike kožnega melanoma, kar bo ključno za razvoj novih, učinkovitejših pristopov v klinični praksi.

Uvod

Kožni melanom je maligni tumor, ki izhaja iz melanocitov in velja za eno najbolj agresivnih oblik kožnega raka, predvsem zaradi njegove hitrosti proliferacije, invazije ter nastajanja metastaz. Zgodnja prepoznava in natančno spremljanje bolezni sta odločilna za uspeh zdravljenja in preživetje bolnikov. V zadnjem desetletju so miRNA pridobile osrednji pomen kot molekularni regulatorji, ki uravnavajo izražanje genov in vplivajo na celično homeostazo, diferenciacijo, presnovo in vnetne procese. Povezave miRNA z epigenetskimi mehanizmi dodatno poudarjajo njihov pomen pri kompleksnih bioloških procesih.^{1,2} V melanomu miRNA namreč ne delujejo le kot indikatorji bolezni, temveč aktivno modulirajo onkogene poti, ki vplivajo na proliferacijo, invazivnost, metastaziranje in sposobnost izogibanja imunskemu nadzoru. Povišana ekspresija določenih onkogenih miRNA (npr. miR-21, miR-19b-3p, miR-7, miR-126, miR-146a) spodbuja napredovanje tumorja, medtem ko tumorsupresorske miRNA, kot je let-7b, zavirajo celični cikel in omejujejo rast melanoma. Njihovo izražanje se spreminja glede na stadij bolezni, npr. miR-126 in miR-29c sta pogosti v zgodnjih fazah bolezni, medtem ko v napredovalih oblikah melanoma njuna raven znatno upade.²

Vloga mikroRNA v patogenezi kožnega melanoma

V procesu tumorogeneze melanoma (melanomogeneze) miRNA delujejo kot pomembni regulatorji, saj lahko nastopajo bodisi kot onkogene miRNA (onkomiRNA) bodisi kot tumorsupresorske

miRNA. Njihova deregulacija vpliva na številne značilnosti malignosti melanoma, vključno s proliferacijo, rezistenco na apoptozo, angiogenezo, invazijo, metastazami in odpornostjo na zdravljenje. Več študij je pokazalo, da določene miRNA spodbujajo proliferativne signale (npr. miR-137, miR-221), zavirajo programirano celično smrt (miR-18b, miR-26a), prispevajo k replikativni nesmrtnosti (miR-205, miR-203) ter povečujejo invazivnost in metastatski potencial (miR-214, miR-31). Spremembe v izražanju teh miRNA se dogajajo v različnih fazah melanomske progresije in so pogosto posledica epigenetskih mehanizmov, kot so metilacija DNK, modifikacije histonov ter interakcije z mikrookoljem tumorja (TME).³

Določene miRNA (npr. miR-101, miR-3157) z negativno regulacijo genov, kot je EZH2, pospešujejo rast tumorja, medtem ko druge, kot je miR-211, prispevajo k preoblikovanju fibroblastov v s tumorjem povezane fibroblaste (CAF), s čimer aktivirajo signalno pot MAPK in spodbujajo tumorsko proliferacijo. V angiogenezi, ključnem koraku metastatske poti, sodelujejo miR-1908, miR-199a-5p in miR-199a-3p, medtem ko miR-214 prispeva k transendotelijski migraciji in nastanku oddaljenih metastaz. Prisotnost določenih miRNA v tumorskih celicah ali v TME lahko vpliva tudi na pridobivanje odpornosti na ciljno terapijo, kot so zaviralci BRAF in MEK, ter na učinkovitost imunoterapije z zaviralci imunskih kontrolnih točk (ICIs). Na primer, zmanjšana ekspresija miR-200c je povezana z odpornostjo na BRAFi, medtem ko so cirkulirajoče miRNA, kot so miR-125a/b in miR-146a/b, povezane z delovanjem mieloidnih supresorskih celic in učinkovitostjo ICIs. Tabela 1 prikazuje vloge različnih miRNA pri razvoju in progresiji melanoma, njihov mehanizem delovanja in eksperimentalen model (*in vivo* ali *in vitro*), v katerem so bile funkcije posameznih miRNA preučevane.^{4,5}

