



## مروری جامع بر نقش میکروRNAها، روش‌های شناسایی و اندازه‌گیری، مکانیسم‌های اختلال بیان و کاربردهای احتمالی در سطح بالین به عنوان مارکرهای زیستی تشخیصی، پیش‌آگهی و درمان بیماران مبتلا به سرطان ریه

رقیه شیرویللو<sup>\*\*</sup>: استادیار پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، انستیتوی سل مقاوم به درمان، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران  
جعفر شهرکی<sup>\*\*</sup>: استادیار داروشناسی و سم شناسی، دپارتمان داروشناسی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران  
ام البنین شهرکی: استادیار شیمی دارویی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، انستیتوی سل مقاوم به درمان، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران  
سکینه شیرویللو: استادیار فیزیک پزشکی، دپارتمان فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران  
<sup>ID</sup> حبیب غزنوی: استادیار داروشناسی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران (\*نویسنده مسئول) [ghaznavi@zaums.ac.ir](mailto:ghaznavi@zaums.ac.ir)  
<sup>\*\*</sup> رقیه شیرویللو و جعفر شهرکی در نگارش مقاله نقش یکسان داشته‌اند.

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

میکروRNA

سرطان ریه سلول‌های

غیرکوچک،

تشخیص،

پیش‌آگهی،

درمان

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۱۴

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۲/۰۶

میکروRNAها، RNAهای کوتاه اندوژن تکرار شده‌ای غیر کدکننده‌ی پروتئین می‌باشند که اغلب به عنوان تنظیم کننده‌ی منفی بیان ژن، بعد از فرآیند رونویسی عمل می‌کنند. این مولکول‌ها به صورت فعال در فرآیندهای مهم سلولی مشارکت کرده و در ایجاد بدخیمی‌های مختلف نظیر سرطان ریه دخیل‌اند. سرطان ریه سلول‌های غیرکوچک، با ماهیت هتروژن، بیش از ۸۰٪ موارد سرطان ریه را شامل می‌شود. اخیراً بررسی الگوی بیان RNAهای تنظیمی غیر کدکننده در بافت‌های سالم و بیمار مورد توجه قرار گرفته و نقش احتمالی میکروRNAها در تنظیم بیان ژن پیشنهاد شده است. یافته‌های رو به افزایش این مولکول‌ها را از نظر عملکرد در دو رده‌ی آنکوگیر و یا RNAهای سرکوگیر تومور معرفی می‌نماید. غربالگری گسترده‌ی ژنوم نشان داده است که الگوی بیان میکروRNAهای خاص با پیامد سرطان ریه سلول‌های غیرکوچک مرتبط می‌باشد. از طرفی ارزیابی کمی بیان ژن نشان داده است که میکروRNAهای دارای بیان بالا در بافت سالم، در تومورهای ریه کاهش بیان یافتند که نشانگر نقش احتمالی این مولکول‌ها به عنوان "مهارکننده‌ی تومور" می‌باشد. برعکس، گروه دیگر میکروRNAها نیز که در بافت تومور ریه با افزایش بیان شناسایی و به عنوان "آنکوگیر" معرفی شدند. در این مقاله مروری قصد داریم به معرفی، ساخت و پردازش و اهمیت میکروRNAها در سلول‌های نرمال و بیمار، بافت سالم و بافت بدخیم ریه، مکانیسم‌های درگیر در اختلال بیان، عملکرد، روش‌های شناسایی و در نهایت کاربرد این مولکول‌ها به عنوان مارکر زیستی در سطح بالین بپردازیم.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت کننده:** حامی مالی نداشته است.

**شیوه استناد به این مقاله:**

Sheervalilou R, Shahraki J, Shahraki O, Shirvalilou S, Ghaznavi H. A review on microRNAs' function, detection and evaluation methods, expression dysregulation mechanisms and possible applications in clinical phase as diagnostic, prognostic and therapeutic biomarkers of lung cancer patients. Razi J Med Sci. 2020;27(3):101-121.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.



## Review Article

### A review on microRNAs' function, detection and evaluation methods, expression dysregulation mechanisms and possible applications in clinical phase as diagnostic, prognostic and therapeutic biomarkers of lung cancer patients

**Roghayeh Sheervalilou\*\***, Assistant Professor of Molecular Medicine, Cellular and Molecular Research Center, Resistant Tuberculosis Institute, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

**Jafar Shahraki\*\***, Assistant Professor of Toxicology and Pharmacology, Department of Toxicology and Pharmacology, School of Pharmacy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

**Omolbanin Shahraki**, Assistant Professor of Medicinal Chemistry, Cellular and Molecular Research Center, Resistant Tuberculosis Institute, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

**Sakine Shirvalilou**, Assistant Professor of Medicinal Physics, Department of Medicinal Physics, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Habib Ghaznavi**, Assistant Professor of Pharmacology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran (\*Corresponding author) [dr.ghaznavi@zaums.ac.ir](mailto:dr.ghaznavi@zaums.ac.ir)

\*\*Co-first authors, these authors contributed equally.

## Abstract

MicroRNAs are small endogenous single-stranded non-protein-coding RNAs that often act as negative gene regulators at post-transcriptional level. These molecules actively participate in a wide variety of cellular events, and are involved in pathogenesis of different malignancies, e.g. lung cancer. With a heterogeneous nature, non-small cell lung cancer comprises more than 80% of lung cancer cases. As of recent, expression profile of non-protein-coding RNAs have been considered in various normal and morbid tissues, and possible roles of microRNAs in gene regulation have been speculated. Functionally, a growing body of evidence categorizes these molecules as “oncomiRs” and “tumor suppressive RNAs.” Through high through-put screening of genome, it has been demonstrated that the expression pattern of specific microRNAs is associated with the outcome of non-small cell lung cancer. Furthermore, quantitative gene expression assessment has revealed that microRNAs with a high expression level in the normal lung often become down-regulated in lung tumors, indicating their possible role as tumor suppressive microRNAs. On the contrary, another group of microRNAs was found to be up-regulated in lung cancer tissues, hence, the name “oncomiR”. In this article, we will have a review on introduction, synthesis, and processing of microRNAs, and their importance in normal and abnormal cells, normal and cancerous lung tissue, and mechanisms involved in expression dysregulations, function, definition methods, and ultimately, application of these molecules as biomarker in clinic.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

## Keywords

microRNA (miRNA), Non-small cell lung cancer (NSCLC), Diagnosis, Prognosis, Treatment

Received: 04/01/2020

Accepted: 25/04/2020

## Cite this article as:

Sheervalilou R, Shahraki J, Shahraki O, Shirvalilou S, Ghaznavi H. A review on microRNAs' function, detection and evaluation methods, expression dysregulation mechanisms and possible applications in clinical phase as diagnostic, prognostic and therapeutic biomarkers of lung cancer patients. Razi J Med Sci. 2020;27(3):101-121.

\*This work is published under [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) licence.



سلول‌های فلسی<sup>۱۴</sup> و کارسینوم سلول‌های بزرگ<sup>۱۵</sup> تقسیم می‌شود (۵).

طبق تحقیقات مشخص شده است که تغییرات ژنتیکی می‌توانند در سطح کروموزومی، نوکلئوتیدی و اپی‌ژنتیکی<sup>۱۶</sup> اتفاق بیافتند. چنین تغییراتی ممکن است باعث فعال شدن آنکوژن‌ها<sup>۱۷</sup> و یا غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور<sup>۱۸</sup> شوند. ده یا تعداد بیشتری اختلالات ژنتیکی یا اپی‌ژنتیکی لازم است تا بدخیمی ایجاد شود. در دهه‌ی اخیر مکانیسم‌های مولکولی تومورالزی در بافت ریه تا حدودی در سطح ژن‌ها و پروتئین‌ها شناخته شده است (۶-۸). با این وجود، از سال ۱۹۷۰ تاکنون میزان بالای مرگ و میر بیماران، بهبود چشمگیری نیافته است. فقدان ابزار مناسب تشخیص بیماری در مراحل اولیه و عدم کارایی روش‌های درمانی موجود در مراحل پیشرفته‌ی بیماری، دو معضل اصلی در سرطان ریه می‌باشند (۹).

روش‌های تشخیصی رایج برای سرطان ریه شامل عکس‌برداری قفسه‌ی سینه با اشعه‌ی ایکس<sup>۱۹</sup>، توموگرافی با دوز پایین<sup>۲۰</sup> و سیتولوژی خلط<sup>۲۱</sup>، اغلب به علت نداشتن اختصاصیت و ویژگی<sup>۲۲</sup> کافی که برای تشخیص بیماری در مراحل اولیه ضروری است، باعث عدم شناسایی بموقع بیماری می‌شوند. فقط ۱۵٪ بیماران مبتلا به سرطان قبل از گسترش بیماری به سایر نقاط بدن شناسایی می‌شوند (۱۰ و ۱۱). جراحی نیز تنها در بیماران مراحل اولیه موثر است (۹ و ۱۲). از طرفی، رویکردهای نوین آزمایشی موجود نظیر درمان هدفمند گیرنده‌ی مولکول‌های کوچک<sup>۲۳</sup>، واکسن‌های اصلاح شده‌ی ژنتیکی تومور<sup>۲۴</sup> و ژن درمانی<sup>۲۵</sup> باعث

میکروRNAها<sup>۱</sup>، RNAهای کوچک تک‌رشته‌ای درون‌زاد<sup>۲</sup> غیر کدکننده<sup>۳</sup> با طول ۲۵-۱۸ نوکلئوتید (به طور متوسط ۲۲ نوکلئوتید) می‌باشند، که اغلب به عنوان تنظیم کننده‌ی منفی بیان ژن (۱)، بعد از فرآیند رونویسی<sup>۴</sup> عمل می‌کنند. بعضی از میکروRNAها چندین هزار مولکول هدف دارند و حدود دو سوم بیان ژن تحت کنترل این مولکول‌ها می‌باشد. میکروRNAها در شمار زیادی از فرآیندهای سلولی نظیر تکثیر، متابولیسم، تمایز<sup>۵</sup>، آپوپتوز<sup>۶</sup> یا مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی<sup>۷</sup> و انتقال اپتلیال- مزانشیمال<sup>۸</sup> نقش دارند (۲). تا سال ۲۰۰۸ چندین هزار میکروRNA پیش‌ساز<sup>۹</sup> و بالغ<sup>۱۰</sup> در نخستی‌ها<sup>۱۱</sup>، جوندگان، پرندگان، ماهی‌ها، کرم‌ها و حشرات شناسایی شده است (۳).

سرطان ریه<sup>۱۲</sup> از جمله علل مهم مرگ و میر ناشی از بدخیمی در زنان و مردان می‌باشد. بر طبق آمار American Cancer Society در سال ۲۰۲۰، در ایالات متحده، حدود ۲۲۸،۸۲۰ مورد جدید و ۱۳۵،۷۲۰ مرگ ناشی از سرطان ریه برآورد شده است (۴). طبق آمار وزارت بهداشت در سال ۱۳۸۷، سرطان ریه نهمین سرطان شایع در ایران بوده است. بر طبق مطالعات، ابتلا به سرطان ریه ارتباط نزدیکی با مصرف سیگار دارد و از لحاظ بافت‌شناسی به دو گروه اصلی سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک (NSCLC) (حدود ۸۵٪ موارد) و سرطان ریه سلول‌های کوچک (SCLC) (حدود ۱۵٪ موارد) تقسیم می‌شود. سرطان ریه سلول‌های غیرکوچک به سه زیرگروه آدنوکارسینوم<sup>۱۳</sup>، کارسینوم

1 microRNA or miRNA

2 Endogen

3 Non-coding

4 Transcription

5 Differentiation

6 Apoptosis

7 Programmed Cell Death

8 Epithelial-mesenchymal-Transition (EMT)

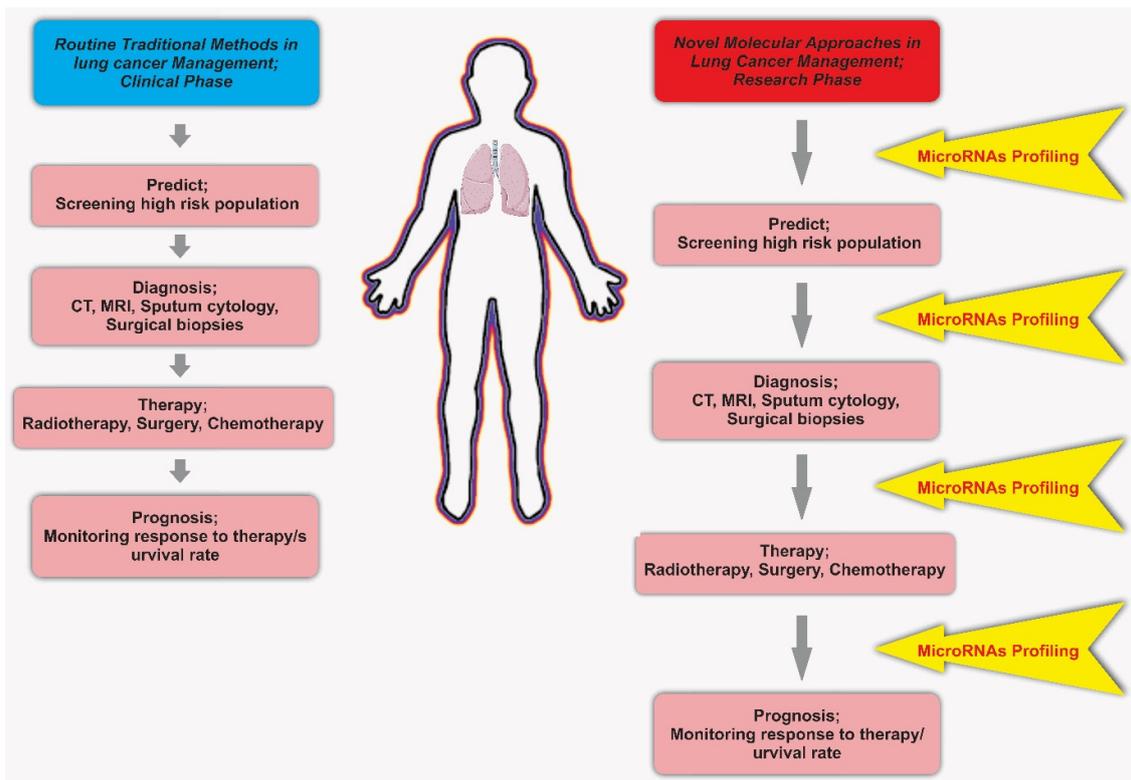
9 Precursor

10 Mature

11 Primates

13 Adenocarcinoma

13 Adenocarcinoma



شکل ۱- چکیده‌ی شماتیک کاربردهای پیشنهادی میکروRNAها در بالین. (تصویر اصالت دارد)

کاربردهای احتمالی این مولکول‌ها به عنوان مارکر زیستی در سطح بالین می‌باشد (شکل ۱).

