

MicroRNAs: 非小细胞肺癌分子诊断和靶向治疗重要的靶标

李晓雅, 苏长青

(第二军医大学东方肝胆外科医院, 国家肝癌科学中心分子肿瘤研究室, 上海 200438)



苏长青, 第二军医大学东方肝胆外科医院及国家肝癌科学中心分子肿瘤研究室主任、研究员, 教授, 医学博士, 博士研究生导师, 上海市优秀学术带头人, 国家科技重大专项抗肿瘤新药研发项目首席, 首届国家科学技术进步奖创新团队奖成员, 国际《Cancer Letters》杂志编委, 《Molecular Oncology》等 20 余家 SCI 期刊特约审稿专家, 曾在美国 Mayo Clinic 做访问学者、客座教授。主要从事肿瘤发病机制、细胞周期调控及生物靶向治疗及肺癌早期诊断等多领域的研究, 承担国家科技重大专项、国家自然科学基金项目等 10 余项研究课题。获教育部高等学校科学研究优秀成果二等奖、上海市医学科技二等奖、全军科技进步二等奖、军区后勤重大科技成果一等奖等 21 项奖项。荣立三等功 2 次, 被评为军区优秀中青年科技人才、医学科技重大贡献者和科技英才。发表论文 270 篇, 其中 SCI 论文 40 余篇, SCI 总影响因子超过 160 分。

摘要: microRNAs(miRNAs)是一类长度约为 18~22 个核苷酸、在动植物中广泛存在、高度保守的小分子非编码 RNA。非小细胞肺癌(NSCLC)与其起源的相应正常细胞之间存在 miRNAs 表达谱的差异, 不同类型或不同进展状态非小细胞肺癌之间 miRNAs 表达谱也有其特异性, 为肺癌的早期诊断和鉴别诊断提供了候选指标。利用 miRNAs 调控靶基因表达的原理, 还可以发现或设计更优化的肿瘤治疗模式。深入研究 miRNAs 在非小细胞肺癌中的作用和价值, 将为筛选 NSCLC 分子诊断指标并据此建立靶向干预策略奠定基础。

关键词: microRNAs; 非小细胞肺癌; 诊断; 治疗

中图分类号: R734.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2014)09-0720-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2014.09.A004

MicroRNAs: Key Target for Molecular Diagnosis and Treatment for Non-small Cell Lung Cancer

LI Xiao-ya, SU Chang-qing

(Department of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgical Hospital and National Center of Liver Cancer, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

Abstract: microRNAs (miRNAs) are small endogenous non-coding RNAs with length of 18~22 nucleotides which are widely existed and highly conservative in plants and animals. There are differences of miRNAs expression profiles between non-small cell lung cancer (NSCLC) and its originated normal cells. In different histological types or different development stages of NSCLC, there is also the existence of miRNAs expressing specificity, which provides the candidate tumor markers for early diagnosis and differentiated diagnosis of lung cancer. Based on the regulatory principle of miRNAs on target genes, the optimized strategy of cancer therapy may be discovered or designed. Further study on effect and value of miRNAs in NSCLC may lay the foundation for screening of NSCLC molecular diagnostic indices and accordingly establishment of targeted intervention strategy.

Key words: microRNAs; non-small cell lung cancer; diagnosis; cancer therapy

收稿日期: 2014-04-25

基金项目: 国家重大科技专项新药创制(2014ZX09101003); 国家自然科学基金项目(81370552);

上海市优秀学术带头人计划(13XD1400300)

