

MikroRNA'lar ve akciğer kanseri

Ayşe Gül ZAMANI¹, Adil ZAMANI²

¹ Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Konya,

² Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya.

ÖZET

MikroRNA'lar ve akciğer kanseri

MikroRNA'lar, mRNA'larla hibridize olarak translasyon inhibisyonu ya da mRNA yıkımına yol açan kodlama yapmayan RNA'lardır. Kanserde değişen miRNA ekspresyonu tümör tanısında, hastalığa özgü prognozun ve tedaviye yanıtın moleküler biyomarkırları olarak kullanılabilir. Ayrıca, miRNA'lar gen tedavisinde özgül hedefler olarak seçilebilir. Bu derlemede, miRNA'ların akciğer kanserindeki rolü ve yeni gelişmeler özetlenecektir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, mikroRNA, onkojen, tümör baskılayıcı, biyomarkır.

SUMMARY

MicroRNAs and lung cancer

Ayşe Gül ZAMANI¹, Adil ZAMANI²

¹ Department of Medical Genetic, Faculty of Meram Medicine, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey,

² Department of Chest Diseases, Faculty of Meram Medicine, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey.

MicroRNAs (miRNAs) are a class of non-coding RNAs that hybridize to mRNAs and induce either translation repression or mRNA cleavage. Patterns of altered miRNA expression in cancer may work as molecular biomarkers for tumor diagnosis, prognosis of disease-specific outcomes, and prediction of therapeutic responses. In addition, miRNAs can serve as specific targets for gene therapies. This review summarizes the current knowledge of miRNAs and their roles in lung cancer.

Key Words: Lung cancer, microRNA, oncogene, tumour suppressor, biomarker.

Tuberk Toraks 2013; 61(1): 57-62 • doi: 10.5578/tt.4874

Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Ayşe Gül ZAMANI, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,
KONYA - TÜRKİY

e-mail: agzamani@yahoo.com

Akciğer kanseri tüm dünyada kanserlerden kaynaklanan ölümlerin başlıca sebebidir. İki ana tipi vardır: küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK). KHDAK'lar tüm akciğer kanserlerinin %80'ini oluşturur. Cerrahi yöntemlerdeki yeniliklere, radyoterapi ve kemoterapideki gelişmelere rağmen, akciğer kanserinin sağkalım süresi %16'dır (1). Bu nedenle, akciğer kanserinin genetik olarak gelişimini çözmek ve yeni tedavi hedefleri geliştirmek için hücrel moleküller üzerinde daha çok çalışılması gerekmektedir.

MikroRNA'lar çoğalma, hücre farklılaşması ve apoptoz gibi temel hücre fonksiyonları gerçekleşirken, hedef mRNA'ların proteine dönüşümünün düzenlenmesinde görev yapmaktadır. Gen ifadesini düzenleyebilen kodlama yapmayan, korunmuş, küçük boyutlu RNA'lardır. İlk miRNA (lin-4) 1993 yılında keşfedilmiş ve ikinci bir miRNA'nın keşfi için aradan uzun yıllar geçmiştir. MikroRNA terimi ise 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (2). Bugün tanımlanmış yaklaşık 2000 miRNA vardır. Birçok farklı hastalığın patogeneğinde miRNA'ların rol oynadığı gösterilmiştir (3). Kanser gelişiminde onkojen ve tümör baskılayıcı genler gibi davrandıkları deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (4).

Bu derlemede kısaca miRNA biyogenezi, akciğer karsinogeneğinde miRNA'ların tümör baskılayıcı ve onkojenik etkiye nasıl yol açtıkları, tanı ve tedavide nasıl kullanılabilirler üzerinde durulacaktır.