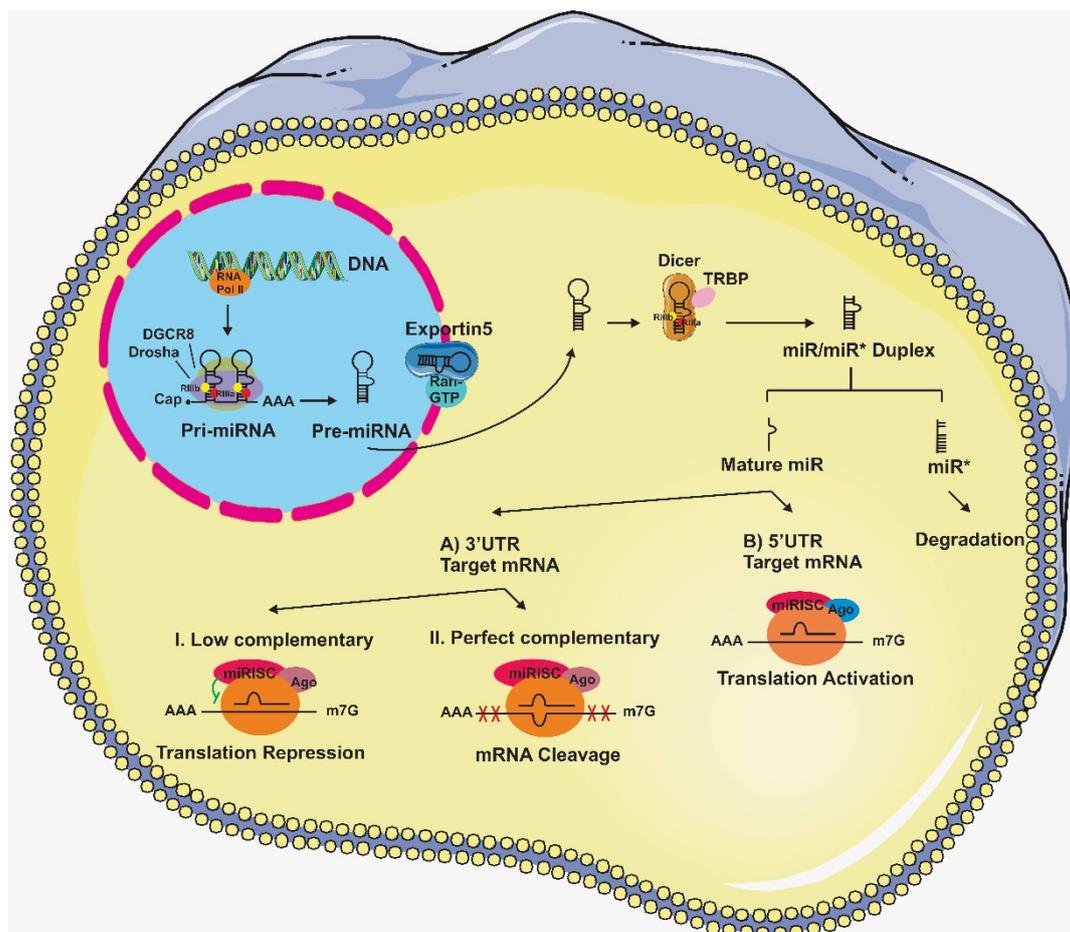
### سننژ میکروRNAها

پیش‌سازهای میکروRNAها در نواحی اینترونی<sup>۲</sup> (۱) واحدهای رونویسی کد کننده پروتئین<sup>۳</sup> و واحدهای رونویسی غیر کننده<sup>۴</sup> و یا در بخش‌های اگزونی نواحی غیر کد کننده<sup>۵</sup> ژنوم قرار دارند (۱۶). میکروRNAها در فرآیند رونویسی توسط آنزیم RNA پلیمراز ۲ و ۳، از روی ژنوم، بصورت میکروRNAی اولیه<sup>۷</sup> به شکل سنجاق سری<sup>۸</sup> با طول ۲۰۰-۳۰۰ نوکلئوتید ساخته می‌شوند (۱۳). در داخل هسته دو رشته‌ی انتهایی میکروRNAی اولیه توسط آنزیم دروشا<sup>۹</sup> بریده شده و به

عود<sup>۱</sup> تومور شده و در حال حاضر در گروه کوچکی از بیماران استفاده می‌شوند. به علاوه، تعیین مرحله‌ی بیماری براساس معیارهای بافت‌شناسی و بالینی، توانایی محدودی برای پیش‌بینی عود بیماری و بقای بیماران دارد (۱).

در دهه‌ی اخیر بررسی بیان میکروRNAها در بافت سالم و تومورهای ریه بطور گسترده‌ای مورد توجه قرار گرفته و یافته‌های حاصل نقش قابل توجه میکروRNAها را در تکامل بافت ریه مطرح کرده‌اند. بر اساس این گزارش‌ها، اختلال بیان و عملکرد این مولکول‌ها می‌تواند از جمله مکانیسم‌های موثر در تومورزایی تلقی شده و این مولکول‌ها را به عنوان کاندیداهای قابل توجه در تشخیص و درمان معرفی نماید (۱۴ و ۱۵). لذا هدف از این مقاله، مروری جامع بر ساخت و پردازش و اهمیت میکروRNAها در سلول‌های نرمال و بیمار، بافت سالم و بافت بدخیم ریه، مکانیسم‌های درگیر در اختلال بیان، عملکرد، روش‌های شناسایی و در نهایت بررسی

<sup>۱</sup> Relapse



شکل ۲- مراحل ساخت میکروRNA در داخل سلول (تصویر اصالت دارد)

سلول نشان می‌دهد. نقش اساسی میکروRNAها، مهار بیان ژن در سطح بعد از رونویسی، تجزیه‌ی mRNA<sup>۷</sup> هدف یا مهار ترجمه‌ی پروتئین می‌باشد (۱۸). در ابتدا میکروRNAی بالغ به مجموعه‌ی پروتئینی تحت عنوان ریسک حاوی آرگونات (که در بالا اشاره شد) متصل می‌شود و ساختار ایجاد شده قادر به شناسایی mRNAی هدف از طریق میان‌کنش بین توالی‌های مکمل میکروRNA و mRNA خواهد بود. این اتصال بین ناحیه‌ی سید<sup>۸</sup> میکروRNA و انتهای<sup>۳'</sup> توالی غیر کدکننده<sup>۹</sup> mRNAی هدف انجام می‌گیرد. درجه‌ی مکمل بودن<sup>۱۰</sup> میکروRNA و mRNA هدف، تعیین کننده‌ی نوع مکانیسم مهار می‌باشد. در

میکروRNAی پیش‌ساز<sup>۱</sup> با طول ۷۰-۱۰۰ نوکلئوتید تبدیل می‌شود. میکروRNAی پیش‌ساز با اتصال به گیرنده‌ی پروتئین اکسپورتین-۵<sup>۲</sup>، از هسته به سیتوپلاسم منتقل شده و توسط آنزیم دایسر<sup>۳</sup>، قسمت سنجاق‌سری حذف و میکروRNAی دورشته‌ای با طول ۲۵-۱۸ نوکلئوتید حاصل می‌شود. با عملکرد آنزیم هلیکاز<sup>۴</sup> دو رشته‌ی میکروRNA از هم جدا می‌شوند. یک رشته به میکروRNAی بالغ تبدیل شده و رشته‌ی مکمل تجزیه می‌شود. میکروRNAی بالغ به کمپلکس ریسک<sup>۵</sup> شامل پروتئین‌های آرگونات<sup>۶</sup> متصل می‌شود (۱۷ و ۱۸). شکل ۲ مراحل ساخت میکروRNA را داخل

<sup>1</sup> Precursor (pre)-miRNA

<sup>2</sup> Exportin-5 (Expo-5) Receptor

<sup>3</sup> Dicer

<sup>4</sup> Helicase

<sup>5</sup> RNA-Induced Silencing Complex (RISC)

<sup>6</sup> Argonaut (Ago) Proteins

زیستی ارائه کنند.

اخیراً گزارشی تحت عنوان "روش‌ها و ترکیبات مبتنی بر میکروRNA برای تشخیص و درمان تومورهای توپر"<sup>۲</sup>، ۱۲۳ میکروRNA را که در سرطان ریه تغییر قابل توجهی داشتند، معرفی کرد. در این مطالعه بیان میکروRNAهای بافت بدخیم ریه و بافت سالم هر بیمار مقایسه شدند. نتایج نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بیان ۴۳ میکروRNA و افزایش بیان در ۱۵ میکروRNA بود (۹). مطالعات وولینیا نشان داد که ۳۵ میکروRNA افزایش بیان یافته و فقط سه میکروRNA کاهش بیان داشتند (۲۴). در مقابل این گزارش‌ها، آمیون شرح داد که سه میکروRNA بطور قابل توجهی در مقادیر بالایی در ریه‌ی توموری بیان می‌شوند، در حالی که شش میکروRNA کاهش بیان می‌یابند (۲۵). علی‌رغم این تحقیقات، تغییرات مشابه در تعداد کمی از میکروRNAهای مشاهده شد. دلایل زیادی از جمله استفاده از نمونه‌های مختلف، کاربرد روش‌های شناسایی متفاوت و یا حتی روش‌های آنالیز متعدد می‌توانست علت آن باشد. تعداد زیادی از میکروRNAهایی که در بافت ریه‌ی بدخیم اختلال بیان پیدا می‌کنند به طور معمول در نواحی‌ای از کروموزوم که مکرراً حذف<sup>۳</sup> یا تشدید<sup>۴</sup> می‌شوند، قرار دارند. برای مثال، در سرطان ریه، miR-21 و miR-205 در مناطق تشدید کروموزومی قرار دارند. miR-126\* و miR-126 نیز در منطقه 9q34.3 قرار دارند که این لوکوس در سرطان ریه حذف می‌شود. این اطلاعات با تحقیقات قبلی که نشان می‌داد ژن‌های میکروRNA در نواحی شکننده‌ی کروموزومی<sup>۵</sup> و همچنین مناطق از بین رفتن هتروزیگوسیتی<sup>۶</sup>، مناطق تشدید و مناطق شایع شکست<sup>۷</sup> وجود دارند، منطبق می‌باشند (۲۶-۲۸) می‌باشند. به علاوه، تقریباً ۳۰٪ از ۴۳ میکروRNA در مناطق اگزونی و اینترونی ژن‌های شناخته‌شده‌ی کد کننده‌ی پروتئین قرار دارند (۲۲). بیان تعداد زیادی از میکروRNAها با سطح بیان ژن‌های کدکننده‌ی

صورتی که دو قطعه کاملاً مکمل هم باشند، mRNA هدف تجزیه می‌شود، اما اگر میزان مکمل بودن کمتر باشد مهار ترجمه‌ی mRNA هدف صورت می‌گیرد. اگرچه تصور می‌شود که تجزیه‌ی mRNA هدف در سلول‌های جانوری یک فرآیند غیرمعمول می‌باشد، اما اثبات شده است که این فرآیند نقش مهمی در تنظیم بیان ژن، برعهده دارد (۱۹). طبق تحقیقات به عمل آمده، مشخص شده است که هر مولکول mRNA هدف می‌تواند به واسطه‌ی تعداد زیادی میکروRNA تنظیم شود. به عبارت دیگر هر میکروRNAیی می‌تواند یک یا صدها mRNA را مورد هدف قرار دهد. مطالعات نشان داده است که میکروRNAها با انتقال از سلولی به سلول دیگر، به کمک مکانیسم‌های قابل توجهی در تنظیم ارتباطات بین سلولی نقش به‌سزایی دارند (۱۸). لازم به ذکر است که میزان فعالیت میکروRNAها از طریق کنترل رونویسی آن‌ها در مراحل مختلف سنتز و بعد از این مرحله به وسیله‌ی عملکرد کمپلکس میکروRNA با ریسک تنظیم می‌شود (۲۰).