通讯作者: 苏长青, E-mail: suchangqing@gmail.com

随着临床医学、分子生物学、药学的发展,肺癌诊断及治疗方法不断改进,但是肺癌的5年生存率仍然很低,其很重要的原因是没有特异的、敏感的早期诊断指标以及缺乏有效的治疗性分子靶标,这成为改善肺癌患者预后的重要障碍。近3年来,关于MicroRNAs(miRNAs)对肺癌细胞发生发展的调控作用及其在肺癌诊断治疗中的重要作用受到人们的关注。PubMed数据库2010年以来(截至2013年10月20日),有关肺癌miRNAs的研究性论文及综述达814篇。研究表明miRNAs参与肺癌发生、发展的整个过程,包括肿瘤细胞的起源、侵袭及转移^[1-4]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌的主要类型,也是与miRNAs关系最为密切的类型。本文结合国内外最新研究成果通过分析miRNAs作用机制、对NSCLC诊断及治疗的价值等,全面阐述miRNAs在NSCLC诊断治疗中所发挥的重要作用和临床应用前景。

1 miRNAs 来源及作用机制

miRNAs是一类长度为18~22个核苷酸、高度保守的小分子非编码RNA,广泛存在于真核细胞中。1993年Lee等^[5]首先在线虫体内发现一种miRNA,命名为lin-4,是一种不编码蛋白质、可以生成一对微小RNA的转录本,每个转录本可在翻译水平通过抑制核蛋白的表达调节线虫的发育。2000年,Reinhart等^[6]又发现了第2个类似的非编码RNA,即let-7,同样可以调节线虫的发育进程。后来,在多种真核生物中陆续发现了大量类似的小分子RNA。

随着研究深入,人们发现miRNAs基因在细胞核内由RNA转录酶作用生成miRNAs转录前体(pri-miRNAs),然后pri-miRNAs在RNA聚合酶Ⅲ作用下,剪切生成约70个核苷酸长度的miRNAs前体(pre-miRNAs)^[7]。之后,pre-miRNA被转运由细胞核进入细胞质,经过DICER酶加工,生成约18~22个核苷酸的单链RNA分子,即成熟的miRNAs。miRNAs选择性地与RNA介导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)特异结合,形成RISC复合物,发挥生物学功能^[8,9]。成熟的miRNAs可与其他蛋白质一起组成RISC复合体,通过核酸序列互补结合于靶基因mRNAs,发挥抑制靶基因

mRNA翻译或降解靶基因mRNA的作用,从而发挥其对靶基因的转录后调节效应。

2 miRNAs 与肿瘤的关系

目前,动物、植物、微生物体内发现的miRNAs越来越多,研究也越来越深入,但对其生物功能和作用机制的了解还远远不够,许多未解之谜仍有待发掘。截至2013年10月20日,在miRBase数据库(<http://www.mirbase.org>; Release 20: June 2013)中登记的miRNAs已达24 521种。这些miRNAs广泛参与生物体生命过程中的许多重要进程,包括个体发育、器官形成以及细胞增殖、分化、凋亡等,同时也参与肿瘤的发生发展和侵袭转移。miRNAs与肿瘤相关的研究最早源于慢性淋巴细胞白血病中染色体13q14的缺失。深入研究发现,在肺癌、大肠癌、脑瘤、乳腺癌、肝癌、白血病等多种肿瘤中均发现特异性miRNAs的高表达,这些miRNAs被视作一类癌基因(oncomiRs)。例如,miR-155在肺癌中表达上调可预示患者治疗后难以缓解^[10]。相反,肿瘤细胞中某些miRNAs表达下调甚至缺失,也可能导致肿瘤,这类miRNAs可视为抑癌基因(oncosuppressor miRNAs)。如miR-34家族(包括miR-34a、miR-34b和miR-34c)在多种肿瘤中都呈现非正常的低表达^[11]。作为抑癌基因的miRNAs表达水平的改变,能促进肿瘤细胞发生、发展、增殖、侵袭和转移等生物学行为^[12]。越来越多的证据表明,miRNAs的异常表达与多种恶性肿瘤密切相关。有超过一半的miRNAs位于肿瘤相关基因组区域或脆性位点、杂合性丢失区和扩增区^[13],进一步提示miRNAs可能作为癌基因或抑癌基因而发挥作用,具有抑癌基因功能的miRNAs发生突变可能会诱发肿瘤形成。miRNAs有可能通过引起某些凋亡相关因子表达的变化、影响各种细胞内外信号通路的活性、调控基因转录调节因子的活性,参与肿瘤的发生发展。

