

ارتباط بیان miR137 با مرحله متاستاز در سرم افراد مبتلا به سرطان ریه

چکیده

دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۸ ویرایش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۵ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳ آنلاین: ۱۳۹۸/۱۰/۳۰

زمینه و هدف: مطالعات پرشمار نشان داده‌اند که miRNA در میان شاخص‌ها و علائم زیستی مختلف سرطان ریه، مهمترین هستند. با متوقف کردن miRNAهای مسبب بیماری (انکوژن) و ایجاد miRNAهای لازم و عملکردی (بازدارنده‌ی توموری)، این RNAهای کوچک تنظیم‌کننده می‌توانند کاربرد درمانی در سرطان داشته باشند. مرگ‌ومیر بالای ناشی از سرطان ریه این واقعیت را مشخص می‌کند که بیشتر بیماران در مرحله پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شوند. استفاده از بیومارکرهای سرمی می‌تواند به تشخیص زودهنگام کمک کند. از این رو در پژوهش کنونی میزان بیان miR-137 در سرم افراد مبتلا به سرطان ریه بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه تحلیلی-توصیفی از شهریور ۱۳۹۶ تا خرداد ۱۳۹۷ انجام گردید. برای انجام این پژوهش، ۱۰۰ نمونه سرم (۵۰ نمونه سرم افراد سالم و ۵۰ نمونه سرم افراد بیمار) از مراجعه‌کنندگان به بیمارستان مسیح دانشوری تهران تهیه و داده‌های فردی و کلینیکی پاتولوژیکی بیماران توسط پرسشنامه‌ای از تمامی افراد گردآوری گردید. سپس جهت بررسی کیفی میزان تغییرات بیان miR-137 از روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) استفاده شد.

یافته‌ها: داده‌های به‌دست آمده نشان داد که تفاوت معناداری بین بیان سرمی ژن miR-137 مراحل اول و دوم بیماری وجود نداشت. درحالی‌که در سرم افراد مبتلا به سرطان ریه که در مراحل سوم و چهارم متاستاز بودند میزان بیان miR-137 به ترتیب ۳/۲ (P=۰/۰۴۲) و ۶/۸ (P=۰/۰۰۳) برابر کاهش داشته است.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، بین بیان miR-137 و سرطان ریه ارتباط معناداری به‌دست آمد.

کلمات کلیدی: بیان ژن، سرطان ریه، MicroRNAs، miR-137، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، بیومارکرهای سرمی.

معصومه بابایی^۱مهرداد هاشمی^{*۲}بهزاد بنی‌اقبال^۳

۱- گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۲- گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری نوین، دانشگاه آزاد اسلامی، علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- گروه ریه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، علوم پزشکی تهران، دانشکده علوم و فناوری نوین، گروه ژنتیک.

تلفن: ۰۲۱-۲۲۰۶۶۶۴

E-mail: mhashemi@iautmu.ac.ir

مقدمه

برای سرطان ریه انجام شده است. مدرک‌های زیادی وجود دارد که miRNAهایی که خاصیت مقاومت توموری یا پروانکوژنیک دارند، می‌توانند هدف‌های مناسبی برای درمان سرطان به‌ویژه سرطان ریه باشند.^۱ سلول‌های سرطانی با بیان miRNA غیرطبیعی، از سرکوب‌کننده‌های رشد جلوگیری می‌کنند، مقاومت در برابر مرگ سلولی، فعال شدن تهاجم و متاستاز و ایجاد آنژیوژنز می‌کنند. اگرچه miRNA دارای اهداف چندگانه هستند، اما عملکرد آن‌ها در

miRNAها دسته‌ای از RNAهای کوچک کدکننده غیرپروتئینی هستند که قادر به تنظیم بیان ژن به‌وسیله برش مستقیم mRNA هدف یا مهار ترجمه از طریق میانکنش با ناحیه ترجمه‌نشده mRNA، 3'UTR هدف می‌باشند. بررسی‌های پرشمار در مورد miRNA به‌عنوان بیومارکرهای پیش‌آگهی و تشخیصی بالقوه و اهداف درمانی

(Cellspin, Hanil, South Korea) در دمای 4°C به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۹۰۰rpm پلازما جداسازی و در میکروتیوب‌های RNase free ریخته و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر -80°C (Jal Tajhiz Co., Iran) نگهداری شد.