با توجه به نقش چشمگیر میکروRNAها به عنوان عوامل موثر بر تنظیم بیان ژن، در صورت اختلال در سنتز و عملکرد این مولکول‌ها، هومئوستاز<sup>۱</sup> ارگانیسم‌ها می‌تواند دستخوش تغییر شود (۵).

### میکروRNAها در سرطان ریه

مطالعات زیادی نشان می‌دهند که میکروRNAها در سرطان‌های انسانی، دچار جهش و یا تغییر بیان می‌شوند (۲۱). این یافته‌ها نه تنها میکروRNAها به عنوان تنظیم‌کننده‌ی بیان آنکوژن‌های شناخته شده و ژن‌های سرکوبگر تومور پیشنهاد می‌کند، بلکه پتانسیل قابل توجه این مولکول‌ها را به عنوان آنکوژن و یا ژن سرکوبگر تومور مطرح می‌سازد. در نتیجه رابطه‌ی نزدیکی بین تغییر بیان یک یا چند میکروRNA و تومورزایی می‌تواند وجود داشته باشد (۲۲ و ۲۳). جدول ۱، آنکومیرها و میکروRNAهای مطرح شناسایی شده در سرطان ریه را نشان می‌دهد که براساس میزان تغییر در سطح بیان امتیازدهی شده‌اند. میکروRNAهای با امتیاز بیشتر، می‌توانند نقش مهم تری به عنوان مارکر

<sup>۲</sup> "microRNA-based methods and compositions for the diagnosis and the treatment of solid cancers"

<sup>۳</sup> Deletion

<sup>۴</sup> Amplification

<sup>۵</sup> Chromosome fragile site

<sup>۶</sup> Loss of Heterozygosity (LOH)

<sup>۷</sup> Common breakpoint regions

<sup>۱</sup> Homeostasis

**جدول ۱-** میزان تاثیر میکروRNAهای هر خانواده در تومورزایی، میکروRNAها با امتیاز بالاتر، مهارکننده‌های قوی تومور و برعکس میکروRNAها با امتیاز پایین، آنکوژن‌های قوی می‌باشند (۹).

امتیاز میکروRNAها									
>۳	۲	۱	۰	-۱	-۲	<-۳			
Let-7	mir-16	mir-8	mir-219	mir-24	mir-7	mir-186	mir-10	mir-17-92	
mir-15	mir-100	mir-33	mir-220	mir-31	mir-9	mir-189	mir-23	mir-21	
mir-26	mir-101	mir-96	mir-222	mir-32	mir-25	mir-202	mir-24	mir-27	
mir-29	mir-143	mir-98	mir-223	mir-34	mir-95	mir-204	mir-28	mir-93	
mir-30	mir-145	mir-124	mir-322	mir-99	mir-129	mir-206	mir-103	mir-106	
mir-126	mir-190	mir-144	mir-338	mir-107	mir-130	mir-212	mir-122	mir-128	
mir-142	mir-331	mir-148	mir-351	mir-123	mir-131	mir-221	mir-125	mir-155	
		mir-183	mir-362	mir-140	mir-132	mir-296	mir-127	mir-181	
		mir-184	mir-374	mir-146	mir-133	mir-299	mir-134	mir-196	
		mir-185	mir-424	mir-153	mir-135	mir-302	mir-136	mir-199	
		mir-187	mir-449	mir-159	mir-137	mir-328	mir-139	mir-210	
		mir-188	mir-454	mir-193	mir-141	mir-330	mir-191	mir-214	
		mir-192	mir-576	mir-203	mir-149	mir-337	mir-197	mir-301	
		mir-194	mir-590	mir-211	mir-150	mir-368	mir-200		
		mir-195	mir-923	mir-217	mir-151	mir-370	mir-205		
		mir-198		mir-218	mir-152	mir-372	mir-224		
					mir-154		mir-323		
							mir-335		

صورت گیرد (۱۸).

تغییر در تعداد کپی: جایگاه<sup>۲</sup> میکروRNAها معمولاً در مناطقی از ژنوم قرار دارد که ناپایدار بوده و بسیار مستعد تغییر می‌باشد (۵۰). شاید بهترین مثال برای تغییرات مستقیم میکروRNAها، حذف جایگاه let-7 باشد (۵۱). اعضای خانواده‌ی let-7 از جمله ژن‌های مهارگر شناخته شده‌ای بوده و در مناطقی از کروموزوم قرار می‌گیرند که به طور مکرر در سرطان ریه و بسیاری بدخیمی‌های دیگر، حذف می‌شوند. این مناطق شامل 3p، 9q و 21p می‌باشند. یکی از نمونه‌های برجسته‌ی آنکو میرها<sup>۳</sup>، کلاستر miR-17-92 می‌باشد که در تومورهای ریه بخصوص سرطان ریه سلول‌های کوچک و نیز رده‌ی سلولی سرطانی، دچار افزایش بیان می‌شود (۵۲). بیان این کلاستر توسط فاکتور رونویسی MYC تنظیم می‌شود. این پروتئین مکرراً در سرطان ریه افزایش بیان می‌یابد (۵۱).

مکانیسم‌های اپیژنتیکی: تاثیرات اپیژنتیکی از جمله هیپومتیلاسیون<sup>۴</sup> سراسر ژنوم و هیپرمتیلاسیون<sup>۵</sup> جایگاه‌های اختصاصی در ژنوم سلول‌های سرطانی شناسایی شده است. در سال ۲۰۰۶ دیدریش و

پروتئین و RNAهای غیر کدکننده مرتبط می‌باشد (۲۹). برای مثال، کلاستر شناخته شده miR-17-92 با طول ۸۰۰ جفت باز بر روی سومین اینترون ژن C13orf25 در ناحیه‌ی 13q31.3 قرار دارد (۲۷ و ۳۰). جدول ۲ میکروRNAهای شاخص در سرطان ریه را به همراه ژن هدف و نیز مکانیسمی که در تومورزایی القا می‌کند، ارائه می‌کند (۳۱-۴۹).

### مکانیسم‌های اختلال میکروRNAها در سرطان ریه

شناسایی مکانیسم‌های ژنتیکی و اپیژنتیکی تنظیم میکروRNAها، دیدگاه‌های جدیدی را در مورد میکروRNAهایی که اختلال بیان یافته و با بیولوژی سرطان ریه ارتباط دارند، ایجاد می‌کند. مشابه ژن‌های کدکننده‌ی پروتئین، میکروRNAها می‌توانند توسط مکانیسم‌های ژنتیکی و اپیژنتیکی تنظیم شوند. تغییر بیان میکروRNAها می‌تواند به طور مستقیم به علت تغییر در لوکوس<sup>۱</sup> این مولکول‌ها در روی کروموزوم و یا به طور غیر مستقیم از طریق اختلال در فرآیندهای پردازش میکروRNA با اجزای کمپلکس پروتئینی ریسک، و یا تغییر در رونویسی mRNAهای هدف

<sup>۲</sup> Locus

<sup>۳</sup> oncomiR

<sup>۴</sup> Hypomethylation

<sup>۵</sup> Hypermethylation

<sup>۱</sup> Locus

**جدول ۲- میکروRNAهای درگیر در سرطان ریه، ژن هدف و مکانیسم عمل**

میکروRNA	ژن هدف	مکانیسم عملکردی	رفرنس
miR-494	IGF2BP1	افزایش آنژیوژن، کاهش تکثیر سلولی	Mao et al. 2015, Ohdaria et al. 2012
miR-153	ADAM19, AKT	مهار مهاجم در سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک، مهار تکثیر، تحریک آپوپتوز	Shan et al. 2015, Yuan et al. 2015
miR-101	COX-2, Lin28B, EZH2	مهار تکثیر، التهاب و بهم خوردن چرخه سلولی	Cao et al. 2012, Lei et al. 2015
Let-7	RAS, CDC25A, CDK6, cyclin D, LIN28, MYC, HMGA2, HOXA9, TGFBR1, BCL-XL, MAP4K3	سرکوب تکثیر سلول، تنظیم چرخه سلولی	Johnson et al. 2007, Wang et al. 2012
miR-135b	IL-1R1	میانجیگری پاسخ‌های التهابی	Halappanavar et al. 2013
miR-155	hexokinase 2, APAf-1	تحریک متابولیسم گلوکز، تنظیم آپوپتوز و پاسخ به آسیب DNA	Zang et al. 2010, Lv et al. 2016
miR-200	ZEB, E-cadherin, vimentin	تحریک انتقال اپیتلیال-مزانشیمال	Takeyama et al. 2010, Tellez et al. 2011
miR-218	Slug/ZEB2, tumor protein D52	مهار مهاجم سلولی و انتقال اپیتلیال-مزانشیمال	Kumamoto et al. 2016, Shi et al. 2017
MiR-21	SOCS1, SOCS6, and PTEN	تحریم مهاجم	Xue et al. 2016
miR-4317	FGF9 and CCND2	مهار تکثیر و مهاجم سلول	He et al. 2018

وجود دارد (۵۶). به علاوه، تغییر غیر مستقیم الگوی متیلاسیون DNA می‌تواند از طریق هدف‌گیری DNA-متیل ترانسفرازها<sup>۴</sup> توسط میکروRNAها صورت گیرد. برای مثال، mir-29a/b/c بطور مستقیم آنزیم‌های DNMT3A و DNMT3B را که در سرطان ریه افزایش بیان قابل توجهی یافته و باعث اختلال متیلاسیون DNA می‌شوند، مورد هدف قرار می‌دهد (۵۷). مطالعه مروری‌ای که در سال ۲۰۱۷ توسط شيروليلو و همکاران صورت گرفت نشان داد که رابطه متقابلی بین میکروRNAها و مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی در سرطان وجود دارد. شناخت هرچه بیشتر و بهتر این مکانیسم‌ها در کنترل سرطان ریه نقش موثری خواهد داشت (۱۸). پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتید<sup>۵</sup> برخلاف ژن‌های کد کننده پروتئین، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتید در توالی‌های عملکردی میکروRNAها، نادر بوده و در کمتر

همکاران، رده‌ی سلولی A549 را با عامل دمتیله کننده ۵-آزاسیتیدین<sup>۱</sup> تیمار و بیان میکروRNAها را با میکروآرای بررسی کردند. آنالیز صورت گرفته تغییر معنی‌داری را در سطح بیان میکروRNAها نشان نداد (۵۳). بهرحال مستنداتی وجود دارد مبنی بر اینکه میکروRNAها می‌توانند هدف تنظیمات اپی‌ژنتیکی باشند. برای مثال ناحیه‌ی پروموتور miR-34a در رده‌ی سلولی سرطان ریه و انواع بدخیمی‌های دیگر هایپرمتیله می‌شود (۵۴). در حالیکه let-7a-3 در آدنوکارسینوم ریه نسبت به بافت سالم دچار هیپومتیلاسیون می‌شود (۵۵). کاهش بیان miR-1 می‌تواند توسط فعالیت آنزیم هیستون داستیلاز<sup>۲</sup> معکوس شود در نتیجه امکان تنظیم مجدد سایر میکروRNAها نیز از طریق مدیفیکاسیون هیستونی<sup>۳</sup>

<sup>1</sup> 5-azacytidine

<sup>2</sup> Histone Deacetylase (HDA)

<sup>3</sup> Histone modification

طریق مقایسه‌ی نمونه‌ی تومور با بافت سالم اطراف آن<sup>۵</sup> در هر بیمار، یا در بین گروه‌های مختلف کلینیکوپاتولوژیک<sup>۶</sup> نظیر زیرگروه‌های بافتی<sup>۷</sup> و نیز بررسی میزان پاسخ بیماران به درمان انجام گرفت (۶۹). مطالعه‌ی اخیر بر روی سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک، ۴۱ میکروRNA را با تغییر بیان شناسایی کرد. یافته‌های این تیم تحقیقاتی ۶ میکروRNA را به عنوان مارکر زیستی<sup>۸</sup> برای تمییز آدنوکارسینوم از کارسینومای سلول‌های فلسی گزارش نمود (۲۲). همچنین، مطالعات بیشتر در این زمینه منجر به شناسایی میکروRNAهای مرتبط با متاستاز<sup>۹</sup> و بقا<sup>۱۰</sup> گردید (۷۰). به علاوه، تغییر بیان میکروRNAها، می‌تواند ناشی از اختلال فاکتورهای رونویسی نیز باشد. برای مثال، بیان کلاستر miR-17-92 در سرطان ریه توسط MYC القا می‌شود (۷۱).