3 miRNAs 与 NSCLC

肺癌分为NSCLC和小细胞肺癌(small-cell lung carcinoma, SCLC),NSCLC包括肺鳞癌、肺腺癌、大细胞肺癌、大细胞未分化癌。NSCLC病死率高,主要原

因是缺乏敏感、有效的早期筛选诊断指标和治疗靶点。miRNAs的发现及其与NSCLC关系的研究,为NSCLC的早期诊断和靶向治疗带来了新的契机。

3.1 miRNAs在NSCLC发生发展过程中的作用

3.1.1 调控细胞增殖

在NSCLC组织中,高表达的miRNAs(miR-155、miR-17-5p、miR-21、miR-17-92、miR-221/222等)通过抑制某些抑癌基因的表达而起到了癌基因的作用。相反,一些miRNAs(miR-15a、miR-16、miR-29、miR-34、Let-7等)能够与某些癌基因结合抑制癌基因的表达及活性,因而具有抑癌基因功能,这些具有抑癌基因功能的miRNAs在NSCLC组织中表达常常是降低的。Let-7有两个代表性靶点,即癌基因Ras家族和HMGA2基因。研究表明在NSCLC组织中Let-7的表达减少,导致Ras、HMGA2基因激活,从而促进癌细胞的增殖^[14]。miR-221和miR-222作用于抑癌基因p27(Kip1)(细胞周期蛋白抑制因子)3'-UTR端,降低p27表达水平,从而增加对TRAIL(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)的抵抗性^[15,16]。另有研究表明^[17],miR-21在NSCLC中明显上调,通过与抑癌基因PTEN的3'-UTR端结合,下调PTEN的表达,促进肿瘤细胞的增殖。这些研究表明,表达失控的miRNAs充当着癌基因、抑癌基因的作用,参与了肿瘤发生和发展的全过程。

3.1.2 调控细胞凋亡

NSCLC发生与细胞凋亡障碍密切相关。抑癌基因p53的变异在细胞凋亡调控中起重要作用,p53可通过对miR-34家族(miR-34a/b/c)的调控实现对多个癌基因或细胞因子,如E2F3、Bcl-2、c-myc、CDK4、CDK6、CyclinD1、CyclinE2表达的抑制,并通过E2F3、SIRT1与p53形成正反馈环路,不断增强其自身和p53的作用,诱导癌细胞凋亡,阻止癌细胞的生长、迁移和侵袭^[17-20]。另外,miR-34也可以调控Bcl-2蛋白影响肿瘤细胞的凋亡过程^[21]。抗凋亡因子PED增加在肺癌组织中过度表达,miR-212在NSCLC中低水平表达与PED高表达有关,miR-212表达增高可以作用于PED的3'-UTR区使其表达降低^[22],从而增加TRAIL诱导的细胞凋亡。

3.1.3 调控细胞周期

许多研究表明,miRNAs参与NSCLC癌细胞周期的调节。miR-15a和miR-16在肺鳞癌和腺癌中常

常表达下调或缺失,而恢复miR-15a和miR-16的表达能将NSCLC癌细胞周期阻滞于G₀/G₁期^[23]。另有研究显示,miR-107和miR-185也可将肺癌细胞周期停滞于G₁期^[24]。而miR-21在NSCLC中高表达,激活细胞周期相关基因(PDCD4、Cdc25A、PTEN等),促进细胞周期进展,增强癌细胞侵袭转移和抗凋亡能力^[25,26]。