MİKRORNA BİYOGENEZİ

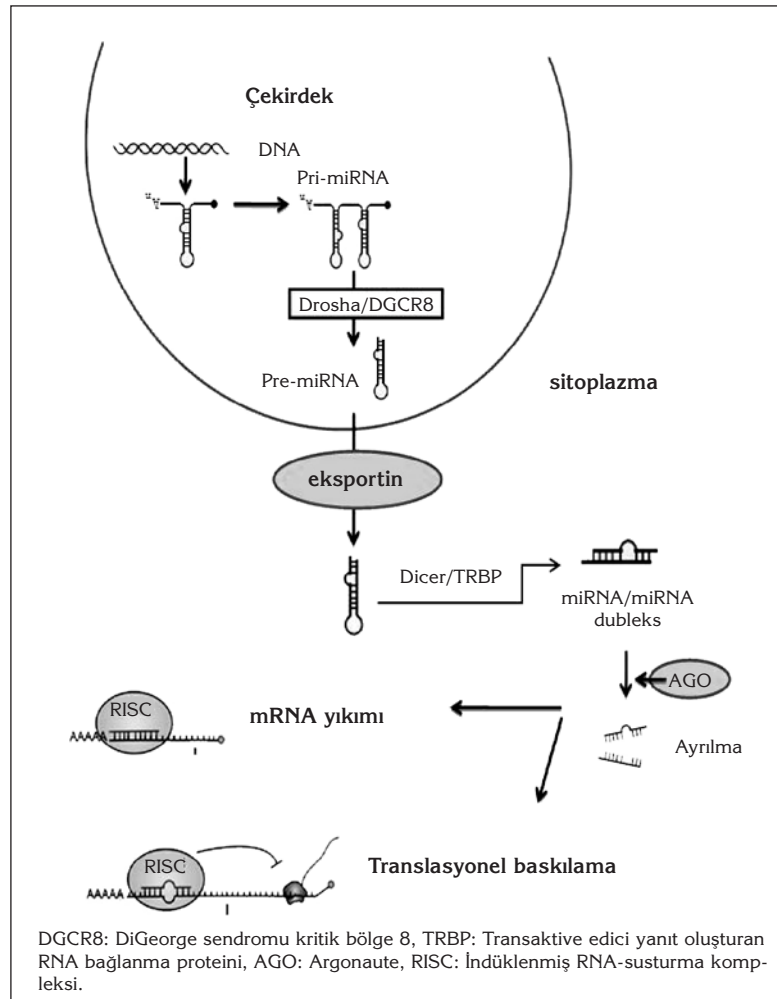
miRNA genlerinin büyük çoğunluğu (%61) protein kodlayan genlerin intronik bölgelerindedir, ancak eksonlarda veya genler arası bölgelerde de bulunabilir. Birbirini izleyen üç basamaklı bir işlem süreci sonucunda işlevsel hale gelir (Şekil 1). miRNA genlerinden RNA polimeraz II tarafından genellikle boyut olarak farklı, uzun primer miRNA kopyaları (pri-miRNA) sentezlenir. Hücre çekirdeğinde pri-miRNA, mikroşilemci kompleks de denilen RNAaz III enzim ailesinden bir endonükleaz olan Drosha ve kofaktörü çift zincirli RNA bağlama proteini DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region gene 8) tarafından kesilerek yaklaşık olarak 70 nükleotid uzunluğunda pre-miRNA'ya dönüştürülür. Pre-miRNA bir nükleer taşıma reseptörü olan Exportin 5 ile bağlanarak sitoplazmaya taşınır (5). Sitoplazmada yine RNAaz III enzim ailesinden bir endonükleaz olan Dicer enzimi ve transaktive edici yanıt oluşturan çift zincirli RNA bağlama proteini [transactivating response RNA binding protein (TRBP)] ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli olgun miRNA'lara dönüştürülür. Dicer, pre-miRNA'yı kestikten sonra, miRNA zincirlerinden sadece biri "argonaute" (AGO) içeren indüklenmiş RNA-susturma kompleksine [RNA

induced silencing complex (RISC)] dahil olur (6). Anti-kılavuz veya "yolcu iplik" olarak adlandırılan diğer zincir ise yıkılır. Oluşan miRNA'lar, aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra, hedef mRNA'nın yıkımına ya da protein sentezinin baskılanmasına neden olur (7). Yani, posttranskripsiyonel düzeyde hedef mRNA'nın ifadesini düzenler. miRNA'lar, hedef mRNA'larla 3'-okunmayan bölgelerinde [untranslated region (UTR)] yer alan kısmen eşlenik dizilerle sahip oldukları yüksek oranda korunmuş ve tohum adı verilen 6-8 nükleotidlik bir bölge aracılığıyla etkileşir (8). Bu miRNA-mRNA bağlantısı mRNA'nın istikrarsızlaşmasına ve yıkılmasına yol açar. Her miRNA benzer eşlenik dizileri paylaşan farklı mRNA'lara bağlanabilir (9). Hücre ve doku tipine bağlı olarak gen ifadesinde ortaya çıkan miRNA-aracılı değişikliklerin yol açtığı farklı fizyolojik ve patofizyolojik değişiklikler halen araştırılmaktadır. Örneğin; miR-31 akciğer, baş ve boyun kanserlerinde, bir onkojenik miRNA olarak davranır ve meme kanserinde metastazın ortaya çıkmasında önemli bir rol oynar (10-12). Etkilenen dokulardaki farklı etkiler miRNA'lar aracılığıyla ifadesi düzenlenen hedef genlerin farklı setlerinden oluşmasıyla ilintilidir. Son yıllarda, araştırmalar bu konu üzerinde giderek yoğunlaşmaktadır.