*تنظیم سطح میکروRNAها توسط تغییرات مکانیسم‌های پردازشی: کاهش کلی سطح میکروRNAهای بالغ یک فرآیند معمول در سرطان بوده که می‌تواند از طریق تغییر در مکانیسم‌های پردازشی میکروRNAها اعمال شود (۷۲). برای مثال در سرطان ریه، انتقال میکروRNAهای پیش‌ساز از هسته به سیتوپلاسم نیازمند به پروتئین اکسپورتین-۵ واقع در غشای هسته می‌باشد. در صورت جهش غیرفعال کننده‌ی این پروتئین، میزان میکروRNAهای سیتوپلاسمی کاهش می‌یابد (۷۳). علاوه بر این، جهش در ژن TRABP2 کد کننده‌ی پروتئین TRBP، که به عنوان کوفاکتور به آنزیم دایسر متصل شده و برای تقسیم میکروRNAی پیش‌ساز در سیتوپلاسم و تولید میکروRNAی بالغ شرکت می‌کند، نیز در سرطان اتفاق می‌افتد (۷۴). به نظر می‌رسد که جهش این جایگاه نیز انحصاری باشد (۷۵). در واقع، آنزیم دایسر، TRABP2، پروتئین اکسپورتین-۵ و ژن‌های مهارکننده‌ی تومور دارای نارسایی هاپلو<sup>۱۱</sup> در بدخیمی‌ها می‌باشند (۷۶) و (۷۷). نبود آنزیم دایسر با عود سریع تر و تمایز کمتر*

از ۱٪ میکروRNAها اتفاق می‌افتد (۵۸). بررسی توالی‌های کاملاً مکمل در نواحی خاصی از let-7 در بین گونه‌های مختلف نشان دهنده‌ی عملکرد حفاظت شده‌ی میکروRNAها در طول تکامل بوده (۵۹) و بر اعمال نوعی انتخاب منفی علیه تغییرات توالی‌ها دلالت دارد. به‌رحال، در سرطان ریه پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتید در توالی‌های میکروRNAی اولیه و پیش‌ساز (۶۰ و ۶۱)، در نزدیکی جایگاه‌های اتصالی میکروRNAها (۶۲) و در ژن‌های کدکننده‌ی سیستم‌های پردازشی میکروRNAها، شناسایی شده‌اند (۶۳). یک نوع پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ای از میکروRNAی پیش‌ساز miR-196a2 (در واریانت هموزیگوت<sup>۱</sup> rs11614913)، به‌طور قابل‌توجهی با خطر ابتلا به بیماری و نیز بقای پایین بین جمعیت چینی‌های مبتلا به سرطان ریه، وجود دارد (۶۴). علاوه بر این، واریانت G به T (rs3134615) در ناحیه‌ی L-MYC 3'UTR، میان‌کنش بین miR-1827 و جایگاه اتصال اختصاصی‌اش روی L-MYC را مهار کرده و باعث بیشتر شدن سطح بیان L-MYC و در نتیجه افزایش خطر ابتلا به سرطان ریه سلول‌های کوچک در جمعیت مورد مطالعه می‌شود (۶۵). به علاوه، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتید در ناحیه‌ی 3'UTR ژن KRAS، قادر به تغییر عملکرد تنظیمی let-7 بوده و خطر ابتلا به سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک را در سیگاری‌ها افزایش می‌دهد (۶۶). به نظر می‌رسد برخی از این پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی اختصاصی سرطان ریه باشند. برای مثال، در افراد حامل ژنوتیپ CC در واریانت rs11614913 میکروRNAی miR-196a2 خطر ابتلا به سرطان ریه نسبت سرطان کبد<sup>۲</sup>، معده<sup>۳</sup> یا سرطان مری<sup>۴</sup> بیشتر بود (۶۴ و ۶۷). در نهایت، برخی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی مرتبط با عملکرد میکروRNAها می‌توانند به شدت بر فرآیند پردازش و انتخاب مولکول هدف موثر باشند (۶۸).

*تنظیم سطح بیان میکروRNAها: تحقیق در مورد بررسی سطح بیان میکروRNAها در سرطان ریه، از*

<sup>5</sup> Marginal Tissue

<sup>6</sup> Clinicopathologic

<sup>7</sup> Subtype

<sup>8</sup> Biomarker

<sup>9</sup> Metastasis

<sup>10</sup> Survival

<sup>11</sup> Haploinsufficient

<sup>1</sup> Homozygote variant

<sup>2</sup> Hepatocellular Carcinoma (HCC)

<sup>3</sup> Gastric cancer

<sup>4</sup> Esophagous carcinoma

تومورها مرتبط است (۷۷ و ۷۸).

## روش‌های شناسایی و اندازه‌گیری میکروRNAها

ارزیابی پروفایل بیان: چندین روش مختلف در بررسی گسترده‌ی ژنوم برای کشف، شناسایی مولکول هدف و پیش‌بینی عملکرد میکروRNAها به کار می‌روند نظیر واکنش زنجیره پلیمرز در زمان واقعی (۷۹)، میکروآرای، آنالیز سریالی بیان ژن<sup>۱</sup>، متدهای جدید توالی‌یابی<sup>۲</sup>، ایمونوپرسیپیتاسیون<sup>۳</sup> و آنالیز محاسباتی<sup>۴</sup>. برای شناسایی میکروRNAها میکروآرای بر اساس روش تیلینگ<sup>۵</sup>، نسبت به روش الیگونوکلوئوتیدی<sup>۶</sup> دارای مزایایی از جمله وابسته نبودن به تغییرات ژنی می‌باشد، اما میزان دقت این روش یک فاکتور مهارکننده می‌باشد. کتابخانه‌های آنالیز سریالی بیان ژن بطور کلی برای ارزیابی سطح رونویسی ژن‌های کدکننده پروتئین استفاده می‌شوند (۸۰). در سال ۲۰۱۱ Gibb و همکاران، کتابخانه‌های آنالیز سریالی بیان ژن را از بافت تومور و بافت سالم، نظیر پستان، مغز و ریه تهیه و حدود ۹۰ میکروRNA غیر کدکننده را که به طور اختصاصی در تومور ریه نسبت به بافت ریه‌ی سالم دچار تغییر بیان می‌شوند، شناسایی کردند (۸۱). رویکردهای جدید توالی‌یابی<sup>۷</sup>، شناسایی میکروRNAها و سایر RNAهای کوچک را که به دلیل دقت کم روش‌های رایج توالی‌یابی پیشین، گزارش نشده بودند، ممکن ساخت (۸۲). برای مثال، در سال ۲۰۱۰ میری و همکاران ۷ میکروRNAهای جدید اختصاصی تومور ریه را شناسایی کردند که رشته‌ی \*mir-663 یکی از آنها بود (۸۲). به عبارت دیگر برای شناسایی میکروRNAهای جدید، روش توالی‌یابی عمیق<sup>۸</sup>، ابزار قدرتمندی برای ارزیابی سطح بیان و تشخیص تغییرات توالی‌های میکروRNAها محسوب می‌شد. روش توالی‌یابی، نسبت به میکروآرای مزایای قابل توجهی دارد. توانایی تشخیص سطوح بیانی

میکروRNAها به صورت کامل، که امکان مقایسه را در طی آزمایش‌ها فراهم می‌سازد، از جمله مزایای مهم این روش می‌باشد. به علاوه، روش‌های توالی‌یابی مبنی بر هیبریداسیون‌های مصنوعی<sup>۹</sup> در آزمایش‌های میکروآرای، متاثر نمی‌شوند. در کل، برای ارزیابی رونویسی مولکول‌های هدف نه چندان شناخته شده و شناسایی میزان افزایش سطح بیان mRNAهای مختلف که به طور قابل توجهی توسط میکروRNAها تنظیم می‌شوند، ایمونوپرسیپیتاسیون، تکمیل کننده‌ی آنالیز بیانی میکروآرای و روش‌های توالی‌یابی می‌باشد (۸۰ و ۸۳).

پیش‌بینی محاسباتی: چندین دیدگاه محاسباتی براساس ویژگی‌های ساختاری RNAهای غیر کدکننده، به منظور پیش‌بینی توالی‌های غیر کدکننده و mRNAهای هدفشان، طراحی شده‌اند (۸۰ و ۸۴). ساختار دوم به عنوان یکی از شاخص‌های مهم در پیش‌بینی RNAهای غیر کدکننده می‌باشد. اکثر نرم افزارهای شناساگر و الگوریتم‌ها، براساس ساختار سنجاق‌سری فرم‌های پیش‌ساز میکروRNAها طراحی شده‌اند (۸۵ و ۸۶). اخیراً، دیدگاه‌های مختلفی در زمینه‌ی تحقیقات روی میکروRNAها شامل پیش‌بینی ساختار دوم، مقایسه و شناسایی‌شان، ایجاد شده است (۸۷). روش‌های محاسبه‌ای در ابتدا بر روی شکل‌گیری فضایی<sup>۱۰</sup> و پیش‌بینی ساختارهای دوم تمرکز می‌کنند، البته با این فرض که مولکول RNA با صرف حداقل انرژی، شکل‌گیری فضایی یابد. برای مثال، RNAهای بلند غیر کدکننده<sup>۱۱</sup>، می‌توانند دارای نواحی ساختاری باشند؛ به هر حال، آنها در کل ساختارهای چندان متراکمی نیستند. در این زمینه، صحت از طریق آنالیز محاسباتی براساس تغییرات مشهود جفت بازهای موجود انجام می‌شود. در بین سایر روش‌ها، تحقیق روی RNAهای غیر کدکننده، بیشتر از طریق بررسی شباهت‌های توالی و ساختاری و نیز هم‌ترازی توالی‌های هدف انجام می‌گیرد (۸۸).

سایر روش‌های محاسباتی برای شناسایی RNAهای غیر کدکننده و مولکول‌هایی که با این RNAها

<sup>1</sup> Serial Analysis of Gene Expression (SAGE)

<sup>2</sup> Next-generation Sequencing (NGS)

<sup>3</sup> Immunoprecipitation (IP)

<sup>4</sup> Computational Analysis

<sup>5</sup> Tiling Path Arrays (TPA)

<sup>6</sup> Oligonucleotide-based Arrays

<sup>7</sup> Sequencing

<sup>8</sup> Deep Sequencing

فلوریمتری<sup>۶</sup> و نیز حسگرهای زیستی<sup>۷</sup> نوید بخش شناسایی میکروRNAها در غلظت‌های بسیار پایین‌تر و در زمان کوتاه‌تر در مقایسه با روش‌های رایج می‌باشد. مطالعات مروری که توسط شیرولیلو و همکاران در سال‌های ۲۰۱۹ و ۲۰۲۰ انجام گرفت نشان داد که ترکیب تکنولوژی نانو با رویکردهای سلولی و مولکولی می‌تواند نویدبخش ظهور روش‌های جدید برا ارزیابی میکروRNAها با ویژگی<sup>۸</sup> بالا و حد تشخیص<sup>۹</sup> قابل توجه باشد (۹۶ و ۹۷).

### کاربردهای بالینی میکروRNAها

پیشرفت‌های اخیر در دانسته‌های ما در مورد مکانیسم‌های اختلال بیان RNAهای غیر کدکننده از جمله میکروRNAها در سرطان ریه و سایر انواع بدخیمی‌ها، می‌تواند به طور قابل توجهی در سطح بالین استفاده شود. میکروRNAهای افزایش بیان یافته و پلی مورفیسیم‌های تک نوکلئوتیدی ایجاد شده در توالی میکروRNAها یا در توالی mRNAهای هدف می‌تواند به عنوان مارکر زیستی، ارزش تشخیصی داشته باشند. در زمینه‌ی درمان نیز، RNAهای غیر کدکننده‌ای که از طریق متیلاسیون غیرفعال شده‌اند می‌توانند توسط عوامل دمتیله کننده بطور قابل توجهی فعال شوند. میکروRNAهای موجود در بافت‌های پارافینی و مایعات بدن نظیر گردش خون و خلط، می‌توانند حفاظت شده و در تشخیص بافت‌های بدخیم اولیه و متاستاز یافته، تمایز انواع سرطان ریه و پیش‌گویی نتایج پاسخ به درمان، استفاده شوند (۹۸). طول کم میکروRNAها و همچنین بسته بندیشان در داخل وزیکول‌ها<sup>۱۰</sup>، باعث مقاومت آن‌ها به فرآیند تجزیه شده و کاربردشان به عنوان مارکرهای زیستی قابل توجه شده است (۹۹).

میکروRNAها به عنوان مارکرهای زیستی تشخیصی: مطالعات زیادی در مورد میکروRNAهایی که قادر به تمایز افراد مبتلا به سرطان ریه از افراد سالم هستند، انجام شده است. در سال ۲۰۱۰ یو و همکاران، ۴

میان‌کنش دارند، براساس شناسایی موتیف‌های<sup>۱</sup> حفاظت شده‌ی کوتاه در ناحیه‌ی ۳'UTR ژن‌های کدکننده‌ی پروتئین، به عنوان توالی‌های هدف قوی آن‌ها، می‌باشند. در این زمینه، تحقیقات برای یافت توالی‌های حفاظت شده‌ی مکمل این موتیف‌ها انجام می‌گیرد (۸۹). برنامه‌های مبتنی بر این ویژگی‌ها نظیر Pictar، TargetScan و MiRanda برای پیش‌بینی عملکرد میکروRNAها و mRNAهای هدف باعث بوجود آمدن چندین پایگاه اطلاعاتی<sup>۲</sup> برای RNAهای غیر کدکننده شده است (۹۰ و ۹۱).