3.1.4 调控细胞信号传导

细胞信号转导通路的异常与肿瘤的发生密切相关。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)是一种蛋白酪氨酸激酶受体,在NSCLC中常呈现高表达。研究表明,miR-128b位于3p22染色体上,可与EGFR的3'-UTR区结合,下调EGFR表达和EGFR信号通路的活性,对NSCLC细胞发挥明显的增殖抑制作用。miR-7也同样可以通过下调EGFR表达水平^[27],减弱蛋白激酶B(PKB/Akt)及细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)的活性,而这两者是EGFR信号通路的关键效应因子。我们的一项研究也显示,miR-21在肝癌细胞中不但能够抑制肿瘤抑制基因PTEN表达,还能抑制硫酸酯酶1(hSulf-1)的表达和功能,PTEN和hSulf-1表达下降以及功能缺失都能够上调AKT/ERK信号通路的活性,从而增强肝癌细胞的增殖、侵袭及迁移能力,促进肿瘤的生长与转移^[28]。

3.1.5 调控间质血管生成

肿瘤生长依赖于血管生成,肿瘤细胞自身可以分泌血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)促进血管生成。一部分miRNAs在调节肿瘤血管生成中发挥了重要作用。肺癌组织中miR-126表达减少,使VEGF表达显著性增高;将miR-126转染到肺腺癌细胞后,发现miR-126可下调VEGF的表达并抑制肺腺癌细胞的增殖。在KRAS/p53突变的小鼠肺腺癌模型中,腺癌细胞大量分泌VEGF导致肿瘤的侵袭力增强,miR-200表达能抑制癌细胞VEGF受体的表达,降低肿瘤的侵袭力^[29]。

3.1.6 调控表观遗传学性状

表观遗传学指不改变基因,而是通过DNA的甲基化改变、组蛋白的修饰、非编码RNA诱导等来影响基因的表达。抑癌基因的甲基化,使其表达水平降低,促进肿瘤的形成与发展。基因组的甲基化受

DNA 甲基转移酶(DNA methyl-transferase, DNMT)的调控。有研究发现 miR-29 表达与 DNMT3A、DNMT3B 活性呈负相关,miR-29 能够逆转细胞抑癌基因的甲基化,发挥保护抑癌基因功能的作用^[30]。在 NSCLC 癌细胞中 miR-29 常呈现表达降低,这有可能成为肺癌靶向治疗的一个有力靶标。

3.2 miRNAs 在 NSCLC 诊断中的作用

肺癌组织与正常肺组织之间 miRNAs 表达谱的差别,以及不同类型肺癌之间 miRNAs 表达谱的特异性,不但表明 miRNAs 与肺癌的发生发展密切相关,参与肺癌生物学行为调控的每一步过程,而且为肿瘤的诊断和鉴别诊断提供了有用的参考指标。通过对人体实体瘤样本的 miRNAs 表达谱的研究,发现 miRNAs 表达谱能够很好地鉴别细胞的良恶性,或区分不同分化程度的肿瘤细胞,提示 miRNAs 表达谱用于癌症诊断是可能的^[31]。Yanaiharu 等^[32]通过对 104 例肺癌患者肺癌组织和正常肺组织的比较,发现 43 种 miRNAs 表达存在差异。不同类型的肺癌组织之间,miRNAs 表达也有所不同,如 miR-205、miR-99b、miR-203、miR-202、miR-102 和 miR-204 在肺腺癌和肺鳞癌中的表达存在显著性差异^[33],提示 miRNAs 表达谱的不同可以用于不同组织学类型肺癌的诊断。由于 miRNAs 在肺癌中的表达失调,不仅具有组织特异性,还有发生阶段的特异性,从而使 miRNAs 的检测不仅可以作为肺癌早期诊断的指标,同时也可以提示作为肺癌的进展和预后判断的指标。