استخراج RNA از پلازما با استفاده از RNA extraction kit (Qiagen GmbH, Hamburg, Germany) انجام گردید.

پس از استخراج RNA، کمیت و کیفیت آن با استفاده روش اسپکتروفتومتری با دستگاه NanoDrop Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) و الکتروفورز ژل آگاروز (Padideh Nojen Pars Co., Mashhad, Iran) بررسی گردید. سپس سنتز cDNA (DNA مکمل) با استفاده از کیت سنتز cDNA RevertAid first-strand cDNA synthesis kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) از روی نمونه‌های RNA انجام گردید. پرایمرها با استفاده از NCBI Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) و نرم‌افزار AlleleID® software, Version 7.7 (Premier Biosoft, Palo Alto, CA, USA) طراحی گردیدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) در جدول ۱ آورده شده است.

کارایی پرایمرهای استفاده شده، تعیین گردیده و منحنی استاندارد برای هر کدام رسم گردید. برای این کار، ابتدا از cDNAهای ساخته شده پنج رقت تهیه گردید. سپس واکنش RT-PCR به صورت دو بار تکرار، برای این رقت‌ها همراه با هر کدام از پرایمرها به صورت جداگانه، انجام شد. در پایان، منحنی استاندارد برای هر پرایمر، براساس مقادیر Ct به دست آمده در مقابل رقت‌های مورد استفاده رسم گردید. با استفاده از شیب خط منحنی به دست آمده (Slope) و رابطه $E=10^{(-1/\text{slope})}-1$ ، بازده واکنش (E) برای هر پرایمر محاسبه شد.

تکثیر برای اندازه‌گیری میزان بیان miR-137 توسط واکنش RT-PCR براساس روش استاندارد به صورت نسبی صورت گرفت. برای انجام این واکنش از دستگاه ExicyclerTM 96 (Bioneer Co., Daejeon, Korea) نوع ثابت و رنگ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) استفاده شد. نمونه‌ها به حجم نهایی 20 μl و براساس دستورکار Universal RT microRNA

تومورزایی ممکن است ناشی از تنظیم چند هدف خاص باشد.^۳ متیلاسیون نابجای پروموتور miR-137 در کارسینوم سلول سنگفرشی سر و گردن، نقص مولکولی خاص تومور را نشان می‌دهد که ممکن است به پیشرفت بیماری کمک کند. این مطالعه نشان می‌دهد که miR-137 در بافت توموری سلول‌های سرطانی سنگفرشی حلق و حنجره افزون‌بر کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی، متیله شده است و متیلاسیون پروموتور miR-137 دارای کاربرد بالقوه به عنوان یک نشانگر پیش‌آگهی برای سرطان سلول‌های سنگفرشی سر و گردن است.^۴ بیان بیش از حد miR-137 در سلول‌های سرطانی مثانه به طور چشمگیری، تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهد.^۵ مطالعه حاضر با هدف استفاده از miRNAهای موجود در سرم به عنوان بیومارکرهای غیرتهاجمی برای تشخیص، پیش‌آگهی و همچنین پیش‌بینی مرحله متاستاز سرطان ریه انجام گردید.