اندازه‌گیری سطح بیان در آرشیو بافت‌های توموری: نمونه‌های فیکس شده در فرمالین و قالب‌گیری شده در پارافین<sup>۳</sup>، رایج‌ترین نمونه‌های بالینی موجود برای آنالیز بافت‌شناسی و پاتولوژیکی بوده و در نتیجه منبع وسیعی از نمونه برای شناسایی مارکرهای مولکولی جدید را به عنوان اهداف درمانی ارائه می‌دهند (۹۲). این بافت‌ها به دلیل دارا بودن قطعات اسید نوکلئیک و ریبونوکلئیکه اغلب تجزیه می‌شوند، برای آنالیزهای اسیدنوکلئیک به خصوص مطالعات بیان ژن مورد توجه قرار گرفته‌اند (۹۳). بهرحال، اندازه‌ی کوچک میکروRNAها، باعث کاهش تجزیه‌ی آن‌ها از طریق فیکس کردن شده و در نمونه‌های پارافینی حفاظت می‌شوند (۹۴). علاوه بر این مطالعات نشان می‌دهند که تفاوت قابل توجهی در بیان میکروRNAها در بافت‌های پارافینی و نمونه‌های تازه منجمد شده<sup>۴</sup> وجود ندارد. بنابراین نمونه‌های تازه منجمد شده نیز برای آنالیز بیان میکروRNAها مناسب می‌باشند (۹۵). روش‌های رایج برای تعیین میزان بیان میکروRNAهای به دست آمده از نمونه‌های پارافینی شامل واکنش زنجیره پلیمرز در زمان واقعی<sup>۵</sup>، و میکروآرای می‌باشند (۹۰ و ۹۲).

در سال‌های اخیر رویکردهای نانو تکنولوژی در شناسایی و ارزیابی مارکرهای زیستی در شرایط پاتولوژیک مورد توجه قرار گرفته‌اند. تکامل انواع روش‌های مبتنی بر نانو مواد از جمله رویکردهای

<sup>6</sup> Fluorimetric methodologies

<sup>7</sup> Nanobiosensor

<sup>8</sup> Specificity

<sup>9</sup> Limit of Detection (LOD)

<sup>10</sup> Vesicle

<sup>1</sup> Motif

<sup>2</sup> Database

<sup>3</sup> Formalin-fixed Paraffin-embedded (FFPE)

<sup>4</sup> Fresh Frozen (FF)

<sup>5</sup> Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR)

بررسی کردند (۱۰۵). نتایج این مطالعات نشان داد که میکروRNAهای مایعات بدن می‌توانند به عنوان مارکرهای زیستی با حساسیت و ویژگی بالا در شناسایی زودرس بیماران مبتلا به سرطان ریه مطرح شوند (۵ و ۱۰۶). در سال ۲۰۱۷، خوش میرصفا و همکاران بیان کردند که میکروRNAهای مایعات بدن نظیر بزاق، ادرار و سرم به علت پایداری و در دسترس بودن از طریق روش‌های غیرتهاجمی و با حساسیت قابل توجه می‌توانند به عنوان بیومارکرهای ارزشمندی برای غربالگری، تشخیص و درمان انواع بدخیمی‌ها مطرح شوند (۱۰۵).

به طور مشابهی، انواع مختلف سرطان ریه با دقت بالایی بر اساس الگوی بیان میکروRNAها طبقه بندی می‌شوند. برای مثال، miR-205 در کارسینومای سلول‌های سنگفرشی ریوی، یک مارکر با اختصاصیت بالا بوده و قادر به تمایز کارسینومای سلول‌های سنگفرشی از انواع دیگر سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک، با حساسیت و ویژگی بالا می‌باشد (۱۰۷). به علاوه، انواع سرطان ریه، از روی الگوی بیان میکروRNAها به گروه‌های کوچکتری با ژنوتیپ اختصاصی تر می‌توانند تقسیم شوند. در آدنوکارسینومای ریوی، miR-155 به طور انحصاری در تومورهای فاقد جهش‌های KRAS و EGFR، افزایش بیان می‌یابد. در مقابل، بیان miR-25 و miR-21 در تومورهای دارای جهش EGFR افزایش پیدا کرده و در بافت ریه‌ی افراد غیر سیگاری مبتلا به سرطان ریه یافت می‌شود، در حالی که، تومورهای با جهش KRAS با افزایش بیان miR-495 مرتبطاند (۱۰۸ و ۱۰۹).

میکروRNAها به عنوان مارکرهای زیستی پیش‌آگهی: اخیراً پروفایل ژنوم در سرطان ریه سلول‌های کوچک برای پیش‌بینی بهتر پیش‌آگهی بیماران در مراحل ابتدایی بیماری مورد بررسی قرار گرفته است. از آنجایی که، در سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک میزان عود تومور بعد از درمان به طور قابل توجهی بالا می‌باشد، بنابراین نیاز به شناسایی مارکرهای شاخص برای مدیریت بهتر استراتژی درمانی احساس می‌شود (۱۱۰). اخیراً مطالعات زیادی در راستای شناسایی میکروRNAها برای پیش‌بینی بهتر و پیش‌آگهی دقیق‌تر بیماران انجام گرفته است. بر طبق یافته‌ها،

میکروRNAی شاخص (miR-21، miR-486، miR-375 و miR-200b) را در خلط شناسایی کردند که قادر به افتراق بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم از افراد سالم، با حساسیت ۸۰/۶ و ویژگی ۹۱/۷ می‌شد (۱۰۰). در مطالعه‌ی دیگری، ۵ میکروRNAی شاخص (miR-210، miR-182، miR-30a، miR-486-5p و miR-140-3p) افتراق دهنده‌ی کارسینومای سلول‌های فلسی از افراد سالم، گزارش شدند (۱۰۱).

تلاش‌ها برای بهبود روش‌های تشخیص زودرس ادامه داشت و بیشتر آنالیز سطوح میکروRNAهای خون را دربر می‌گرفت. در سال ۲۰۰۸، چن و همکاران با استفاده از روش توالی‌یابی Solexa، miR-25 و miR-223 را که در سرم بیان بالایی داشتند کشف کردند. این دو میکروRNA می‌توانستند به عنوان مارکر زیستی در تشخیص سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک در مراحل ابتدایی به کار روند (۱۰۲). در سال ۲۰۱۱ فوس و همکارانش توانستند miR-1254 و miR-574-5p را در سرم بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک در مراحل ابتدایی، نسبت به افراد سالم با حساسیت ۸۲٪ و ویژگی ۷۷٪، شناسایی کنند (۱۰۳). تشخیص زودرس<sup>۱</sup> با کاربرد روش‌های تصویربرداری بهبود یافت اما همچنان میزان نتایج مثبت کاذب به طور قابل توجهی بالا بود. در سال ۲۰۱۱، شن و همکاران، دریافتند که میکروRNAهای پلاسما قادر به تمایز بین تومورهای بدخیم ریه و ندول‌های خوش خیم می‌باشند (۱۰۴). بیان میکروRNAها در انواع دیگر نمونه‌های مایعات بدن نیز مورد ارزیابی گرفت. مطالعه‌ی مروری که در سال ۲۰۱۶ توسط شیرولیلو و همکاران انجام گرفت نشان داد که میکروRNAهای استخراج شده از خلط<sup>۲</sup> می‌توانند به عنوان مارکرهای قابل توجه در شناسایی زودرس بیماران مبتلا به سرطان ریه و بواسطه‌ی روش‌های غیرتهاجمی پیشنهاد شوند (۱۱). مطالعات دیگری توسط همین تیم در سال‌های ۲۰۱۷ و ۲۰۱۹ انجام گرفت. در این پژوهش محققین بیان miR-10b، miR-1 و miR-30a را در نمونه‌های خون، خلط و لاواژ<sup>۳</sup> بیماران مبتلا به سرطان ریه و افراد سالم

<sup>1</sup> Early detection

<sup>2</sup> Sputum

<sup>3</sup> Bronchoalveolar Lavage (BAL)

سطح میکروRNAها در دستکاری کردن بیولوژی تومور موثر بوده و در نتیجه می‌تواند بر نتیجه‌ی بیماری موثر باشد. به طوری که سیاست‌های درمانی زیادی در زمینه‌ی دستکاری میکروRNAها در حال بررسی می‌باشند. آنتاگومیرها<sup>۵</sup>، توالی‌های آنتی‌سنس<sup>۶</sup> میکروRNAها مهارکننده‌ی این مولکول‌ها می‌باشند (۱۱۶). کاهش سطح میکروRNAهای خاصی توسط آنتاگومیرها، در مدل‌های حیوانی، باعث افزایش سطح و فعالیت mRNAهای هدف این مولکول‌ها می‌شود (۱۱۷). در سال ۲۰۰۶ حسین و همکاران نشان دادند که در شرایط آزمایشگاهی بیان miR-17-5p باعث کاهش ترجمه‌ی AIB1 mRNA به پروتئین AIB1 می‌شود (۱۱۸).

میکروRNAهای مهارکننده‌ی متاستاز: اکثر بیماران سرطان ریه معمولاً در مراحل پیشرفته‌ی بیماری شناسایی می‌شوند و درمان خاصی در این مرحله موثر نمی‌باشد. به علاوه، بیماری‌هایی که در مراحل ابتدایی تشخیص داده می‌شوند و همچنین بیماران مراحل پیشرفته با تومور لوکالیزه، که تحت جراحی قرار می‌گیرند، اغلب دچار فرآیند متاستاز می‌شوند. بعد از جراحی، میزان عود بیماری با متاستاز به نقاط دیگر بدن، حدود ۴۰-۱۵٪ در بیماران مراحل ابتدایی و ۶۰٪ در بیماران مراحل پیشرفته می‌باشد (۱۱۹). از طرفی شیمی درمانی و ادجوانتها<sup>۷</sup> نیز کمتر بر بهبود بقای بیماران موثر می‌باشند. بنابراین درمانی که بر متاستاز موثر باشد ارزش بالینی بالایی دارد. طبق آخرین مطالعات، مدارک جدیدی مبنی بر دستکاری میکروRNAها و مهار متاستاز وجود دارد (۱۲۰). بیان Let-7، باعث مهار رشد رده‌ی سلولی توموری ریه و کاهش بار تومور می‌شود. در حالی که سیستم هدایت و تحویل<sup>۸</sup> miR-34 با کمک لیپیدها، باعث مهار رشد تومور در مدل‌های موشی و کاهش بیان مهارکننده‌های پروتئین‌های آپوپتوزی، در تومورهای ریوی مهاجم می‌شود (۱۲۱). اخیراً، محققان دریافتند که miR-145 باعث مهار تکثیر سلولی، از طریق کاهش بیان c-myc در تومورهای دارای جهش EGFR (۱۲۲) و miR-200c

miR-21 در شمار زیادی از سرطان‌های انسان از جمله سرطان ریه افزایش بیان می‌یابد، در این سرطان به عنوان یک فاکتور مستقل پیش‌آگهی منفی برای بقای بیماران بوده و باعث تحریک رشد و تهاجم از طریق مهار PTEN می‌شود (۱۱۱). اخیراً، ساتیو و همکاران نشان دادند که افزایش بیان miR-21 با پیشرفت بیماری در مرحله‌ی اول<sup>۱</sup> سرطان ریه ارتباط دارد (۱۱۲). کلاستر میکروRNAهای فعال‌کننده‌ی ژن MYC، مانند miR-17-92 به عنوان آنکوژن قوی در لنفوم سلول‌های B بوده و همچنین نقش مهمی در تکامل ریه دارند. اعضای این کلاستر در دوره‌ی جنینی بیان بالایی داشته و بعد از تولد و با افزایش سن، بیانشان کاهش می‌یابد. افزایش بیان این کلاستر با تغییرات لوکوس ژن رتینوبلاستوما<sup>۲</sup> و افزایش فرآیند رگزایی<sup>۳</sup> تومور، از طریق مهار فعالیت فاکتور ترومبواسپوندین-۱<sup>۴</sup> مرتبط می‌باشد (۱۱۳). هو و همکاران<sup>۴</sup> میکروRNA را شناسایی کردند که به طور قابل توجهی با بقای بیماران مبتلا به سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک مرتبط بودند. میکروRNAهای به دست آمده از نمونه‌ی سرم، نشانگر پایداری این مولکول‌ها در خون و کاربردشان بعنوان مارکرهای زیستی غیرتهاجمی بود (۱۱۴). به علاوه، میکروRNAهای شاخص که نشانگر عود بیماری در مرحله‌ی اول در بیماران سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک و بیماران آدنوکارسینوما بودند، به ترتیب، به تعداد ۳۴ و ۲۷ مورد شناسایی شدند (۱۱۵).

میکروRNAها به عنوان اهداف درمانی: میکروRNAها تقریباً در اکثر فرآیندهای تومورزایی ریه از تکامل تومور گرفته تا متاستاز و مقاومت به دارو، بدون در نظر گرفتن پتانسیل درمانی‌شان نقش دارند. تاثیر چشمگیر میکروRNAها در تنظیم مسیرهای سیگنالینگ آنکوژن‌ها و ژن‌های مهارگر تومور، باعث شده است که این مولکول‌ها به عنوان اهداف مهمی برای درمان سرطان ریه مورد توجه قرار گیرند. افزایش و کاهش

<sup>1</sup> Stage I

<sup>2</sup> Retinoblastoma (RB) gene

<sup>3</sup> Angiogenesis

<sup>4</sup> Thrombospondin-1 (TSP-1): A trombostatic factor that suppress the tumor growth by inhibition of neovascularization

افزایش بیان می‌شد. مکانیسم پیشنهادی تنظیم کاهشی ERCC1 توسط miR-138 بود (۱۲۶). زانگ و همکاران در سال ۲۰۱۲ نقش میکروRNAها را در رده‌ی سلولی A549 مقاوم به Cisplatin بررسی کردند و دریافتند که ترانسفکت<sup>۴</sup> سلول‌های مقاوم به Cisplatin با miR-513a-3p، باعث افزایش حساسیت سلول‌ها به این دارو می‌شود. در واقع miR-513a-3p باعث تنظیم کاهشی ژن GSTP1 می‌شد. این ژن کدکننده‌ی آنزیمی است که عامل تشدید کننده‌ی مقاومت به Cisplatin بود (۱۲۷).