miRNAs 在肺癌组织中的表达有一定的特异性,对于肺癌的诊断具有一定的意义,但组织学检测毕竟比较繁琐,不适宜作为早期诊断的指标。循环 miRNAs 具有体内生存期长、体外非常稳定的特点,提示将循环 miRNAs 作为肺癌诊断标志物是可能的。2008 年 Mitchell 等^[34]和 Chen 等^[35]报道了血浆和血清包含了大量稳定的来源于不同组织和器官的稳定的 miRNAs。Chen 等^[35]采用 Solex 测序方法对 NSCLC 患者和正常人的血清中 miRNAs 进行测序分析,肺癌患者血清中检测出 63 种差异高表达的 miRNAs,同时发现肺癌患者血清中 28 种 miRNAs 表达明显下调。在患者血清和血细胞之间的 miRNAs 表达也存在差异,有 57 种 miRNAs 分别存在于 NSCLC 患者的血清和血细胞中,有 76 种只存在于

NSCLC 患者血清中,而正常人血清和血细胞 miRNAs 不存在这种差异。在其他体液中,例如痰、唾液、尿液、精液,也发现了稳定 miRNAs 的存在,如 miR-205、miR-210、miR-708 在肺鳞癌患者痰液中被检测到,应用这 3 种 miRNAs 诊断肺鳞癌,其敏感度和特异性分别为 73%和 96%^[36]。这些研究向我们传达了一个强有力的讯息,循环 miRNAs 的检测将为我们探索一种无创性的肺癌诊断方法提供了新思路。

近来,学者们将 NSCLC 患者的血清与正常人的血清进一步对比,发现 miR-25 和 miR-223 对 NSCLC 具有特异性^[37]。Shen 等^[38]研究证明,从血清中检测出的 miR-21、miR-126、miR-210 和 miR-486-5p,这 4 种 miRNAs 能以高达 86.22%和 96.55%的敏感度和特异性区分 58 例 I~IV 期 NSCLC 患者与健康对照者。将 miR-15b 和 miR-27b 结合用于诊断 NSCLC,其敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值均在 80%以上^[39]。由此可见,对于早期诊断 NSCLC,循环 miRNAs 是一个敏感的生物标志物。研究显示 miRNAs 检测对于肺癌的分级分期有很大的参考作用。Foss 等^[40]对 11 例 NSCLC 患者及 11 例健康对照者的血清对照研究发现,miR-1254 和 miR-574-5p 区分 I 期和 II 期非小细胞肺癌的敏感度为 82%,特异性为 77%。miRNAs 对肺癌分级分期的作用有助于医生选择合适的治疗方案,制定更为有效的治疗措施。

3.3 miRNAs 在 NSCLC 治疗中的作用

由于 miRNAs 在肿瘤发生、发展、转移、复发过程中起到癌基因或抑癌基因的作用,因此可通过调控 miRNAs 的表达来治疗肿瘤。近来,以 miRNAs 为靶点的肿瘤治疗方案有很多报道,给肿瘤的治疗带来了希望。一些具有抑癌基因功能的 miRNAs 在 NSCLC 中常呈现表达缺失或者下调,采用基因转染的方式导入并激活相应 miRNAs 的表达,对肿瘤的增殖、生长、侵袭、转移等生物学行为产生抑制作用,例如肺癌细胞导入 miR-133a,癌细胞的增殖、移动、迁徙均受到抑制,其作用机制即是抑制 MMP-14 表达^[41]。相反,对于具有癌基因功能的 miRNAs,则可以采用 miRNAs 抑制剂或反义序列封闭 miRNAs 的表达,从而抑制肿瘤生长^[42]。

