

文章编号: 1004-0374(2010)07-0655-06

循环血中 microRNAs 作为疾病标志物的研究进展

朱嘉琦¹, 王国坤^{1,2}, 秦永文¹, 荆清^{1,2*}

(1 上海长海医院心内科, 上海 200433; 2 中国科学院上海生命科学研究院健康科学研究所, 上海 200025)

摘要: 新近研究发现成熟的 microRNA 能够游离于细胞之外, 稳定存在于循环血中, 具备疾病分子生物标志物的某些优点, 已在多种肿瘤和非肿瘤疾病的早期诊断和预后中显示了独特的价值, 同时循环血中 microRNA 的功能研究也已开始。该文针对近两年循环血中 microRNA 标志物及功能研究的成果, 对 microRNA 研究中的这一热点问题进行综述。

关键词: 循环血; microRNA; 标志物

中图分类号: R331.13; Q52 **文献标识码:** A

Advances of circulating microRNAs as a novel biomarker for diseases

ZHU Jia-qi¹, WANG Guo-kun^{1,2}, QIN Yong-wen¹, JING Qing^{1,2*}

(1 Changhai Hospital, Shanghai 200433, China; 2 Institute of Health Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200025, China)

Abstract: Cell free microRNAs have been found to be present in circulation recently, and displayed some characteristics of an ideal biomarker. Furthermore, circulating microRNAs have been verified and applied in diagnosis and prognosis of cancers and many other diseases. The study on function of circulating microRNAs has been put on agenda. This paper aimed to review the new findings in the field of circulating microRNAs as a novel biomarker for diseases.

Key words: circulation; microRNA; biomarker

MicroRNA (miRNA) 是一类小分子非编码单链 RNA, 长约 19~25 个核苷酸, 通过与靶 mRNA 的 3' 非翻译区 (3' UTR) 互补配对, 使其翻译受到抑制, 从而在转录后水平对生物体内基因时序性表达起到精细调节作用^[1]。最近的研究表明, miRNA 能够游离于细胞之外, 稳定存在于血浆或血清中, 具备疾病分子生物标志物的某些优点, 已在多种肿瘤和非肿瘤疾病的诊断和预后中显示了独特的价值^[2], 而循环血中 miRNA 的功能研究也已开始。本文针对近两年循环血 miRNA 标志物及功能研究的成果, 对 miRNA 研究中的这一热点问题进行综述。

1 循环血中 miRNA 的发现

Mitchell 等^[2]富集了血浆中 18~24 nt 的小片段 RNA, 随后进行了分子克隆和测序, 发现在 125 个克隆中 91 个为已知的 miRNA 序列, 占 73%, 包括

let-7f、miR-223、miR-451、miR-16、miR-15b、miR-425 等在内的 37 种 miRNA。Chen 等^[3]利用更加灵敏、特异的高通量的测序技术, 对血清中的所有 18~30 nt 的小片段 RNA 进行了检测, 发现 miRNA 占有所有克隆总数的很大部分 (39.69%~96.56%), 其中在男性和女性血清中分别发现了 100 种和 91 种

收稿日期: 2010-05-07; 修回日期: 2010-05-13

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 项目) (2005CB724602, 2007CB-947002); 国家自然科学基金面上项目 (30670437, 30770457, 30828006, 30971231); 浦江人才计划 (05PJ14105); 上海市科委基础研究重点项目 (10JC1417700); 中科院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-YW-R-096, KSCX2-YW-R-233, KSCX1-YW-R-64)

*通讯作者 E-mail: qjing@sibs.ac.cn

miRNA。这两项研究首次系统地研究了血浆、血清 miRNA 的存在及其分布情况,开创了血浆、血清 miRNA 研究的先河。

2 循环血中 miRNA 作为疾病标志物的特点

利用血浆、血清中游离于细胞之外的核酸作为疾病标志物的研究,很早就已开展^[4,5],但因 mRNA 在血浆、血清中不够稳定,而 DNA 尽管稳定但特异性很差的原因,两者作为疾病标志物在临床中的应用前景并不乐观,而关于 miRNA 最新的研究结果却令人惊喜。尽管 miRNA 的功能尚待阐明,但通过对其表达谱的研究已经发现 miRNA 具有很强的细胞、组织或疾病特异性,这些特异表达的 miRNA 既是其功能研究的基础,又是很好的疾病标志物^[6];同时 miRNA 在血浆、血清中的稳定性非常好,例如在反复冻融 8 次、室温下放置 24 h,以及在加入强酸、强碱、DNA 酶、RNA 酶等多种恶劣情况下,其含量仍保持相对稳定^[2-3],显示了血浆、血清中 miRNA 作为理想的疾病标志物所需的某些特征。

3 循环血中 miRNA 作为疾病标志物涉及的研究领域

从 2008 年血浆、血清中存在 miRNA 最早被报道,至今约 2 年时间,关于疾病分子生物标志物大量的研究成果已被报道,涉及多种疾病,主要可分为肿瘤和非肿瘤两大类。