AKCİĞER KANSERİNDE TÜMÖR BASKILAYICI FONKSİYONA SAHİP miRNA'LAR

Let-7 miRNA ailesinin genleri farklı kromozomal bölgelerde, özellikle kromozomlardaki frajil bölgelerde haritalanmıştır. Bu genler akciğer kanserinde sıklıkla kaybolur (13). Normalde Let-7 ailesine ait miRNA'ların akciğer dokusunda yüksek seviyelerde bulunduğu in vivo ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (14,15). Tümör baskılayıcı aktiviteye sahiptir. Hücre büyümesini ve hücre siklusunun ilerlemesini baskılayıcı görev yapar (15). Takamizawa ve arkadaşları Let-7 ailesine ait miRNA'ların akciğer tümörlerinde %40 ve akciğer kanseri hücre dizilerinde %60 oranında azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca, bu çalışmada KHDAK olgularında azalmış LET-7 ekspresyonu kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (16). Çok sayıda Let-7 ailesi hedef geni vardır. Bunlar hücre siklusu kontrolörleri: CDC25A, CDK6, cyclin D2 ve K-RAS, HMGPA2, c-MYC onkojenleridir (17). Let-7 ailesinin hedef genleri değerlendirildiğinde tümör baskılayıcı aktivite kolayca anlaşılmaktadır.

Bir başka miRNA ailesi miR-34'ün, birçok farklı kanser tipinde, p53 tarafından uyarılan tümör baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (18-21). Bir transkripsiyon faktörü olan p53 miR-34 ailesi genlerinin okunmasını indükler. Bu aileye ait genlerin promoterleri metilasyonla



Şekil 1. miRNA biyogenezi.

inaktive edilebilen CpG bölgesine sahiptir. miR-34 ailesinin hedef genleri c-myc, CREB, cyclin E, CDK4/6, Bcl-2'dir (17). Bu ailenin ektopik ekspresyonu akciğer kanserli hücrelerde büyüme ve çoğalmayı özellikle cyclin E'yi baskılayarak yavaşlatır (22).

Feng ve arkadaşları, farelerde ve KHDAK hücre dizilerinde yaptıkları çalışmalarında artmış miR-192 ekspresyonunun retinoblastoma 1 (RB1) mRNA'sını hedefleyerek tümör baskılayıcı etkiye yol açtığını, dolayısıyla hücre çoğalmasını baskıladığını ve apoptozu uyardığını göstermişlerdir (23).

Yapılan bir başka çalışmada ise miR-451 seviyesinde izlenen artışın, KHDAK hastalarında tümör hücrelerinin farklılaşmasında, patolojik evreleme ve lenf nodu metastazın üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. miR-451, ras related protein14 (RAB14)'ü hedef alarak kuvvetle baskılar. Bunun sonucunda tümör baskılayıcı etkiye yol açar (24).

Akciğer kanserlerinin yayılmasında miRNA'ların yeri olduğu gösterilmiştir. KHDAK'larda kanser dokusu normal akciğer dokusu ile karşılaştırılmış ve bu iki dokudaki hücrelerin farklı hsa-miR-125a-3p ve hsa-miR-125a-5p ekspresyon profilleri sergilediği anlaşılmıştır. Bu miRNA'ların A549 ve SPC-A-1 hücre dizilerinde hücre göçü ve invazyonu açısından baskılayıcı veya artırıcı ters etkilere sahip olduğu da gösterilmiştir (25). Bir adaptör protein olan proto-onkojen c-Crk (CRK) hücre adezyonu, proliferasyonu ve migrasyonunu artıran intraselüler sinyal yollarında görev yapmaktadır. Akciğer kanseri hücrelerinde miR-126 CRK'yi baskılayarak bu etkileri azaltmaktadır (26). Adenokarsinomlarda CRK benzeri bir etkiye sahip olan Flt1 ise miR-200 tarafından baskılanmaktadır (27).