根据 miRNAs 调控靶基因的原理,人们设计了一种肿瘤特异性的溶瘤病毒载体,用来携带抗肿瘤基因,开展抗肿瘤靶向基因治疗。在病毒载体的早期

增殖基因 3'-UTR 区插入与 miRNAs 相互作用的特异性结合位点,即可以控制该增殖基因的表达,使之具有一定的靶向性。在 miRNAs 高表达的正常细胞内,miRNAs 剪切或抑制增殖基因 mRNA 翻译表达,使病毒不能增殖;而在 miRNAs 低表达的肿瘤细胞内,增殖基因表达正常,促进病毒载体大量复制并发挥溶瘤作用,同时促进病毒载体携带的抗肿瘤基因拷贝数增加,表达量提高,发挥协同抗肿瘤作用^[43,44]。miR-145 在肺正常组织细胞中的表达明显高于 NSCLC 细胞,将 4 个拷贝的 miR-145 靶序列克隆到 HSV-1 病毒增殖基因 ICP27 的 3'-UTR 区,构建溶瘤病毒 AP27i145,该病毒的增殖严格受 miR-145 表达水平的调控。相对于高表达 miR-145 的正常细胞来说,在低表达 miR-145 的 NSCLC 细胞中,AP27i145 大量增殖,发挥杀伤癌细胞作用^[45]。

4 问题与展望

关于 miRNAs 与肿瘤之间关系的研究越来越受到重视。鉴于 miRNAs 与 NSCLC 的发生发展存在着密切的关系,并且相关的许多研究结果都显示 miRNAs 在 NSCLC 患者组织和血液中的表达与正常人存在差异,对肺癌的早期诊断和靶向治疗有着较高的敏感度和特异性,这使我们相信 miRNAs 将成为 NSCLC 早期诊断的重要标志物以及基因治疗的重要靶标。但是,miRNAs 与 NSCLC 的研究还处于实验阶段,有很多问题需要进一步研究,如各型 NSCLC 患者血清中表达的特异性 miRNAs 需要进一步筛选,同时研究结论需要在临床上进行大量的验证,以更好地证明 miRNAs 在 NSCLC 早期诊断和靶向治疗中的实际应用价值。

参考文献:

- [1] Zandberg E, Kozirovskis V, Ābols A, et al. Cell-free microRNAs as diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers for lung cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2013, 52(4):356-369.
- [2] Sittka A, Schmeck B. MicroRNAs in the lung[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 774:121-134.
- [3] Nana-Sinkam SP, Croce CM. Clinical applications for microRNAs in cancer [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 93(1): 98-104.
- [4] Brzezińska E, Dutkowska A, Antczak A. The significance of epigenetic alterations in lung carcinogenesis [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(1):309-325.
- [5] Lee RC, Feinbaum RL, Ambors V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5):843-854.
- [6] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 2000, 403(6772):901-906.
- [7] Bohnsack MT, Czapinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs[J]. *RNA*, 2004, 10(2):185-191.
- [8] Chitwood DH, Timmermans MC. Small RNAs are on the move[J]. *Nature*, 2010, 467(7314):415-419.
- [9] Ebert MS, Sharp PA. MicroRNA sponges: progress and possibilities[J]. *RNA*, 2010, 16(11):2043-2050.
- [10] Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(7):2257-2261.
- [11] Javeri A, Ghaffarpour M, Taha MF, et al. Downregulation of miR-34a in breast tumors is not associated with either p53 mutations or promoter hypermethylation while it correlates with metastasis[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(1):413.
- [12] Fornari F, Gramantieri L, Giovannini C, et al. MiR-122/cyclin G1 interaction modulates p53 activity and affects doxorubicin sensitivity of human hepatocarcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(14):5761-5767.
- [13] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9):2999-3004.
- [14] Kumar MS, Erkeland SJ, Pester RE, et al. Suppression of non-small cell lung tumor development by the *let-7* microRNA family [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(10):3903-3908.
- [15] Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, et al. miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1 [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(32):23716-23724.
- [16] Garofalo M, Quintavalle C, Di Leva G, et al. MicroRNA signatures of TRAIL resistance in human non-small cell lung cancer[J]. *Oncogene*, 2008, 27(27):3845-3855.
- [17] Zhang JG, Wang JJ, Zhao F, et al. MicroRNA-21(miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(11-12):846-852.