روش بررسی

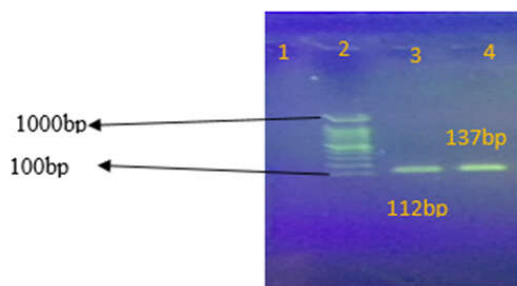
در این مطالعه توصیفی-تحلیلی که از شهریور ۱۳۹۶ تا خرداد ۱۳۹۷ بر روی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان مسیح دانشوری تهران انجام گرفت، پس از نمونه‌گیری تصادفی و پس از دریافت رضایت‌نامه از بیماران، میزان بیان miR-137 در افراد سالم و افراد مبتلا به سرطان ریه به صورت کمی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه مورد آزمایش شامل ۱۰۰ نمونه سرم (۵۰ نمونه سرم افراد سالم و ۵۰ نمونه سرم افراد سرطانی) از مبتلایان به سرطان سلول‌های غیرکوچک ریه گردآوری گردید. معیارهای ورودی، نمونه‌های سرم افراد مبتلا به مراحل اول تا چهارم سرطان ریه بودند. معیارهای خروجی، بیمارانی بودند که شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و عمل جراحی انجام نداده بودند. در نحوه ثبت داده‌های فردی و کلینیکی پاتولوژیکی، پس از این‌که رضایت‌نامه از افراد برای ورود به مطالعه حاضر گرفته شد، پرسشنامه‌ای طراحی شد. در پرسشنامه، مواردی مانند نام و نام خانوادگی، تاریخ مراجعه، سن، جنس، شغل، مصرف دخانیات (نوع و مدت)، مدت بیماری، محل سکونت، نوع تومور، مرحله تومور، سابقه خانوادگی بیمار، سابقه بیماری دیگر، تومور اولیه و تومور پس از درمان گردآوری شد. از مقدار ۵ ml خون گرفته شده از افراد مورد مطالعه، پلازما جداسازی و با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار

پرایمرهایی که در این پژوهش استفاده شده بودند با روش رقت‌سازی cDNA نمونه‌ها تعیین شدند. میزان کارایی پرایمر ژن miR-137 و ژن U6 به ترتیب ۹۹٪ و ۹۴٪ بودند. اختصاصیت پرایمرهای مورد نیاز در پژوهش حاضر با روش Conventional PCR تایید شد.

شکل ۲، اختصاصیت پرایمرها مرتبط با تعدادی از نمونه‌ها را نشان داده است. با استفاده از روش Quantitative reverse transcription PCR (q-RT-PCR) بیان miR-137 بررسی و برای هر نمونه به صورت سه بار تکرار انجام شد. برای آنالیز نتایج از نرم‌افزار REST استفاده شد. میزان بیان miR-137 در نمونه‌های سرمی مرحله اول و دوم بیماری نسبت به سرم افراد نرمال اختلاف معناداری نداشت. میزان بیان miR-137 در نمونه‌های سرمی مرحله سوم و چهارم بیماری نسبت به سرم افراد نرمال کاهش معنادار داشت (P=۰/۰۴۲ و P=۰/۰۰۳). میزان بیان miR-137 در مرحله سوم و چهارم به ترتیب ۳/۲ و ۶/۸ برابر کاهش معنادار داشت (P=۰/۰۴۲ و P=۰/۰۰۳).

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده، این احتمال وجود دارد که روند اندازه‌گیری بیان miR-137 در سرم بیماران مبتلا به سرطان ریه که با کاهش همراه بوده است، نشانه‌ای از پیشرفت بیماری باشد. در مطالعه



شکل ۲: نتیجه Conventional PCR با پرایمرهای اختصاصی ستون ۱: کنترل منفی، ستون ۲: مارکر ۱۰۰ bp، ستون ۳: محصول PCR مربوط به miR-137، ستون ۴: محصول PCR مربوط به U6.