AKCİĞER KANSERİNDE ONKOJENİK FONKSİYONA SAHİP miRNA'LAR: ONKOMİRLER

Onkojenik özelliklere sahip miRNA'lar onkomir olarak adlandırılmaktadır. Onkomirler çok çeşitli kanser türle-

rinde kontrolsüz büyümeyi artırıcı ve antiapoptotik yönde fonksiyon gösterirler. MiR-17-92 (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1) topluluğunun tüm üyeleri 13q31.3'de yer alır ve onkojen olarak değerlendirilir. C-MYC ile birlikte çalışarak tümör gelişimini hızlandırır ve neovaskülarizasyonu kolaylaştırır. KHAK'da tümör dokusunda miktarları artmaktadır. Düzeylerindeki artış RB1 inaktivasyonuna yol açar (28). HeLa hücrelerinde PTEN mRNA'larını hedef aldıkları gösterilmiştir (29). PTEN PI3K/Akt yolağında görev yapmakta ve apoptoz yolunu açık tutmaktadır. Akciğer kanserleri ve diğer bazı herediter ve sporadik kanserlerde mutasyona uğrar veya ortamdan elimine edilir (30). MiR-17-92'nin akciğer kanserlerinde hücre çoğalmasını nasıl indüklediği halen moleküler mekanizması tam olarak bilinmeyen, araştırılması gereken bir alandır.

MiR-31 ise direkt olarak tümör baskılayıcı "large tumor suppressor 2 (LATS2)" ve "PP2A regulatory subunit-B α isoform (PPP2R2A)" genlerinin mRNA'larını yıkarak onkojenik etki yapar. MiR-31'in ortamda olmadığı durumlarda klonal olarak akciğer kanseri hücrelerinin büyümesi ve in vivo tümör gelişimi baskılanmaktadır (10).

AKCİĞER KANSERİNDE miRNA'LARIN BİYOMARKIR OLARAK YERİ

MikroRNA'lar onkogeneze oynadıkları önemli rol nedeniyle, gelecek vadeden tanısal ve prognostik biyomarkırlar olarak kabul edilmeye başlanmıştır. Belli miRNA'ların tümör dokusunda, serumda ve balgamda ekspresyon profillerinin saptanmasının bilgi sağlayıcı olduğu düşünülmektedir.

TANISAL BİYOMARKIRLAR

Balgam sitolojisi akciğer kanserinin tanısında çok uzun yıllardan beri kullanılır. Xie ve arkadaşları kanser hastalarının balgam örneklerinde miR-21 ekspresyonunun kanser olmayan bireylere göre artmış olduğunu göstermişlerdir (31). Daha sonra yapılan çalışmalarda da balgamda artmış miR-21 ekspresyonunun %69.9 duyarlılık ve %100 özgüllükle akciğer kanserinde tanı koyduruculuğu olduğu rapor edilmiştir (32). Böylece balgamda artmış miR-21 ekspresyonunun tespiti akciğer kanseri tanısında kullanılabilir noninvaziv bir yaklaşım olarak değer kazanmıştır.

Shen ve arkadaşları erken dönem KHDAK'da 12 farklı miRNA'nın alışılmadık bir şekilde eksprese olduğunu tanımlamışlardır. Bunların arasından beş miRNA'nın tümör dokusu ve plazmadaki ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında önemli derecede bir fark saptanmıştır. Ayrıca, miR-21, miR-126, miR-210 ve miR-486-5p dü-