- [18] Li N, Fu H, Tie Y, et al. miR-34a inhibits migration and invasion by down-regulation of c-Met expression in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, 275(1):44–53.
- [19] Corney DC, Flesken-Nikitin A, Godwin AK, et al. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(18):8433–8438.
- [20] Jansson MD, Lund AH. MicroRNA and cancer [J]. *Mol Oncol*, 2012, 6(6):590–610.
- [21] Bommer GT, Gerin I, Feng Y, et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes [J]. *Curr Biol*, 2007, 17(15):1298–1307.
- [22] Incoronato M, Garofalo M, Urso L, et al. miR-212 increases tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand sensitivity in non-small cell lung cancer by targeting the antiapoptotic protein PED [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(9):3638–3646.
- [23] Bandi N, Zbinden S, Gugger M, et al. miR-15a and miR-16 are implicated in cell cycle regulation in a Rb-dependent manner and are frequently deleted or down-regulated in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(13):5553–5559.
- [24] Takahashi Y, Forrest AR, Maeno E, et al. MiR-107 and MiR-185 can induce cell cycle arrest in human non small cell lung cancer cell lines[J]. *PLoS One*, 2009, 4(8):e6677.
- [25] Shen L, Ling M, Li Y, et al. Feedback regulations of miR-21 and MAPKs via Pdcd4 and Spry1 are involved in arsenite-induced cell malignant transformation [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):e57652.
- [26] Zhong Z, Dong Z, Yang L, et al. miR-21 induces cell cycle at S phase and modulates cell proliferation by down-regulating hMSH2 in lung cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(10):1781–1788.
- [27] Webster RJ, Gile KM, Price KJ, et al. Regulation of epidermal growth factor receptor signaling in human cancer cells by microRNA-7[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(9):5731–5741.
- [28] Bao L, Yan Y, Xu C, et al. MicroRNA-21 suppresses PTEN and hSulf-1 expression and promotes hepatocellular carcinoma progression through AKT/ERK pathways [J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2):226–236.
- [29] Roybal JD, Zang Y, Ahn YH, et al. miR-200 inhibits lung adenocarcinoma cell invasion and metastasis by targeting Flt1/VEGFR1[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(1):25–35.
- [30] Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, et al. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(40):15805–15810.
- [31] Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [J]. *Nature*, 2005, 435(7043):834–838.
- [32] Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(3):189–198.
- [33] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11):3753–3756.
- [34] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(30):10513–10518.
- [35] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. *Cell Res*, 2008, 18(10):997–1006.
- [36] Xing L, Todd NW, Yu L, et al. Early detection of squamous cell lung cancer in sputum by a panel of microRNA markers[J]. *Mod Pathol*, 2010, 23(8):1157–1164.
- [37] Hu Z, Chen X, Zhao Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(10):1721–1726.
- [38] Shen J, Todd NW, Zhang H, et al. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer[J]. *Lab Invest*, 2011, 91(4):579–587.
- [39] Hennessey PT, Sanford T, Choudhary A, et al. Serum microRNA biomarkers for detection of non-small cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e32307.
- [40] Foss KM, Sima C, Ugolini D, et al. miR-1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(3):482–488.
- [41] Xu M, Wang YZ. miR-133a suppresses cell proliferation, migration and invasion in human lung cancer by targeting MMP-14[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(3):1398–1404.
- [42] Idogawa M, Sasaki Y, Suzuki H, et al. A single recombinant adenovirus expressing p53 and p21-targeting artificial microRNAs efficiently induces apoptosis in human cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(11):3725–3732.
- [43] Sakurai F, Katayama K, Mizuguchi H. MicroRNA-regulated transgene expression systems for gene therapy and virotherapy[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2011, 16:2389–2401.
- [44] Zhang Y, Wang Z, Gemeinhart RA. Progress in microRNA delivery[J]. *J Control Release*, 2013, 172(3):962–974.
- [45] Li JM, Kao KC, Li LF, et al. MicroRNA-145 regulates oncolytic herpes simplex virus-1 for selective killing of human non-small cell lung cancer cells[J]. *Virol J*, 2013, 10:241.