EvaGreen: 10 μ l, cDNA (20 ng/ μ l): شامل PCR kit (Exiqon, Denmark) 5 μ l, Specific primers (10 pmol): 2 μ l, Sterile distilled water: 3 μ l و با برنامه حرارتی یکسان برای تکثیر miRNA و ژن مرجع که هر سیکل شامل چهار مرحله انکوبه شامل 95°C به مدت پنج دقیقه، 95°C به مدت ۳۰ ثانیه، 60°C به مدت ۳۰ ثانیه و 72°C به مدت ۳۰ ثانیه بود، انجام شد. پس از انجام واکنش، میزان بیان با روش $\Delta\Delta\text{Ct}$ محاسبه و با استفاده از REST 2008, Version 2 (Technical University of Munich, Germany) محاسبه آماری انجام شد.

یافته‌ها

داده‌های دموگرافی و بالینی بیماران از پرونده و همچنین سامانه الکترونیکی بخش سرطان بیمارستان استخراج و ثبت گردید. از ۵۰ فرد مبتلا به سرطان ریه، ۳۵ مرد (۷۰٪) و ۱۵ بیمار زن (۳۰٪) بودند. همچنین از این تعداد ۳۶ نفر (۷۲٪) سابقه‌ی مصرف دخانیات داشتند و ۱۴ نفر (۲۸٪) نداشتند. از ۵۰ بیمار، ۲۸ (۵۶٪) عدم سابقه‌ی ابتلا به سرطان در خانواده و ۲۲ مورد (۴۴٪) سابقه ابتلا در خانواده داشتند. از این تعداد ۲۳ بیمار (۴۶٪) در محدوده سنی ۶۱ تا ۷۰ سال قرار داشتند. در بررسی کیفیت RNAهای استخراج شده از سرم خون با روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز، حضور باندهای 18S و 28S ریبوزومی مرتبط با تعدادی از نمونه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. با استفاده از اسپکتروفتومتر، غلظت RNA به دست آمد.

نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ تعیین کننده خلوص اسیدهای نوکلئیک می‌باشد و در پژوهش کنونی، این نسبت جذب، بین ۱/۸ تا ۲ بود و کیفیت RNAهای استخراج شده، تایید شد. میزان کارایی



شکل ۱: الکتروفورز بر روی ژل آگارز برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده. شماره ۱-۶: نمونه‌ها، شماره ۷: مارکر.

جدول ۱: پرایمرهای استفاده شده در Real-time PCR

نام آغازگر	توالی	طول قطعه تکثیر یافته
U6 F	5'-GCTTCGGCAGCACATATAAC-3'	137 bp
U6 R	5'-ATCCGTTTCTGGGAGGG-3'	137 bp
miR-137 F	5'-GCGCGCTTATTGCTTAAGAATAAC-3'	112 bp
miR-137 R	5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'	112 bp

مغز و دخالت احتمالی در علل هر دو اختلالات روانپزشکی و سرطان دارد.^۸ Du و همکاران دریافتند که miR-137 در نمونه‌های بالینی سرطان معده، کمتر بیان شده است. آن به‌طور چشمگیری در بیماران بدون آمبولی عروقی (Vascular embolus) نسبت به بیماران با آمبولی عروقی بیشتر بیان شده بود و مدت زمان بقای کلی در بیماران با بیان بالای miR-137 در مقایسه با بیماران با بیان کم آن، طولانی‌تر بود. بیان بیش از حد miR-137 توانایی‌های مهاجرت، تکثیر و چرخه سلولی را در لاین‌های سلولی سرطان معده مهار می‌کند. بنابراین miR-137 ممکن است نقش سرکوب‌کننده توموری در سرطان معده داشته باشد. در مطالعه حاضر، کاهش بیان miR-137 باعث پیشرفت بیماری گردید.^۹ Shen و همکاران در بررسی خود و دریافتند که بیان mir-221، let-7a، mir-137، mir-372 و mir-182 با پیش‌آگهی مطلوب در افراد مبتلا به سرطان ریه ارتباط دارد و در صورتی می‌توان استفاده از miR-137 را به‌عنوان پیش‌آگهی در نظر گرفت که تشخیص سرطان ریه در افراد انجام شده باشد.^{۱۰}