Tabela 1: Pregled izbranih miRNA, njihove vloge pri melanomu, mehanizmov delovanja in uporabljenih eksperimentalnih modelov (*in vivo/in vitro*).⁶

miRNA	Vloga pri melanomu	Mehanizem delovanja	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>
miR-137	Tumorski supresor; znižuje MITF in CDK6	Tarča: c-MET, YB1, EZH2; povzroča celični cikel G ₁ arest, zmanjšuje rast celic	oboje
miR-148	Negativno uravnava MITF	Vezava na 3' UTR MITF; vpliva na vedenje melanomskih celic	oboje
miR-182	Spodbuja migracijo in preživetje tumorskih celic	Znižuje MITF in FOXO3; povečuje proliferacijo in invazijo	<i>in vitro</i>
miR-211	Inhibira migracijo; uravnava NUAK1 in POU3F2 (BRN2)	Nižje ravni v invazivnem melanomu; vpliva na adhezijo celic in metastatski potencial	<i>in vitro</i>
miR-221/222	Tarča regulatorjev celičnega cikla kot P27	Znižuje c-Kit, vpliva na izražanje MITF in tirozinaze; vključena v napredovanje melanoma	oboje
miR-205	Zmanjšuje proliferacijo in invazijo	Tarča: E2F1; vpliva na celični cikel in AKT signalno pot	oboje
miR-625	Povezan z metastazami	Tarča: SOX-2; zmanjšana ekspresija spodbuja proliferacijo in invazijo	oboje
miR-514a	Povečuje rast melanoma; uravnava NF1	Vpliva na občutljivost na terapijo, usmerjeno proti BRAF	<i>in vitro</i>

miRNA	Vloga pri melanomu	Mehanizem delovanja	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>
miR-200c	Povezan z odpornostjo na BRAFi	Nizke ravni so povezane z odpornostjo na zdravlila	<i>in vitro</i>
miR-155	Znižana ekspresija v melanomu; potencialna terapevtska tarča	Povzroča apoptozo ob prekomerni ekspresiji v celičnih linijah melanoma	<i>in vitro</i>

mikroRNA kot diagnostični in prognostični biomarker

8

MiRNA so zaradi stabilnosti, specifičnega izražanja in prisotnosti v telesnih tekočinah obetavni biomarkerji za diagnozo, prognozo in spremljanje odziva na terapijo.^{7,8} Med ključnimi diagnostičnimi biomarkerji so miR-21, miR-221 in miR-222, ki so prekomerno izražene v melanomu in krvi. MiR-21 spodbuja rast, invazijo in metastaziranje z zaviranjem PTEN, zato je pomembna terapevtska tarča (npr. modulacija z HIFU poveča raven PTEN). MiR-221/222 ciljata p27Kip1 in PTEN ter aktivirata poti PI3K/AKT in MAPK, s čimer povečata proliferacijo in preživetje tumorja. Panel sedmih miRNA omogoča razlikovanje bolnikov z melanomom od zdravih z visoko občutljivostjo (93 %) in specifičnostjo (82 %), kar potrjujejo tudi ROC analize.^{7,9} Nizka raven nekaterih prognostičnih biomarkerjev miRNA, npr. miR-137 napoveduje slabšo prognozo, saj ciljajo na MITF in Wnt pot, s čimer zavira rast in invazivnost. Nasprotno pa je visoka izraženost miR-182 povezana z agresivnostjo in metastazami. MiR-150-5p napoveduje možganske metastaze, nižji nivoji miR-205-5p, miR-145-5p in miR-203-3p pa odražajo napredovalo bolezen in povečano agresivnost tumorja.¹⁰ Krožeče miRNA (cmiRNA) so stabilne in dostopne v krvi, plazmi ter drugih tekočinah. MiR-34a, miR-100 in miR-125b so povezane z odpornostjo na sistemsko zdravljenje, medtem ko sta miR-99b in let-7e povezani z MDSC in nakazujeta na agresivnejši potek in slabšo prognozo bolezni. Zaradi visoke specifičnosti in občutljivosti se cmiRNA uveljavljajo kot perspektivno orodje za neinvazivno diagnostiko, prognozo in personalizirano spremljanje melanoma.¹¹