همچنین، طبق تحقیقات اخیر بیان میکروRNAها در حساسیت و مقاومت به دارو نقش قابل توجهی دارد. حساسیت به Cisplatin با افزایش بیان miR-181a مرتبط است و مقاومت به آن از طریق افزایش بیان miR-630 ایجاد می‌شود (۱۲۸). پاسخ بهتر و بقای بیشتر بدنال درمان با Gefitinib با عدم بیان یا مهار بیان miR-128b ارتباط دارد (۹۷). در حالی که افزایش بیان miR-137، miR-134 و Let-7a، حساسیت به دارو را در شماری از داروهای ضد سرطان افزایش می‌دهد (۱۲۹). اخیراً مطالعه‌ای در زمینه‌ی درمان هدفمند<sup>۵</sup> سرطان ریه توسط فکری و همکاران انجام شد. محققین در این مطالعه از نانوذرات آهن مدیفای شده با PLGA و PEG که حاوی siRNAها بودند برای هدایت و تحویل اختصاصی siRNAهای مهارکننده‌ی زیرواحد کاتالیتیک آنزیم تلومراز<sup>۶</sup> سلول‌های سرطانی استفاده شد. نتایج حاکی از این بود که بیان ژن تلومراز در سلول‌های سرطانی دریافت کننده‌ی نانوذرات نسبت به سلول‌های سرطانی دیگر که فقط حاوی siRNA آزاد بودند کاهش یافته بود (۱۳۰). مطالعه‌ی مشابه دیگری نیز توسط نجاتی و همکاران انجام گرفت. در این مطالعه از نانوذرات آهن با PLGA<sup>۷</sup> و PEG<sup>۸</sup> که حاوی داروی Cisplatin بودند برای درمان سلول‌های سرطانی ریه استفاده شد. نتایج حاصله نشان داد که اثرات شیمی درمانی Cisplatin آزاد در سلول‌های سرطانی با کاربرد نانوذرات محتوی این دارو و نیز هدایت و تحویل

باعث از بین رفتن توانایی آدنوکارسینومای مهاجم در انتقال اپیتلیال-مزانشیمال، تهاجم و متاستاز می‌شود. طبق این یافته‌ها، القای بیان miR-145 و miR-200 می‌تواند به عنوان عوامل درمانی جدید در سرطان ریه به کار رود (۱۲۳). در شرایط آزمایشگاهی، بیان miR-29 اثرات ضد تهاجمی و ضد تکثیر در سلول‌های سرطانی ریه از طریق بازسازی الگوهای نرمال متیلاسیون DNA داشته و بیانگر نقش قابل توجه میکروRNAها به عنوان عوامل دمتیلاسیون جدید می‌باشد (۱۲۴ و ۵۷). در سال ۲۰۱۰ ما و همکاران نشان دادند که miR-9 از طریق کاهش بیان کاده‌رین<sup>۱</sup> باعث افزایش متاستاز می‌شود. با مطالعه بر روی مدل‌های موشی سرطان پستان، تحقیقات انجام شده نشان داد که تنظیم کاهشی<sup>۲</sup> miR-9 باعث کاهش تهاجم ریوی شده و اندازه‌ی تومورهای ریوی بدون تغییر باقی می‌ماند (۱۲۵).

میکروRNAهای غلبه کننده بر مقاومت به شیمی درمانی: علیرغم سنتز داروهای جدید برای بیماران با ویژگی مولکولی خاص، نظیر Gefitinib و Erlotinib برای تومورهای با جهش EGFR و همچنین Crizotinib برای تومورهای با نوترکیبی EML4-ALK، اکثر بیماران سرطان ریه با شیمی درمانی مبتنی بر پلاتین<sup>۳</sup> تحت درمان قرار می‌گیرند. Cisplatin و Carboplatin، اساس اکثر ادجوانت‌ها و رژیم درمانی‌های چندگانه را تشکیل می‌دهند. مقاومت به Platin یک مشکل بالینی مهم است که باعث شکست درمان و ادامه‌ی پیشرفت بیماری در بسیاری از بیماران می‌شود. با اینکه مکانیسم‌های مقاومت به پلاتین هنوز بخوبی شناخته نشده‌اند ولی احتمال می‌رود که میکروRNAهای خاصی، ژن‌های دخیل در مقاومت به این داروها را تنظیم می‌کنند. Wang و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان تغییر یافته‌ی ۱۴ میکروRNA را در سلول‌های سرطان ریه‌ی مقاوم به Cisplatin در رده‌ی سلولی A549 در مقایسه با سلول‌های حساس به Cisplatin گزارش کردند. سلول‌ها زمانی به Cisplatin حساسیت بالایی نشان می‌دادند که miR-138 دچار

<sup>4</sup> Transfect

<sup>5</sup> target Therapy

<sup>6</sup> Telomerase

<sup>7</sup> Poly (Lactic-co-glycolic Acid) (PLGA)

<sup>8</sup> Polyethylene Glycol (PEG)

<sup>1</sup> E-cadherin (E-cad)

<sup>2</sup> Knock down

<sup>3</sup> Platin-based

بهرحال این روش‌های جدید با احتمال تأثیرات منفی بر روی بافت‌های سالم همراه‌اند. توانایی هدایت و تحویل اختصاصی RNAهای درمانی بطور اختصاصی به محل مورد نظر، این مشکل را حل کرده و در یک مدل موشی ملانومای متاستاز یافته به ریه به اثبات رسید (۱۳۹). چی و همکاران نانوذرات لیپوزوم-پلی کاتیون-هیالورونیک اسیدی اصلاح شده با آنتی‌بادی‌های ضد توموری را برای هدایت و تحویل اختصاصی siRNA و miRNA به متاستازهای ریوی طراحی کردند که باعث کاهش رشد و تهاجم تومور شد. اخیراً کاربرد چندین الگوریتم پیش‌بینی کننده‌ی مولکول هدف، باعث بهبود حساسیت روش‌های مذکور شده است، اما نتایج مثبت کاذب همچنان به عنوان مشکل مهمی باقی می‌ماند و نیازمند فیلتر کردن و اعتباریابی آزمایشی است. روش‌های جدید نظیر توالی یابی با توان بالا<sup>۱۰</sup> در بررسی RNAهای ایزوله شده از طریق ارتباط متقابل با ایمونوپرسیپیتاسیون، برای شناسایی میان‌کنش‌های کمپلکس RISC-miRNA با mRNAی هدف ضروری می‌باشد (۱۴۰). علی رغم وجود فاکتورهای پیچیده‌ی زیاد، میکروRNAها به حوزه‌ی بالین وارد شده‌اند. آزمایش‌های بالینی در حال حاضر در جهت بررسی کارایی Let-7 برای معرفی مجدد به مدل‌های موشی سرطان ریه سلول‌های غیر کوچک انجام می‌گیرد. در حالی که، تکنولوژی‌های آنتاگونیست miR-122 برای درمان هپاتیت C، در فاز دوم آزمایش‌های بالینی می‌باشند (۱۴۱).

### نتیجه گیری

با توجه به مرور جامعی که در این مطالعه انجام شد، میکروRNAها می‌توانند به عنوان بخش مهمی از مکانیسم‌های چندگانه‌ی تنظیم بیان ژن مورد توجه قرار گیرند. به عبارت دیگر میکروRNAها نه تنها قادر به هدف‌گیری مولکول‌های خاص می‌باشند بلکه می‌توانند خود نیز به عنوان هدف قرار گیرند. در نتیجه تغییرات معنادار در میزان بیان و عملکرد این مولکول‌ها می‌تواند باعث ایجاد انواع بدخیمی از جمله سرطان ریه شود. به احتمال زیاد کشف و شناسایی میکروRNAها سناریوی ژنتیک سرطان ریه را متاثر می‌سازد.

<sup>10</sup> High throughput sequencing

اختصاصی آن بهبود می‌یابد (۱۳۱).

میکروRNAهای مؤثر بر پرتو درمانی<sup>۱</sup>: پرتو درمانی از جمله روش‌های درمانی مهم در سرطان ریه می‌باشد. در بیماری‌های پیشرفته‌ی لوکالیزه، این روش با شیمی‌درمانی<sup>۲</sup> و در صورت ضرورت با جراحی<sup>۳</sup> ترکیب می‌شود. در بیماران سرطان ریه که در مراحل پیشرفته‌ی بیماری تشخیص داده می‌شوند، درمان متاستازهای علامت‌دار یا شکایات مربوط به تومورهای اولیه‌ی لوکالیزه نظیر سندرم سیاهرگ بزرگ اجوف فوقانی<sup>۴</sup>، اهمیت زیادی دارد. به علاوه، پاسخ به پرتو درمانی هتروژن<sup>۵</sup> است. برخی بیماران از مزایای پرتو درمانی بهره‌مند شده و بقیه دچار پیشرفت تومور و عوارض جانبی این روش می‌شوند (۱۳۲ و ۱۳۳). لنون و همکاران طی مطالعه‌ای دریافتند که بیان miR-31 در تومورهای مری در افرادی که پاسخ به پرتو درمانی نداده‌اند، افزایش می‌یابد. این گروه تنظیم بیان miR-31 را با ژن‌های تعمیرکننده‌ی DNA مرتبط دانستند (۱۳۴). ویدهاس و همکاران نیز نشان دادند که افزایش بیان let-7 در رده‌ی سلولی سرطانی ریه، حساسیت به پرتو درمانی را بهبود می‌بخشد (۱۳۵).

تعدادی از سیاست‌های درمانی رایج برای دستکاری بیان میکروRNAها در حال بررسی و آزمایش می‌باشند. این روش‌ها شامل کاربرد آنتاگومیرها، میکروRNA و مولکول‌های کوچک کاهنده‌ی بیان میکروRNA، نوکلئیک اسیدهای قفل شده<sup>۶</sup>، ترکیبات لیپیدی و وکتورهای آدنوویروسی<sup>۸</sup> برای افزایش یا بیان مجدد میکروRNAها می‌باشند (۱۳۶، ۱۳۷). البته در این زمینه نیز ابهاماتی وجود دارد. برای مثال، هدایت و تحویل اختصاصی RNAهای درمانی به محل مورد نظر، مثل تومورهای اولیه یا متاستازها، یک مشکل قابل توجه است. بسیاری از روش‌های رایج شامل افزایش نیمه عمر و پایداری اصلاحات<sup>۹</sup> شیمیایی در گردش خون و بازجذبشان توسط بافت‌ها می‌باشند (۱۳۷ و ۱۳۸).

<sup>1</sup> Radiotherapy

<sup>2</sup> Chemotherapy

<sup>3</sup> Surgery

<sup>4</sup> Superior vena cava

<sup>5</sup> Heterogene

<sup>6</sup> DNA repairing genes

<sup>7</sup> Locked Nucleic Acids (LNA)

<sup>8</sup> Adenoviral vectors

<sup>9</sup> Modification

## References

1. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*. 2007;448(7149):83-6
2. Ambros V, Bartel B, Bartel DP, Burge CB, Carrington JC, Chen X, et al. A uniform system for microRNA annotation. *RNA*. 2003;9(3):277-9.
3. <http://microrna.sanger.ac.uk/>
4. Rebecca L. Siegel, Kimberly D. Miller, Jemal A. Cancer Statistics, 2020. CA: Cancer J Clin. 2020;70:7-30
5. Sheervalilou R, Khamaneh AM, Sharifi A, Nazemiyeh M, Taghizadieh A, Ansarin K, et al. Using miR-10b, miR-1 and miR-30a expression profiles of bronchoalveolar lavage and sputum for early detection of non-small cell lung cancer. *Biomed Pharmacother*. 2017;88:1173-82
6. Herbst R, Heymach JV, Lippman SM. Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(13):1367-80
7. Wang Q, Diao Y, Xu RJMGM. Tumorigenesis and molecular therapy of lung cancer. *PUMP*. 2008; 433-525.
8. Panani AD, Roussos C. Cytogenetic and molecular aspects of lung cancer. *Cancer Lett*. 2006;239(1):1-9.
9. Wang QZ, Xu W, Habib N, Xu R. Potential uses of microRNA in lung cancer diagnosis, prognosis, and therapy. *Curr Cancer Drug Targets*. 2009;9(4):572-94.
10. Field R, Smith B, Platz C, Robinson R, Neuberger J, Brus C, et al. Lung cancer histologic type in the surveillance, epidemiology, and end results registry versus independent review. *JNCI*. 2004;96(14):1105-7.
11. Sheervalilou R, Ansarin K, Fekri Aval S, Shirvaliloo S, Pilehvar-soltanahmadi Y, Mohammadian M, et al. An update on sputum MicroRNAs in lung cancer diagnosis. *Diagn Cytopathol*. 2016;44(5): 442-9.
12. Stang A, Pohlbeln H, Müller KM, Jahn I, Giersiepen K, Jöckel K-H. Diagnostic agreement in the histopathological evaluation of lung cancer tissue in a population-based case-control study. *Lung Cancer*. 2006;52(1):29-36.
13. Herbst RS, SM L. Molecular Signatures of Lung Cancer -Toward Personalized Therapy. *N Engl J Med*. 2007;356(1):76.
14. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol*. 2007;302(1):1-12.
15. Kent O, Mendell J. A small piece in the cancer puzzle: microRNAs as tumor suppressors and oncogenes. *Oncogene*. 2006;25(46):6188-96.
16. V. Narry K, Jin-Wu N. Genomics of microRNA. *Trends Genet*. 2006;22(3):165-73.
17. Ender C, Meister G. Argonaute proteins at a glance. *J Cell Sci*. 2010;123(11):1819-23.