zeylerini normal kontrollerle karşılaştırıldığında %86.2 duyarlılık ve %96.6 özgüllükle KHDAK'ın ayırt edebildiği görülmüştür. Oluşturdukları bir miRNA paneli ile de evre I KHDAK'lı hastalara %73.3 duyarlılık ve %96.6 özgüllükle tanı koymuşlardır. Ek olarak, bu miRNA'ların düzeylerini skuamöz hücreli kanserler ve akciğer adenokarsinomlarında kıyasladıklarında tanı koyduruculuğun akciğer adenokarsinomlarında daha özgül olduğunu göstermişlerdir (33). KHDAK'da erken dönemde miR-1254 ve miR-574-5p ekspresyonu önemli derecede artmış olarak bulunmuştur (34). Bir başka çalışmada ameliyatla elde edilen tümör dokularından ve balgamdan yapılan miRNA analizlerinde normal kontrollerle yapılan karşılaştırmanın sonucunda miR-21, miR-486, miR-375 ve miR-200b'nin yüksek ekspresyonunun akciğer adenokarsinomlarında %80.6 duyarlılık ve %91.7 özgüllükle tanı koydurucu olduğu gösterilmiştir (35). Xing ve arkadaşları da benzer sonuçlara ulaşarak akciğer kanserinin tanısında balgamda miR-205, miR-210 ve miR-708 ekspresyonunun gösterilmesinin %73 duyarlılık ve %96 özgüllükle tanı koydurucu olduğunu rapor etmişlerdir (36).

PROGNOZ BİYOMARKIRLARI

Az diferansiye tümör dokusunda düşük seviyede ifade edilen let-7a-2 ve yüksek düzeyde ifade edilen miR-155 akciğer adenokarsinomlarında azalmış sağkalım süresine işaret etmektedir (14,37). Ayrıca, evre bağımsız olarak akciğer kanserlerinde azalmış let-7 ekspresyonunun postoperatif azalmış sağkalım süresiyle ilişkili olduğu da ileri sürülmüştür (25). Hu ve arkadaşları cerrahi ve adjuvan kemoterapi ile tedavi edilen evre I-IIIa akciğer adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom tanısı almış hastalarda serumda yüksek oranda ifade bulan miR-486 ve miR-30d'nin azalmış sağkalım süresine işaret ettiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, serumda miR-1 ve miR-499'un düşük oranda ifade edilmesinin de yine kısa sağkalım süresiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (38). Bir başka çalışmada ise skuamöz hücreli karsinom tümör dokusunda yüksek miR-146b düzeyinin yine kısa sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır (39). Gallardo ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise, tümör dokularındaki düşük miR-34 ekspresyonu ile yüksek nüks riski arasında ilişki bulunmuştur. Bu hastalarda düşük miR-34 ekspresyonu P53 mutasyonları ile birlikte değerlendirildiğinde ise yine hastaların relaps olasılığının yüksek olduğu gösterilmiştir (40). KHDAK olan hastalarda beş farklı miRNA'nın ifade profili ile prognoz arasında nasıl bir ilişkili olduğunu araştıran Yu ve arkadaşları let-7a ve miR-221'in koruyucu olarak hareket ettiğini, miR-137, miR-372 ve miR-182'nin ise ölüm riskini artırdığını rapor etmişlerdir (41). Gao ve arkadaşları ise yüksek miR-

21, düşük miR-143 ve düşük miR-181a ekspresyonunun KHDAK tanısı ve/veya prognozu açısından değeri olduğunu göstermişlerdir (42). KHAK'da yüksek düzeyde miR-574-5'in kemoterapiye direnç ile önemli derecede ilgili olduğu saptanmıştır (43). Bir başka çalışmada ise adenokarsinom olgularının dondurulmuş dokularından yapılan üç kohortta miR-21, miR-17 ve miR-155 değerlendirilmiştir. Yüksek miR-21 ekspresyonu kötü prognozla ilişkili olarak bulunmuştur (44).

AKCİĞER KANSERİNDE miRNA'LAR VE HEDEF YÖNELİK TEDAVİ

Özgül miRNA'lar tümör gelişiminin kontrolünde önemli bir rol oynar. Bu karsinogenezin de özgül miRNA'ların farmakolojik hedefler olarak seçilmesine yol açmıştır. Bu yaklaşımla, onkomirleri baskılayan miRNA derivelere antikanser ajanlar olarak kullanıma sunulmaya başlanmıştır. Bu amaçla, modifiye edilmiş miRNA derivelere olan kilitlenmiş nükleik asitler [locked nucleic acid (LNA)] kullanılmıştır. LNA'lar antagomirler olarak da adlandırılmaktadır. Fare modelleri ve insan olmayan primatlarda LNA'ların özgül olarak miRNA'ları baskıladıkları gösterilmiştir (45). Çeşitli antagomirler hayvan modellerinde başarılı sonuçlar vermiştir (46,47). Yakın gelecekte akciğer kanserinde antagomirleri kullanarak onkomirleri baskılamak oldukça rağbet gören bir yaklaşım olacaktır. İkinci yaklaşım ise tümör baskılayıcı aktivitesi olan miRNA'ların etkisini artırmak ya da bozulmuş olan aktivitesini düzeltmektir. Fare modellerinde intravenöz olarak verilen miR-34 analogları ile antitümörojenik etki sağlanmıştır (48). Yine, miR-34 tedaviye dirençli K-ras (LSL-G12D) (+); Trp53 (LSL-R172H) (+) akciğer adenokarsinomlu farelerde tümör oluşumunu ve ilerlemesini engellemiştir (49). Bir başka çalışmada ise KHDAK'lı farelerde intranasal olarak verilen let-7'nin antitümöral etkisi olduğu gösterilmiştir (50). EGFR ve sinyal yolağını hedefleyen miR-133b'nin KHDAK'da hücre büyümesini inhibe ettiği gösterilerek gelecek için potansiyel tedavi ajanı olabileceği bildirilmiştir (51).