Terapevtski potencial mikroRNA pri kožnem melanomu

Tarčno zdravljenje na osnovi miRNA

Raziskave so pokazale, da imajo miRNA ključno vlogo pri uravnavanju celičnega cikla, proliferacije, invazije, imunskega odziva in aktivacije signalnih poti, predvsem MAPK/ERK, kar neposredno vpliva na napredovanje melanoma. Posebej pomembne tarče so tumorski supresorji in transkripcijski faktorji, kot so CYLD, ITCH, FOXM1, HOX-B7, BMP4 in zlasti MITF, ki predstavlja osrednji regulator rasti in heterogenosti tumorja.^{7,12} Med klinično najbolj preučevanimi so miR-137, katere nizka raven napoveduje slabšo prognozo in uravnava onkogene, kot so c-MET, YB1, EZH2 in PIK3R3 ter miR-182, ki je prekomerno izražena ter spodbuja napredovanje melanoma z zaviranjem FOXO3 in MITF in miR-211 in miR-603, katerih spremembe izražanja vplivajo na invazivnost in rast tumorja. Poleg tega miRNA vplivajo na odzivnost na zdravljenje, saj je na primer povišana raven kemokina CCL2 povezana z napredovanjem bolezni, medtem ko krožeče miRNA, kot so let-7e, miR-99b, miR-100, miR-125a/b in miR-146a, modulirajo delovanje mieloidnih supresorskih celic in imunski odziv, miR-514a pa vpliva na občutljivost melanoma na BRAF-ciljno terapijo.^{12,13} Ti mehanizmi potrjujejo, da so miRNA ključni dejavniki pri razvoju odpornosti na zdravljenje ter predstavljajo obetavne terapevtske tarče pri razvoju novih pristopov v zdravljenju melanoma.

Potencialne metode zdravljenja na osnovi miRNA

Potencialne metode zdravljenja na osnovi miRNA vključujejo sintetične posnemovalce, virusne vektorje in nevirusne načine dostave. Sintetični posnemovalci nadomeščajo zmanjšano izražene

tumorsupresorske miRNA in omogočajo hkratno ciljanje več onkogenih poti, pri čemer pa je njihova stabilnost v organizmu omejena, zato se uporabljajo kemične modifikacije ali nosilci; na primer modificiran posnemovalac miR-205 zavira proliferacijo in angiogenezo z uravnavanjem genov E2F1, VEGF in BCL2.^{7,9} Virusni vektorji, kot so lentivirusni, adenovirusni in vektorji adenovirusom pridruženih virusov (AAV), zagotavljajo učinkovito dostavo miRNA v melanomske celice. Lentivirusni vektorji omogočajo trajno vključitev terapevtskih zaporedij v genom gostitelja, adenovirusni vektorji so optimizirani za manjšo imunogenost in učinkovito dostavo posnemovalcev, medtem ko AAV omogočajo dolgotrajno izražanje z minimalnimi stranskimi učinki. Raziskave z miR-21 kažejo, da lahko z zaviranjem encima MKK3 učinkovito omeji rast in metastaziranje melanoma.^{7,14,15} Kljub prednostim virusnih vektorjev obstajajo tveganja, kot so insercijska mutageneza, toksičnost in omejena možnost ponovljenih aplikacij zaradi imunskega odziva. Zato se razvijajo tudi nevirusne metode dostave, med katerimi so lipidni nanodelci, polimeri in predvsem eksosomi, ki kot naravni nosilci učinkovito prehajajo biološke pregrade in omogočajo ciljno in manj imunogeno dostavo miRNA v melanomske celice, kar obeta večjo terapevtsko učinkovitost in varnost.¹⁶