در مطالعه‌ی Guz و همکارانش، بیان ناهبجا miR-137 در رده‌های سلولی (NSCLC A549، NCI-H460 و NCI-H520) باعث توقف چرخه سلولی در مرحله G1 شد و همچنین باعث کاهش رشد سلولی در شرایط In vitro و In vivo گردید.^۲ در مطالعه حاضر ارتباط معناداری بین کاهش بیان miR-137 در نمونه‌های سرمی مرحله سوم و چهارم بیماری و در بیماران مبتلا به سرطان ریه متاستاتیک مشاهده گردید.

سیاسگزار: این مقاله بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی بیان miR137 با ژن هدف cdc42 در نمونه‌های بالینی افراد به سرطان ریه با روش Quantitative Realtime PCR" در مقطع کارشناسی ارشد ژنتیک در سال ۱۳۹۷ و کد ۱۵۷۳۰۵۰۳۹۶۱۰۰۱ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران اجرا شده است.

حاضر در نمونه‌های سرمی مرحله سوم، بیان miR-137 کاهش یافته ($P=0/042$) و این میزان در نمونه‌های سرمی مرحله چهارم بیشتر شده بود ($P=0/003$). این فرآیند می‌تواند به پیشرفت بیماری منجر شود. همچنین، داده‌های دموگرافی بیماران نشان داد که رابطه معناداری بین جنسیت و مصرف دخانیات با ابتلا به سرطان ریه وجود دارد ($P=0/003$ و $P=0/042$). در عین حال، بین سابقه‌ی خانوادگی ابتلا به سرطان با میزان ابتلا فرد به سرطان ریه تفاوت معناداری وجود نداشت. همچنین ابتلا به این سرطان در سنین پیری بیشتر است. با استفاده از نتایج به‌دست آمده از این مطالعه مشخص شد، میزان بیان سرمی miR-137 در مراحل پیشرفته بیماری با کاهش معنادار همراه است ($P=0/042$ و $P=0/003$) و اگر نتایج این مطالعه بر روی تعداد نمونه‌های بیشتر تایید شود، این احتمال وجود دارد که اندازه‌گیری آن به‌همراه سایر بیومارکرهای سرمی بتواند در تشخیص روند بیماری و درمان مناسب، موثر باشد. Zhu و همکارانش عنوان داشتند بیان miR-137 می‌تواند موجب توقف چرخه تکثیر سلولی در فاز G1 گردد و همچنین کاهش بیان miR-137 باعث توقف چرخه سلولی گردید.^۶ Neault و همکارانش بیان کردند که سطوح miR-137 به‌طور معناداری در تومورهای پانکراس انسانی کاهش می‌یابد که همسو با مطالعات پیشین، نشان‌دهنده واکنش ضعیف پیری در این نوع سرطان است. این نتایج نشان می‌دهد که سطح مهاربندی miR-137 ممکن است برای راه‌اندازی شبکه‌های سرکوب‌کننده تومور در سرطان پانکراس مهم باشد.^۷ در پژوهش حاضر، میزان بیان miR-137 در سرم افراد مبتلا به مرحله سوم و چهارم بیماری و در بیماران مبتلا به سرطان ریه متاستاتیک کاهش معنادار داشته است به‌طوری که میزان بیان آن در سرم افراد مبتلا به مراحل اول و دوم کاهش داشته اما این مقدار کاهش، معنادار نبوده است. Mahmoudi و همکاران مطالعه‌ای انجام دادند و دریافتند miR-137 نقش حیاتی در عملکرد