Akciğer kanseri gelişiminde ortaya çıkan onkomirlerin ve tümör baskılayıcı aktiviteye sahip olan miRNA'ların ekspresyon profillerinin daha iyi anlaşılması miRNA temelli tedaviler için oldukça aydınlatıcı olacaktır. Şimdilik erken dönem preklirik testlerin yapılmış olmasına rağmen var olan çalışmalar gelecek için umut vermektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-49.
2. Sayed D, Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease. *Physiol Rev* 2011; 91: 827-87.
3. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294: 797-9.
4. Lotterman CD, Kent OA, Mendell JT. Functional integration of microRNAs into oncogenic and tumor suppressor pathways. *Cell Cycle* 2008; 7: 2493-9.
5. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6: 376-85.
6. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123: 631-40.
7. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-8.
8. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294: 858-62.
9. Selbach M, Schwanhauser B, Thierfelder N, Fang Z, Khanin R, Rajewsky N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature* 2008; 455: 58-63.
10. Liu X, Sempere LF, Ouyang H, Memoli VA, Andrew AS, Luo Y, et al. MicroRNA-31 functions as an oncogenic microRNA in mouse and human lung cancer cells by repressing specific tumor suppressors. *J Clin Invest* 2010; 120: 1298-309.
11. Liu CJ, Tsai MM, Hung PS, Kao SY, Liu TY, Wu KJ, et al. miR-31 ablates expression of the HIF regulatory factor FIH to activate the HIF pathway in head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2010; 70: 1635-44.
12. Valastyan S, Chang A, Benaich N, Reinhardt F, Weinberg RA. Concurrent suppression of integrin alpha5, radixin, and RhoA phenocopies the effects of miR-31 on metastasis. *Cancer Res* 2010; 70: 5147-54.
13. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 2999-3004.
14. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell* 2006; 9: 189-98.
15. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005; 120: 635-47.
16. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004; 64: 3753-6.
17. Liu X, Sempere LF, Guo Y, Korc M, Kauppinen S, Freemantle SJ, et al. Involvement of microRNAs in lung cancer biology and therapy. *Transl Res* 2011; 157: 200-8.
18. Corney DC, Flesken-Nikitin A, Godwin AK, Wang W, Nikitin AY. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth. *Cancer Res* 2007; 67: 8433-8.