Vloga miRNA pri neodzivnosti na obstoječe sistemsko zdravljenje

Dolgotrajno sistemsko zdravljenje melanoma, zlasti z zaviralci BRAF (BRAFi) in MEK (MEKi), pogosto vodi v razvoj odpornosti, ki običajno nastopi v enem letu in omejuje učinkovitost terapije. Ključno vlogo pri tem imajo miRNA, saj lahko nekatere sprožijo odpornost, druge pa povečajo ali obnovijo občutljivost na zdravila. Nizke ravni miR-200c so povezane z odpornostjo na BRAFi, visoka izraženost miR-100 in miR-125b pa je bila opažena pri bolnikih, zdravljenih z BRAFi, medtem ko lahko miR-579 povrne občutljivost na terapijo.^{17,18} Pomembno vlogo ima tudi TME, zlasti CAF ter prenos eksosomalnih miRNA, ki dodatno spodbujajo kemorezistenco.^{19,20} Poleg tarčnih terapij so miRNA vključene tudi v odzivnost na zaviralce imunskih kontrolnih točk (ICIs), saj cmiRNA, kot so let-7e, miR-99b, miR-100, miR-125a/b, miR-146a/b in miR-155, vplivajo na delovanje mieloidnih supresorskih celic (MDSC) in s tem na klinično učinkovitost imunoterapije.^{9,21} Zaradi svoje dvojne vloge pri občutljivosti in odpornosti se miRNA vse bolj uveljavljajo kot obetavne terapevtske tarče za premagovanje neodzivnosti na obstoječe sistemske terapije pri melanomu. V tabeli 2 so povzete najpomembnejše miRNA, katerih povečana ekspresija je povezane bodisi s povečano občutljivostjo, bodisi s povečano odpornostjo na tarčno zdravljenje in kemoterapijo pri (metastatskem) melanomu.^{9,21}

Tabela 2: Najpomembnejše miRNA, katerih povečana ekspresija je povezane s povečano občutljivostjo ali povečano odpornostjo na tarčno zdravljenje in kemoterapijo pri (metastatskem) melanomu.¹⁵

miRNA	Funkcija	Tarča	Zdravljenje
miR-7	Občutljivost	EGFR/IGF-1R/CRAF	BRAFi
miR-31	Občutljivost	SOX10	Kemoterapija
miR-32	Občutljivost	MCL-1	BRAFi (vemurafenib)
miR-126-3p	Občutljivost	ADAM9 in VEGF-A	BRAFi (dabrafenib)
miR-199b-5p	Občutljivost	HIF-1 α /VEGF	BRAFi
miR-200c	Občutljivost	BM1	BRAFi
miR-524-5p	Občutljivost	BRAF in ERK2	BRAFi
miR-579-3p	Občutljivost	BRAF, MDM2	BRAFi + MEKi
miR-659-3p	Občutljivost	NFIX	Kemoterapija (karboplatin/paklitaksel)
miR-34a	Odpornost	CCL-2	BRAFi (vemurafenib)
miR-30a-5p	Odpornost	IGF1R	Kemoterapija (cisplatin)
miR-100	Odpornost	CCL-2	BRAFi (vemurafenib)
miR-125a	Odpornost	BAK1, MLK3	BRAFi
miR-125b	Odpornost	CCL-2	BRAFi (vemurafenib)

miRNA	Funkcija	Tarča	Zdravljenje
miR-204	Odpornost	NUAK1/ARK5, IGFBP5, TGF- β RII, Slug, CHD5	BRAFi
miR-211	Odpornost	NUAK1/ARK5, IGFBP5, TGF- β RII, Slug, CHD5	BRAFi
miR-514a	Občutljivost	NF1	BRAFi