در دهه‌های اخیر نقش کلیدی میکروRNAها در فرآیندهای بیولوژیک به اثبات رسیده و این مولکول‌ها به عنوان مارکرهای زیستی قابل توجه در سطح بالین مورد توجه قرار گرفته‌اند. نتایج حاصل از مطالعات اخیر این موضوع را تایید می‌کند که میکروRNAها در تشخیص زودرس، پیش‌آگهی، پاسخ به درمان و بقای بیماران نقش چشمگیری دارند. علاوه بر این، این مولکول‌ها قابلیت تمایز توده‌های خوش‌خیم از تومورهای بدخیم ریه و نیز توانایی ساب تایپینگ انواع مختلف بدخیمی‌های ریه را دارند. یافته‌های حال حاضر نوید بخش پیشرفت‌های قابل توجهی در به روز رسانی و ارتقای کارایی روش‌های رایج تشخیص و درمان بیماران مبتلا به سرطان ریه بوده و در عین حال نیازمند به مطالعات کوه‌سورت در گروه‌های بزرگ تر و کارآزمایی‌های بالینی وسیع تر می‌باشد.

## رویکردهای آینده

دیدگاه‌های نوین مولکولی نه تنها می‌توانند به عنوان متدهای مکمل با روش‌های رایج تشخیص و درمان، به بهبود کیفیت زندگی بیماران کمک کنند بلکه می‌توانند به عنوان رویکردهای کاملا مستقل نیز در سطح بالین مطرح شوند. به عبارت دیگر پیشرفت هرچه بیشتر در ارزیابی مکانیسم‌های مولکولی این امکان را فراهم می‌سازد که هر فرد بر اساس الگوی بیان ژنتیکی منحصر به خودش، غربالگری، شناسایی و درمان شود. در واقع هدف نهایی رسیدن به رویکرد "پزشکی شخصی" می‌باشد. در این دیدگاه نوین الگوی بیان ژنی هر فرد در سطح "first line screening test" بررسی شده و مورد "هدف درمانی" قرار می‌گیرد. این رویکرد در کنار دیدگاه‌های جدید "Point-of-Care" و "Lab-on-Chip" کمک شایانی به کاهش آمار مبتلایان به سرطان، غربالگری و شناسایی زودرس بیماران، کارایی بهتر روش‌های درمانی و پاسخ به درمان و در نهایت ارتقای چشمگیر کیفیت زندگی و کاهش بار اقتصادی و روانی بر جامعه می‌کند.

<sup>1</sup> "Personalized Medicine"

<sup>2</sup> "Target Therapy"

18. Sheervalilou R, Shirvaliloo S, Fekri Aval S, Khamaneh AM, Sharifi A, Ansarin K, et al. A new insight on reciprocal relationship between microRNA expression and epigenetic modifications in human lung cancer. *Tumor Biol.* 2017;39(5):101042831769503.
19. Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, Bartel DP. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature.* 2010;466(7308):835-40.
20. Davis-Ryan E, Dusenbery BN, Hata A. Mechanisms of control of microRNA biogenesis. *J Biochem.* 2010;148(4):381-92.
21. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *PANS.* 2006;103(7):2257-61.
22. 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(3):189-9.
23. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat rev cancer.* 2006;6(11):857-66.
24. Volinia S, Calin GA, Liu C-G, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *PNAS USA.* 2006;103(7):2257-61.
25. <http://www.ambion.com/techlib/tn/121/4.html>.
26. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *PANS.* 2002;99(24):15524-9.
27. 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. *PANS.* 2004;101(9):2999-3004.
28. Zhang L, Huang J, Yang N, Greshock J, Megraw MS, Giannakakis A, et al. microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. *PANS.* 2006;103(24):9136-41.
29. Baskerville S, Bartel DP. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA.* 2005;11(3):241-7.
30. Ota A, Tagawa H, Karnan S, Tsuzuki S, Karpas A, Kira S, et al. Identification and characterization of a novel gene, C13orf25, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma. *Cancer Res.* 2004;64(9):3087-95.
31. Mao G, Liu Y, Fang X, Liu Y, Fang L, Lin L, et al. Tumor-derived microRNA-494 promotes angiogenesis in non-small cell lung cancer. *Angiogenesis.* 2015;18:373-82.
32. Ohdaira H, Sekiguchi M, Miyata K, K Y. MicroRNA-494 suppresses cell proliferation and induces senescence in A549 lung cancer cells. *Cell Prolif.* 2012;45:32-8.
33. Lin X, Yang Z, Zhang P, Liu Y, Shao G. miR-154 inhibits migration and invasion of human non-small cell lung cancer by targeting ZEB2. *Oncol Lett.* 2016;12(1):301-6.
34. Yuan Y, Du W, Wang Y, Xu C, Wang J, Zhang Y, et al. Suppression of AKT expression by miR-153 produced anti-tumor activity in lung cancer. *Int J Cancer.* 2015;136:1333-40.
35. Cao W, Ribeiro RO, Liu D, Saintigny P, Xia R, Xue Y, et al. EZH2 promotes malignant behaviors via cell cycle dysregulation and its mRNA level associates with prognosis of patient with non-small cell lung cancer. *PLoS One.* 2012; 7: e52984.
36. Lei YM, Zu YF, Wang J, Bai S, Shi YF, Shi R, et al. Interleukin-1beta-mediated suppression of microRNA-101 and upregulation of enhancer of zeste homolog 2 is involved in particle-induced lung cancer. *Med Oncol.* 2015;32:387.
37. Johnson CD, Esquela-Kerscher A, Stefani G, Byrom M, Kelnar K, Ovcharenko D, et al. The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells. *Cancer Res.* 2007;67:7713-122.
38. Wang X, Cao L, Wang Y, Wang X, Liu N, Y Y. Regulation of let-7 and its target oncogenes (Review). *Oncol Lett.* 2012;3(5): 955-960.
39. Halappanavar S, Nikota J, Wu D, Williams A, Yauk CL, M S. IL-1 receptor regulates microRNA-135b expression in a negative feedback mechanism during cigarette smoke-induced inflammation. *J Immunol.* 2013;190(7): 3679-86.
40. Zang YS, Zhong YF, Fang Z, Li B, J A. MiR-155 inhibits the sensitivity of lung cancer cells to cisplatin via negative regulation of Apaf-1 expression. *Cancer Gene Ther.* 2012;19: 773-8.
41. Lv X, Yao L, Zhang J, Han P, C L. Inhibition of microRNA-155 sensitizes lung cancer cells to irradiation via suppression of HK2-modulated glucose metabolism. *Mol Med Rep.* 2016;14:1332-8.
42. Takeyama Y, Sato M, Horio M, Hase T, Yoshida K, Yokoyama T, et al. Knockdown of ZEB1, a master epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) gene, suppresses anchorage-independent cell growth of lung cancer cells. *Cancer Lett.* 2010;296:216-24.
43. Tellez CS, Juri DE, Do K, Bernauer AM, Thomas CL, Damiani LA, et al. EMT and stem cell-like properties associated with miR-205 and miR-200 epigenetic silencing are early manifestations during carcinogen-induced transformation of human epithelial cells. *Cancer Res.* 2011;71:3087-97.
44. Kumamoto T, Seki N, Mataka H, Mizuno K, Kamikawaji K, Samukawa T, et al. Regulation of TPD52 by antitumor microRNA-218 suppresses cancer cell migration and invasion in lung squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2016;49:1870-80.
45. Shi ZM, Wang L, Shen H, Jiang CF, Ge X, Li

DM, et al. Downregulation of miR-218 contributes to epithelial-mesenchymal transition and tumor metastasis in lung cancer by targeting Slug/ZEB2 signaling. *Oncogene*. 2017;36:2577–88.

46. Xi S, Xu H, Shan J, Tao Y, Hong JA, Inchauste S, et al. Cigarette smoke mediates epigenetic repression of miR-487b during pulmonary carcinogenesis. *J Clin Invest*. 2013;123:1241–61.

47. Xue X, Liu Y, Wang Y, Meng M, Wang K, Zang X, et al. MiR-21 and MiR-155 promote non-small cell lung cancer progression by downregulating SOCS1, SOCS6, and PTEN. *Oncotarget*. 2016;7(51):84508.

48. He X, Chen S-y, Yang Z, Zhang J, Wang W, Liu M-y, et al. miR-4317 suppresses non-small cell lung cancer (NSCLC) by targeting fibroblast growth factor 9 (FGF9) and cyclin D2 (CCND2). *J Exp Clin Cancer Res*. 2018;37(1)230.

49. Castro D, Moreira M, Gouveia AM, Pozza DH, De Mello RA. MicroRNAs in lung cancer. *Oncotarget*. 2017;8(46):81679.

50. 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. *PANS USA*. 2004;101(9):2999-3004.

51. Osada H, Takahashi T. let-7 and miR-17-92: small-sized major players in lung cancer development. *Cancer Sci*. 2011;102(1):9-17.

52. Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res*. 2005;65(21).

53. Diederichs S, Haber DA. Sequence variations of microRNAs in human cancer: alterations in predicted secondary structure do not affect processing. *Cancer Res*. 2006;66(12):6097-104.

54. Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, Berking C, Knyazeva T, Körner H, et al. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle*. 2008;7(16):2591-600.

55. Brueckner B, Stresemann C, Kuner R, Mund C, Musch T, Meister M, et al. The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function. *Cancer Res*. 2007;67(4):1419-23.

56. Nasser MW, Datta J, Nuovo G, Kutay H, Motiwala T, Majumder S, et al. Down-regulation of micro-RNA-1 (miR-1) in lung cancer suppression of tumorigenic property of lung cancer cells and their sensitization to doxorubicin-induced apoptosis by miR-1. *J Biol Chem*. 2008;283(48):33394-405.

57. Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, Liu Z, Zaneni N, Callegari E, et al. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *PANS*. 2007;104(40):15805-10.

58. Saunders MA, Liang H, Li W-HJPotNAoS. Human polymorphism at microRNAs and microRNA target sites. *PANS*. 2007;104(9):3300-5.

59. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature*. 2000;408: 86-9 .

60. Hu Z, Shu Y, Chen Y, Chen J, Dong J, Liu Y, et al. Genetic polymorphisms in the precursor microRNA flanking region and non-small cell lung cancer survival. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(5):641-8.

61. Wu M, Jolicœur N, Li Z, Zhang L, Fortin Y, L'Abbe D, et al. Genetic variations of microRNAs in human cancer and their effects on the expression of miRNAs. *Carcinogenesis*. 2008;29(9):1710-6.

62. Mishra PJ, Mishra PJ, Banerjee D, Bertino JR. MiRSNPs or MiR-polymorphisms, new players in microRNA mediated regulation of the cell: Introducing microRNA pharmacogenomics. *Cell Cycle*. 2008;7(7):853-8.

63. Campayo M, Navarro A, Vinolas N, Tejero R, Munoz C, Diaz T, et al. A dual role for KRT81: a miR-SNP associated with recurrence in non-small-cell lung cancer and a novel marker of squamous cell lung carcinoma. *PloS one*. 2011;6(7).

64. Tian T, Shu Y, Chen J, Hu Z, Xu L, Jin G, et al. A functional genetic variant in microRNA-196a2 is associated with increased susceptibility of lung cancer in Chinese. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(4).

65. Xiong F, Wu C, Chang J, Yu D, Xu B, Yuan P, et al. Genetic variation in an miRNA-1827 binding site in MYCL1 alters susceptibility to small-cell lung cancer. *Cancer Res*. 2011;71(15):5175-81.

66. Chin LJ, Ratner E, Leng S, Zhai R, Nallur S, Babar I, et al. A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3' untranslated region increases non-small cell lung cancer risk. *Cancer Res*. 2008;68(20).

67. Chu H, Wang M, Shi D, Ma L, Zhang Z, Tong N, et al. Hsa-miR-196a2 Rs11614913 polymorphism contributes to cancer susceptibility: evidence from 15 case-control studies. *PloS one*. 2011;6(3).

68. Harfe BD. MicroRNAs in vertebrate development. *Curr Opin Genet Dev*. 2005;15(4): 410-5.

69. Du L, Schageman JJ, Girard L, Hammond SM, Minna JD, Gazdar AF, et al. MicroRNA expression distinguishes SCLC from NSCLC lung tumor cells and suggests a possible pathological relationship between SCLCs and NSCLCs. *J Exp Clin Cancer Res*. 2010;29(1):75.

70. Yu SL, Chen HY, Chang GC, Chen CY, Chen H-W, Singh S, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung cancer. *Cancer Cell*. 2008;13(1):48-57.