19. Welch C, Chen Y, Stallings RL. MicroRNA-34a functions as a potential tumor suppressor by inducing apoptosis in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2007; 26: 5017-22.
20. Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15472-7.
21. Bommer GT, Gerin I, Feng Y, Kaczorowski AJ, Kuick R, Love RE, et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol* 2007; 17: 1298-307.
22. Liu X, Sempere LF, Galimberti F, Freemantle SJ, Black C, Dragnev KH, et al. Uncovering growth-suppressive MicroRNAs in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1177-83.
23. Feng S, Cong S, Zhang X, Bao X, Wang W, Li H, et al. MicroRNA-192 targeting retinoblastoma 1 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in lung cancer cells. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 6669-78.
24. Wang R, Wang ZX, Yang JS, Pan X, De W, Chen LB. MicroRNA-451 functions as a tumor suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14). *Oncogene* 2011; 30: 2644-58.
25. Jiang L, Huang Q, Zhang S, Zhang Q, Chang J, Qiu X, et al. Hsa-miR-125a-3p and hsa-miR-125a-5p are down regulated in non-small cell lung cancer and have inverse effects on invasion and migration of lung cancer cells. *BMC Cancer* 2010; 10: 318.
26. Crawford M, Brawner E, Batte K, Yu L, Hunter MG, Otterson GA, et al. MicroRNA-126 inhibits invasion in non-small cell lung carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373: 607-12.
27. Roybal JD, Zang Y, Ahn YH, Yang Y, Gibbons DL, Baird BN, et al. miR-200 Inhibits lung adenocarcinoma cell invasion and metastasis by targeting Flt1/VEGFR1. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 25-35.
28. Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *Br J Cancer* 2010; 103: 1144-8.
29. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435: 828-33.
30. Salmena L, Carracedo A, Pandolfi PP. Tenets of PTEN tumor suppression. *Cell* 2008; 133: 403-14.
31. Xie Y, Todd NW, Liu Z, Zhan M, Fang H, Peng H, et al. Altered miRNA expression in sputum for diagnosis of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2010; 67: 170-6.
32. Wang Q, Wang S, Wang H, Li P, Ma Z. MicroRNAs: novel biomarkers for lung cancer diagnosis, prediction and treatment. *Exp Biol Med (Maywood)* 2012; 237: 227-35.
33. Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, et al. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Lab Invest* 2011; 91: 579-87.
34. Foss KM, Sima C, Ugolini D, Neri M, Allen KE, Weiss GJ. miR-1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 482-8.
35. Yu L, Todd NW, Xing L, Xie Y, Zhang H, Liu Z, et al. Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA markers. *Int J Cancer* 2010; 127: 2870-8.
36. Xing L, Todd NW, Yu L, Fang H, Jiang F. Early detection of squamous cell lung cancer in sputum by a panel of microRNA markers. *Mod Pathol* 2010; 23: 1157-64.
37. Donnem T, Eklo K, Berg T, Sorbye SW, Lonvik K, Al-Saad S, et al. Prognostic impact of MiR-155 in non-small cell lung cancer evaluated by in situ hybridization. *J Transl Med* 2011; 9: 6.
38. Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011; 28: 1721-6.
39. Raponi M, Dossey L, Jatko T, Wu X, Chen G, Fan H, et al. MicroRNA classifiers for predicting prognosis of squamous cell lung cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 5776-83.
40. Gallardo E, Navarro A, Vinolas N, Marrades RM, Diaz T, Gel B, et al. miR-34a as a prognostic marker of relapse in surgically resected non-small-cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1903-9.
41. Yu SL, Chen HY, Chang GC, Chen CY, Chen HW, Singh S, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 48-57.
42. Gao W, Yu Y, Cao H, Shen H, Li X, Pan S, et al. Deregulated expression of miR-21, miR-143 and miR-181a in non small cell lung cancer is related to clinicopathologic characteristics or patient prognosis. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 399-408.
43. Ranade AR, Cherba D, Sridhar S, Richardson P, Webb C, Paripati A, et al. MicroRNA 92a-2*: a biomarker predictive for chemoresistance and prognostic for survival in patients with small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 1273-8.
44. Saito M, Schetter AJ, Mollerup S, Kohno T, Skaug V, Bowman ED, et al. The association of microRNA expression with prognosis and progression in early-stage, non-small cell lung adenocarcinoma: a retrospective analysis of three cohorts. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1875-82.
45. Elmen J, Lindow M, Schütz S, Lawrence M, Petri A, Obad S, et al. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature* 2008; 452: 896-9.
46. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 2005; 438: 685-9.
47. Ma L, Reinhardt F, Pan E, Soutschek J, Bhat B, Marcusson EG, et al. Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 341-7.
48. Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, Omotola M, Patrawala L, Brown D, et al. Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34. *Cancer Res* 2010; 70: 5923-30.
49. Kasinski AL, Slack FJ. miRNA-34 prevents cancer initiation and progression in a therapeutically resistant K-ras and p53-induced mouse model of lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 2012; 72: 5576-87.
50. Trang P, Medina PP, Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, Omotola M, et al. Regression of murine lung tumors by the let-7 microRNA. *Oncogene* 2010; 29: 1580-7.
51. Liu L, Shao X, Gao W, Zhang Z, Liu P, Wang R, et al. MicroRNA-133b inhibits the growth of non-small-cell lung cancer by targeting the epidermal growth factor receptor. *FEBS J* 2012; 279: 3800-12.