miRNA kot podporna terapija pri imunoterapiji

8

Imunoterapija, ki temelji na zaviralcih imunskih kontrolnih točk, kot so anti-CTLA-4 (ipilimumab) in anti-PD-1 (pembrolizumab, nivolumab), predstavlja eno najučinkovitejših oblik zdravljenja napredovalega melanoma, saj okrepi sposobnost imunskega sistema za prepoznavo in uničenje rakavih celic, vendar pa približno 50–60 % bolnikov na zdravljenje ne odgovori.²² V tem kontekstu se miRNA kažejo kot obetavna podpora imunoterapiji, saj usmerjeno delujejo na mehanizme, ki rakavim celicam omogočajo izogibanje imunskemu nadzoru. MiRNA, kot sta miR-21 in miR-34a, izboljšujeta odzivnost na imunoterapijo, številne druge (npr. miR-17-5p, miR-28, miR-30b/30d, miR-146a, miR-155, miR-200a, miR-210, miR-433, miR-494) pa ciljajo ključne molekularne tarče, povezane z regulacijo imunskega odziva in karcinogeneze.^{21,23} Proces imunskega urejanja vključuje faze eliminacije, ravnovesja in izogibanja, pri čemer se tumor in imunski sistem nenehno prilagajata drug drugemu; prav na tej točki lahko miRNA prispevajo k ponovni občutljivosti melanomskih celic na imunski nadzor, na primer z regulacijo izražanja MITF-M preko IL-1 β .^{14,24} Tako se oblikuje koncept kombiniranih terapevtskih pristopov, v katerih bi se imunoterapija in miRNA dopolnjevali, kar odpira nove možnosti za zmanjšanje odpornosti tumorja in izboljšanje kliničnih izidov bolnikov z melanomom.

Izzivi in priložnosti uporabe mikroRNA pri melanomu

Kljub napredku raziskav miRNA pri zdravljenju melanoma ostajajo številni izzivi, saj njihova kompleksna vloga v regulaciji celičnih poti, metastaziranja, invazivnosti in odpornosti na terapije še ni povsem pojasnjena. Interakcija miRNA z imunskim sistemom in TME jih postavlja kot ključne regulatorje bolezni, pri čemer sodobne tehnologije odpirajo nove priložnosti za terapevtsko uporabo. Nanodelci bi lahko omogočali bolj stabilno in usmerjeno dostavo miRNA posnemovalcev ali inhibitorjev, prav tako bi naj zmanjševali sistemske stranske učinke in povečali terapevtski učinek neposredno v tumorskem tkivu.^{7,25} Tehnologija CRISPR/Cas9 bi lahko omogočala natančno gensko urejanje in manipulacijo ekspresije specifičnih miRNA, kar odpira možnosti za personalizirane pristope in preprečevanje odpornosti na ciljne terapije, kot so BRAFi ali imunoterapija. Napredek umetne inteligence in strojnega učenja omogoča analizo velikih količin podatkov, identifikacijo novih biomarkerjev, klasifikacijo podtipov melanoma in napovedovanje odziva na terapijo.^{24,25} Translacijski pristopi, ki povezujejo osnovne raziskave s klinično prakso, so ključni za validacijo miRNA kot diagnostičnih, prognostičnih in terapevtskih orodij ter za preučevanje zdravljenja s kombiniranimi terapijami. Čeprav še ni uradno registriranega miRNA zdravila za melanom, predklinična preskušanja miRNA zdravil za druge bolezni (Miravirsen za HCV, MRG-110 za srčno-žilne bolezni, Cobomarsen za T-celični limfom, posnemovalec miR-29 za fibrozo in RGLS5579 za glioblastom) kažejo velik potencial teh molekul, kar skupaj z vlaganji farmacevtskih podjetij potrjuje obetavno smer razvoja tudi pri melanomu, kjer bi kombinacija miRNA terapij z obstoječimi tarčnimi in imunoterapijami lahko izboljšala individualizacijo in učinkovitost zdravljenja.^{22,23,25}

Zaključek

MiRNA igrajo ključno vlogo pri napredovanju melanoma, vplivajo na metastaziranje, invazivnost, proliferacijo in razvoj odpornosti na terapije ter modulirajo odzivnost na imunoterapijo. Nekatere miRNA obetajo kot biomarkerji za zgodnjo diagnozo, druge kot terapevtske tarče. Kombinacija tarčnih zdravil in miRNA pristopov lahko izboljša klinične izide, še posebej pri napredovalih oblikah bolezni. Za uresničitev tega potenciala so nujne nadaljnje raziskave, sistematična klinična preskušanja in tehnološke izboljšave, ki bodo razjasnile kompleksno delovanje miRNA v TME.