References

1. Mao Y, Yang D, He J, Krasna MJ. Epidemiology of Lung Cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2016;25(3):439-45.
2. Guz M, Rivero-Müller A, Okoń E, Stenzel-Bembenek A, Polberg K, Slomka M, et al. MicroRNAs-role in lung cancer. *Dis Markers* 2014;2014:218169.
3. Peng Y1,2, Croce CM3. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther* 2016;1:15004.
4. Langevin SM, Stone RA, Bunker CH, Lyons-Weiler MA, LaFramboise WA, Kelly L, et al. MicroRNA-137 promoter methylation is associated with poorer overall survival in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2011;117(7):1454-62.
5. Xiu Y, Liu Z, Xia S, Jin C, Yin H, Zhao W, et al. MicroRNA-137 upregulation increases bladder cancer cell proliferation and invasion by targeting PAQR3. *PLoS One* 2014;9(10):e109734.
6. Zhu X, Li Y, Shen H, Li H, Long L, Hui L, et al. miR-137 inhibits the proliferation of lung cancer cells by targeting Cdc42 and Cdk6. *FEBS Lett* 2013;587(1):73-81.
7. Neault M, Mallette FA, Richard S. miR-137 Modulates a tumor suppressor network-inducing senescence in pancreatic cancer cells. *Cell Rep* 2016;14(8):1966-78.
8. Mahmoudi E, Cairns MJ. MiR-137: an important player in neural development and neoplastic transformation. *Mol Psychiatry* 2017;22(1):44-55.
9. Du Y, Chen Y, Wang F, Gu L. miR-137 plays tumor suppressor roles in gastric cancer cell lines by targeting KLF12 and MYO1C. *Tumour Biol* 2016;37(10):13557-69.
10. Shen J, Jiang F. Applications of MicroRNAs in the Diagnosis and Prognosis of Lung Cancer. *Expert Opin Med Diagn* 2012;6(3):197-207.

Relationship between the expression of miR137 in the serum of patients with metastatic lung cancer

Masoomeh Babaei M.Sc.¹
Mehrdad Hashemi Ph.D.^{2*}
Behzad Baniieghbal M.D.³

1- Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Biologic Sciences, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran.

2- Department of Genetics, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Pulmonary, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of Genetics, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-22006664
E-mail: mhashemi@iautmu.ac.ir

Abstract

Received: 18 Jun. 2019 Revised: 26 Jun. 2019 Accepted: 13 Jan. 2020 Available online: 20 Jan. 2020

Background: Micro-Ribonocellic Acids (miRNA) are non-coding nucleic acids that are evolutionally protected and have a length of 24-20 nucleotides. MiRNAs control the expression of genes after transcription by mRNA degradation or translation inhibition. By blocking the oncogenic miRNAs and creating the necessary and functional miRNAs (tumor suppressor), these small regulatory RNAs can have therapeutic applications in cancer. The high mortality from lung cancer highlights the fact that the majority of patients are diagnosed at an advanced stage of the disease. The use of serum biomarkers can help early detection. MiRNA is more stable than mRNA. MiRNA expression in tissue, plasma, sputum, and urine samples can be detected by fixed formulation. In addition, miRNAs are important modulators of gene expression, diagnostic markers, and prognosis. Therefore, in the present study, the expression of miR-137 in the serum of patients with lung cancer was investigated.

Methods: In this descriptive and analytical study, 100 serum samples were collected from patients referring to Masih Daneshvari Hospital in Tehran from August 2017 to May 2018. Also, individual and clinical information were collected by a questionnaire and real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was used for the qualitative evaluation of changes in expression of miR-137.

Results: Data showed that there was no significant difference between the expression of miR-137 in serum samples of the first and second stages of the disease. While in the serum of patients with lung cancer who metastasized in the third and fourth stages, miR-137 expression decreased by 3.2 (P=0.42) and 6.8 times (P=0.003), respectively. Based on the results, it can be inferred that the measurement of miR-137 expression in lung cancer patients with concomitant reduction can be a sign of the progression of the disease.

Conclusion: Based on the results of this study, there was a significant relationship between miR-137 expression and lung cancer.

Keywords: gene expression, lung cancer, MicroRNAs, miR-137, polymerase chain reaction, serum biomarkers.