71. Barsyte-Lovejoy D, Lau SK, Boutros PC, Khosravi F, Jurisica I, Andrusis IL, et al. The c-Myc oncogene directly induces the H19 noncoding RNA by allele-specific binding to potentiate tumorigenesis. *Cancer Res.* 2006;66(10):5330-7.
72. Kumar MS, Lu J, Mercer KL, Golub TR, Jacks T. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis. *Nat Genet.* 2007;39(5):673-7.
73. Melo SA, Moutinho C, Ropero S, Calin GA, Rossi S, Spizzo R, et al. A genetic defect in exportin-5 traps precursor microRNAs in the nucleus of cancer cells. *Cancer Cell.* 2010;18(4):303-15.
74. Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K, et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature.* 2005;736(7051): 740-4.
75. Grobthans H, Büssing I. MicroRNA biogenesis takes another single hit from microsatellite instability. *Cancer Cell.* 2010;18(4):295-7.
76. 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(11):3753-6.
77. Melo SA, Ropero S, Moutinho C, Aaltonen LA, Yamamoto H, Calin GA, et al. A TARBP2 mutation in human cancer impairs microRNA processing and DICER1 function. *Nat Genet.* 2009;41(3):365.
78. Karube Y, Tanaka H, Osada H, Tomida S, Tatematsu Y, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of Dicer associated with poor prognosis in lung cancer patients. *Cancer Sci.* 2005;96(2): 111-5.
79. Nikfarjam A, pornour M, Sohrabi M. The expression of Hsa-miR-490 in peripheral blood circulation of patients with breast cancer. *RJMS.* 2019;26(10).
80. Wilbert ML, Yeo GW. Genome wide approaches in the study of microRNA biology. *Wires Systems Biol Med.* 2011;3(5): 491-512.
81. Gibb EA, Vucic EA, Enfield KS, Stewart GL, Lonergan KM, Kennett JY, et al. Human cancer long non-coding RNA transcriptomes. *PloS One.* 2011;6(10).
82. Meiri E, Levy A, Benjamin H, Ben-David M, Cohen L, Dov A, et al. Discovery of microRNAs and other small RNAs in solid tumors. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(18):6234-46.
83. Garnis C, Buys TP, Lam WL. Genetic alteration and gene expression modulation during cancer progression. *Mol Cancer.* 2004;3(1):9.
84. Lim LP, Lau NC, Weinstein EG, Abdelhakim A, Yekta S, Rhoades MW, et al. The microRNAs of *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev.* 2003;17(8): 991-1008.
85. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science.* 2001;294(5543):858-62.
86. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science.* 2001;294(5543): 853-8.
87. Machado-Lima A, Del Portillo HA, Durham AM. Computational methods in noncoding RNA research. *J Mathematic Biol.* 2008;56(1-2):15-49.
88. Gorodkin J, Hofacker IL. From structure prediction to genomic screens for novel non-coding RNAs. *LoS Comput Biol.* 2011;7(8).
89. Xie X, Lu J, Kulbokas E, Golub TR, Mootha V, Lindblad-Toh K, et al. Systematic discovery of regulatory motifs in human promoters and 3' UTRs by comparison of several mammals. *Nature.* 2005;434(7031):338-45.
90. Betel D, Wilson M, Gabow A, Marks DS, Sander C. The microRNA.org resource: targets and expression. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(suppl\_1):D149-D53.
91. Wang X, El Naqa IM. Prediction of both conserved and nonconserved microRNA targets in animals. *Bioinformatics.* 2008;24(3):325-32.
92. Leite KR, Canavez JM, Reis ST, Tomiyama AH, Piantino CB, Sañudo A, et al., editors. miRNA analysis of prostate cancer by quantitative real time PCR: comparison between formalin-fixed paraffin embedded and fresh-frozen tissue. *Urol Oncol-Semin Ori.* 2011: Elsevier.
93. Doleshal M, Magotra AA, Choudhury B, Cannon BD, Labourier E, Szafranska AE. Evaluation and validation of total RNA extraction methods for microRNA expression analyses in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J Mol Diagn.* 2008;10(3):203-11.
94. Klopffleisch R, Weiss A, Gruber AJH, histopathology V. Excavation of a buried treasure—DNA, mRNA, miRNA and protein analysis in formalin fixed, paraffin embedded tissues. *Histol Histopathol.* 2011.
95. Xi Y, Nakajima G, Gavin E, Morris CG, Kudo K, Hayashi K, et al. Systematic analysis of microRNA expression of RNA extracted from fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples. *RNA.* 2007;13(10):1668-74.
96. Norouzi M, Yasamineh S, Montazeri M, Dadashpour M, Sheervalilou R, Pilehvar-Soltanahmadi Y. Recent advances in nanomaterials-based fluorimetric approaches for microRNAs detection. *Mater Sci Engin C.* 2019:110007.
97. Sheervalilou R, Shahraki O, Hasanifard L, Shirvaliloo M, Mehranfar S, Lotfi H, et al. Electrochemical Nano-biosensors as Novel Approach for the Detection of Lung Cancer-related MicroRNAs. *Curr Mol Med.* 2020;20(1):13-35.
98. Hubaux R, Becker-Santos DD, Enfield KS, Lam S, Lam WL, Martinez VD. MicroRNAs as

- biomarkers for clinical features of lung cancer. *Metabolomics*. 2012;2(3):1000108.
99. Chin LJ, Slack FJ. A truth serum for cancer—microRNAs have major potential as cancer biomarkers. *Cell Res*. 2008;18(10):983-4.
100. 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(12):2870-8.
101. Tan X, Qin W, Zhang L, Hang J, Li B, Zhang C, et al. A five-microRNA signature for squamous cell lung carcinoma (SCC) diagnosis and Hsa-miR-31 for SCC prognosis. *Clin Cancer Res*. 2011.
102. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008;18(10):997-1006.
103. 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(3):482-8.
104. Shen J, Liu Z, Todd NW, Zhang H, Liao J, Yu L, et al. Diagnosis of lung cancer in individuals with solitary pulmonary nodules by plasma microRNA biomarkers. *BMC Cancer*. 2011;11(1):374.
105. Khoshmirsafa M, Seif F, Mohsenzadegan M, Najafi M, Mokhtarian K, Shekarabi M. Circulating microRNAs, valuable biomarkers in biological fluids. *RJMS*. 2017;24(160):22-36.
106. Sheervalilou R, Lotfi H, Shirvaliloo M, Sharifi A, Nazemiyeh M, Zarghami N. Circulating MiR-10b, MiR-1 and MiR-30a Expression Profiles in Lung Cancer: Possible Correlation with Clinicopathologic Characteristics and Lung Cancer Detection. *IJMCM*. 2019;8(2):118-29.
107. Lebanony D, Benjamin H, Gilad S, Ezagouri M, Dov A, Ashkenazi K, et al. Diagnostic assay based on hsa-miR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small-cell lung carcinoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(12):2030-7.
108. Dacic S, Kelly L, Shuai Y, Nikiforova MN. miRNA expression profiling of lung adenocarcinomas: correlation with mutational status. *Modern Pathol*. 2010;23(12):1577-82.
109. Seike M, Goto A, Okano T, Bowman ED, Schetter AJ, Horikawa I, et al. MiR-21 is an EGFR-regulated anti-apoptotic factor in lung cancer in never-smokers. *PANS*. 2009;106(29):12085-90.
110. Raponi M, Dossey L, Jatkoa T, Wu X, Chen G, Fan H, et al. MicroRNA classifiers for predicting prognosis of squamous cell lung cancer. *Cancer Res*. 2009;69(14):5776-83.
111. Markou A, Tsaroucha EG, Kaklamanis L, Fotinou M, Georgoulas V, Lianidou ES. Prognostic value of mature microRNA-21 and microRNA-205 overexpression in non-small cell lung cancer by quantitative real-time RT-PCR. *Clin Chem*. 2008;54(10):1696-704.
112. 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(7):1875-82.
113. Ebi H, Sato T, Sugito N, Hosono Y, Yatabe Y, Matsuyama Y, et al. Counterbalance between RB inactivation and miR-17-92 overexpression in reactive oxygen species and DNA damage induction in lung cancers. *Oncogene*. 2009;28(38):3371-9.
114. 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. *Clin Oncol*. 2010;28(10):1721-6.
115. Lu Y, Govindan R, Wang L, Liu PY, Goodgame B, Wen W, et al. MicroRNA profiling and prediction of recurrence/relapse-free survival in stage I lung cancer. *Carcinogenesis*. 2012;33(5):1046-54.
116. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature*. 2005;438(7068):685-9.
117. Elmen J, Lindow M, Silahtaroglu A, Bak M, Christensen M, Lind-Thomsen A, et al. Antagonism of microRNA-122 in mice by systemically administered LNA-antimiR leads to up-regulation of a large set of predicted target mRNAs in the liver. *Nucleic Acids Res*. 2008;36(4):1153-62.
118. Hossain A, Kuo MT, Saunders GF. Mir-17-5p regulates breast cancer cell proliferation by inhibiting translation of AIB1 mRNA. *Mol Cell Biol*. 2006;26(21):6191-201.
119. Pisters KM, Le Chevalier T. Adjuvant chemotherapy in completely resected non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(14): 3270-8.
120. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews [Internet]: Centre for Reviews and Dissemination (UK)*; 2008.
121. 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(14):5923-30.
122. Gibbons DL, Lin W, Creighton CJ, Rizvi ZH, Gregory PA, Goodall GJ, et al. Contextual extracellular cues promote tumor cell EMT and metastasis by regulating miR-200 family expression. *Genes Dev*. 2009;23(18):2140-51.
123. Chen Z, Zeng H, Guo Y, Liu P, Pan H, Deng A, et al. miRNA-145 inhibits non-small cell lung cancer cell proliferation by targeting c-Myc. *J Exp Clin Cancer Res*. 2010;29(1):151.

124. Muniyappa M, Dowling P, Henry M, Meleady P, Doolan P, Gammell P, et al. MiRNA-29a regulates the expression of numerous proteins and reduces the invasiveness and proliferation of human carcinoma cell lines. *Europ J Cancer*. 2009;45(17):3104-18.
125. Ma L, Young J, Prabhala H, Pan E, Mestdagh P, Muth D, et al. miR-9, a MYC/MYCN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis. *Nat Cell Biol*. 2010;12(3):247-56.
126. Wang Q, Zhong M, Liu W, Li J, Huang J, Zheng L. Alterations of microRNAs in cisplatin-resistant human non-small cell lung cancer cells (A549/DDP). *Exp Lung Res*. 2011;37(7):427-34.
127. Zhang X, Zhu J, Xing R, Tie Y, Fu H, Zheng X, et al. miR-513a-3p sensitizes human lung adenocarcinoma cells to chemotherapy by targeting GSTP1. *Lung Cancer*. 2012;77(3):488-94.
128. Galluzzi L, Morselli E, Vitale I, Kepp O, Senovilla L, Criollo A, et al. miR-181a and miR-630 regulate cisplatin-induced cancer cell death. *Cancer Res*. 2010;70(5):1793-803.
129. Cho WC. MicroRNAs as therapeutic targets for lung cancer. *Exp Opin Ther Targets*. 2010;14(10):1005-8.
130. Fekri Aval S, Akbarzadeh A, Yamchi MR, Zarghami F, Nejati-Koshki K, Zarghami N. Gene silencing effect of SiRNA-magnetic modified with biodegradable copolymer nanoparticles on hTERT gene expression in lung cancer cell line. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2016;44(1):188-93.
131. Nejati-Koshki K, Mesgari M, Ebrahimi E, Abbasalizadeh F, Fekri Aval S, Khandaghi AA, et al. Synthesis and in vitro study of cisplatin-loaded Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles modified with PLGA-PEG6000 copolymers in treatment of lung cancer. *J Microencapsul*. 2014;31(8):815-23.
132. Lee YS, Oh JH, Yoon S, Kwon MS, Song C-W, Kim K-H, et al. Differential gene expression profiles of radioresistant non-small-cell lung cancer cell lines established by fractionated irradiation: tumor protein p53-inducible protein 3 confers sensitivity to ionizing radiation. *Int J Rad Oncol Biology Physics*. 2010;77(3):858-66.
133. Kraus AC, Ferber I, Bachmann SO, Specht H, Wimmel A, Gross MW, et al. In vitro chemo- and radio-resistance in small cell lung cancer correlates with cell adhesion and constitutive activation of AKT and MAP kinase pathways. *Oncogene*. 2002;21(57):8683-95.
134. Lynam-Lennon N, Reynolds JV, Marignol L, Sheils OM, Pidgeon GP, Maher SG. MicroRNA-31 modulates tumour sensitivity to radiation in oesophageal adenocarcinoma. *J Mol Med*. 2012;90(12):1449-58.
135. Weidhaas JB, Babar I, Nallur SM, Trang P, Roush S, Boehm M, et al. MicroRNAs as potential agents to alter resistance to cytotoxic anticancer therapy. *Cancer Res*. 2007;67(23):11111-6.
136. Bader AG, Brown D, Winkler M. The promise of microRNA replacement therapy. *Cancer Res*. 2010;70(18):7027-30.
137. Nana-Sinkam SP, Croce CM. MicroRNAs as therapeutic targets in cancer. *Transl Res*. 2011;157(4):216-25.
138. Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9(10):775-89.
139. Castle JC, Armour CD, Löwer M, Haynor D, Biery M, Bouzek H, et al. Digital genome-wide ncRNA expression, including SnoRNAs, across 11 human tissues using polyA-neutral amplification. *PloS One*. 2010;5(7).
140. Chi SW, Zang JB, Mele A, Darnell RB. Argonaute HITS-CLIP decodes microRNA-mRNA interaction maps. *Nature*. 2009;460(7254):479-86.
141. Nunnari G, Schnell MJ. MicroRNA-122: a therapeutic target for hepatitis C virus (HCV) infection. *Front Biosci*. 2011;3:1032-7.