Literatura

1. Arnold M, et al. Burden of Cutaneous Melanoma in 2020 and Projections to 2040. *JAMA Dermatol.* 2022;158(5):495-503.
2. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:402.
3. Poniewierska-Baran A, et al. Role of miRNA in Melanoma Development and Progression. *Int J Mol Sci.* 2022;24(1):201.
4. Ghafouri-Fard S, Gholipour M, Taheri M. MicroRNA Signature in Melanoma: Biomarkers and Therapeutic Targets. *Front Oncol.* 2021;11:608987.
5. Saliminejad K, et al. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol.* 2019;234(5):5451-5465.
6. Varrone F, Caputo E. The miRNAs Role in Melanoma and in Its Resistance to Therapy. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3):878.
7. Poniewierska-Baran A, et al. MicroRNA as a Diagnostic Tool, Therapeutic Target and Potential Biomarker in Cutaneous Malignant Melanoma Detection-Narrative Review. *Int J Mol Sci.* 2023;24(6):5386.
8. Prodan M, et al. Prognostic Significance of miRNA Subtypes in Melanoma: A Survival Analysis and Correlation with Treatment Response Across Patient Stages. *Biomedicines.* 2024;12(12):2809.
9. Eyyapan G, Ozdem B, Aksoy G. miRNAs in melanoma: diagnostic, prognostic, and therapeutic strategies. *Biomed Res Ther.* 2024;11(11):6912-6922.
10. Mumford SL, et al. Circulating MicroRNA Biomarkers in Melanoma: Tools and Challenges in Personalised Medicine. *Biomolecules.* 2018 Apr 26;8(2):21.
11. Gajos-Michniewicz A, Czyz M. Role of miRNAs in Melanoma Metastasis. *Cancers (Basel).* 2019;11(3):326.
12. Dong L, et al. The Roles of MiRNAs (MicroRNAs) in Melanoma Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23):14775.
13. Jones N, Nonaka T. Circulating miRNAs as biomarkers for the diagnosis in patients with melanoma: systematic review and meta-analysis. *Front Genet.* 2024;15:1339357.
14. Fattore L, et al. MicroRNAs in melanoma development and resistance to target therapy. *Oncotarget.* 2017;8(13):22262-22278.
15. Thyagarajan A, et al. MicroRNA-Directed Cancer Therapies: Implications in Melanoma Intervention. *J Pharmacol Exp Ther.* 2018 ;364(1):1-12.
16. Motti ML, et al. MicroRNAs as Key Players in Melanoma Cell Resistance to MAPK and Immune Checkpoint Inhibitors. *Int J Mol Sci.* 2020;21(12):4544.
17. Stark MS, et al. The Prognostic and Predictive Value of Melanoma-related MicroRNAs Using Tissue and Serum: A MicroRNA Expression Analysis. *EBioMedicine.* 2015;2(7):671-80.
18. Hamilton BA, Wright JF. Challenges Posed by Immune Responses to AAV Vectors: Addressing Root Causes. *Front Immunol.* 2021;12:675897.
19. Melnik BC. MiR-21: an environmental driver of malignant melanoma? *J Transl Med.* 2015;13:202.
20. Geisler A, Fechner H. MicroRNA-regulated viral vectors for gene therapy. *World J Exp Med.* 2016;6(2):37-54.
21. Mirzaei H, et al. MicroRNAs as potential diagnostic and prognostic biomarkers in melanoma. *Eur J Cancer.* 2016;53:25-32.
22. Fortunato O, Iorio MV. The Therapeutic Potential of MicroRNAs in Cancer: Illusion or Opportunity? *Pharmaceuticals (Basel).* 2020;13(12):438.
23. Sabato C, et al. A novel microRNA signature for the detection of melanoma by liquid biopsy. *J Transl Med.* 2022;20(1):469.
24. Neagu M, et al. miRNAs in the Diagnosis and Prognosis of Skin Cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:71.
25. Merk DJ, et al. CRISPR-Cas9 screens reveal common essential miRNAs in human cancer cell lines. *Genome Med.* 2024;16(1):82.