3.1 肿瘤研究领域

肿瘤是血浆、血清 miRNA 研究最早、涉及病种最多的研究领域,目前涉及的肿瘤主要包括泌尿、消化、呼吸、血液等系统以及乳腺肿瘤。

3.1.1 泌尿系统 前列腺癌

Mitchell 等^[2]为进一步阐明血浆 miRNA 可以作为肿瘤标志物的概念,挑选了前列腺癌组织较正常前列腺组织的表达量增高的 6 种 miRNA (miR-100、-125b、-141、-143、-205 和 -296) 进行了小样本的病例对照研究 (25 例患者和 25 例健康对照),发现在前列腺癌患者血清中 miR-141 的含量明显增高,用于诊断前列腺癌当特异度 100% 时,其敏感度在 60%,与前列腺特异性抗原 (prostate-specific antigen, PSA) 的相比较,两者具有较好的相关性。

3.1.2 消化系统

(1) 结直肠癌 Huang 等^[7]挑选了结直肠癌 (colorectal carcinoma, CRC) 高表达的 12 种 miRNA (miR-134、

-146a、-17-3p、-181d、-191、-221、-222、-223、-25、-29a、-320a 和 -92a) 在小样本的病例对照 (20 例患者和 20 例健康对照) 研究中发现 miR-29a 和 -92a 在 CRC 患者血浆中明显增高,在随后扩大样本的研究中发现,miR-29a 和 -92a 能有效地从健康人群中区分 CRC 患者和进展期结直肠腺瘤 (advanced adenomas, AA) 患者,并且血浆中的 miR-29a 和 -92a 的含量和肿瘤的 TNM 分期明显相关, TNM 分期越高,miR-29a 和 -92a 的含量越高。

Ng 等^[8]对 5 例 CRC 患者和 5 例健康人的血浆和组织标本进行了 miRNA 芯片分析,发现同时存在上调的 miRNA 有 5 个,其中 miR-17-3p 和 -92 在小样本的病例对照研究中提示其含量在 CRC 患者血浆中明显增高,术后显著下降,随后较大样本的研究显示,miR-92 能有效地从健康人、胃癌、肠易激患者中区分 CRC 患者,其诊断特异度为 70%,灵敏度为 89%。

(2) 胰腺癌 Wang 等^[9]研究了胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA) 相关的 miR-21、-210、-155、-196a 在 PDA 患者血浆中的水平,结合病例特征,发现 miR-155 的水平在肿瘤形成的早期就明显增高,而 miR-196a 的水平高低和患者病程相关。运用这 4 个 miRNA 诊断 PDA,其灵敏度和特异度分别是 64% 和 89%。

(3) 胃癌 Tsujiura 等^[10]对胃癌患者血浆中 miR-21、-106a、-106b、-17-5p 和 let-7a 的水平与健康人进行了比较,发现在胃癌患者血浆中 let-7a 明显降低,而其余 4 个 miRNA 均显著增高,将 miR-106b 和 miR-106a/let-7a 的比值用于胃癌诊断时,其 ROC 曲线下面积分别是 0.721 和 0.879。

(4) 口腔肿瘤 Liu 等^[11]发现口腔黏膜鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 患者血浆 miR-31 水平较健康对照显著性增高,手术切除肿瘤 2 周后其水平明显下降。用于诊断 OSCC 时,ROC 曲线下面积为 0.82,准确度达到 73%。

3.1.3 呼吸系统 肺癌

Chen 等^[3]挑选了利用测序技术发现的在肺癌患者血清中具有较高拷贝数的 miR-25 和 -223 两种 miRNA 进行进一步的病例对照研究,发现在 152 个肺癌患者和 75 个健康对照患者血浆中 miR-25 和 -223 存在明显差异,其表达在肺癌患者血浆中分别增加了 5 倍和 3 倍。

Hu 等^[12]为研究血清 miRNA 在肺癌患者预后判

断中的作用,挑选了60例I期~IIIa期的肺癌患者,这些患者均接受手术和化疗,按照生存期的长短分为较长和较短生存期两个亚组各30例,所有患者的血清均采用高通量测序技术,发现至少11个miRNA的变化在5倍以上,在随后243个肺癌患者血浆标本的验证过程中,发现其中miR-486、-30d、-1和-499可以作为总生存率独立的预测因子。

3.1.4 血液系统

(1)弥漫性大B细胞淋巴瘤 关于血清中miRNA是否可运用于肿瘤诊断研究,最早报道来自Lawrie等^[13]在大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)的研究,他们挑选了和肿瘤相关的miR-155、-210、-21,比较了在DLBCL患者和健康人群之间血清水平的差异,发现DLBCL患者血清中三者的含量均明显高于健康人,且血清miR-21的不同水平决定了患者不同的生存曲线。

(2)急性白血病 Tanaka等^[14]利用miRNA芯片比较了急性白血病(acute leukemia, AL)患者和健康人之间的血浆miRNA表达谱,发现运用miR-92a和-638的比值能显著地区分AL患者和健康人;进一步运用原位杂交技术发现,无论是急性髓细胞性白血病和急性淋巴细胞性白血病患者,其肿瘤细胞中miR-92a的含量均明显增高,而在健康人中却含量微弱。

3.1.5 乳腺癌

Zhu等^[15]对乳腺癌患者血清miR-155的含量进行了小样本的研究,发现血清miR-155水平在乳腺癌患者和非乳腺癌患者中没有显著性差异,但在癌组织孕酮受体阳性的患者中血清含量要高于阴性患者,提示其可能不是诊断乳腺癌的指标,但有希望提示患者病程或预后的相关信息。

Heneghan等^[16]挑选了和乳腺癌相关的7个miRNA在乳腺癌患者的肿瘤组织和血浆中进行了比对,发现miR-195是乳腺癌组织特异的miRNA,在血浆中水平平均要高于正常,能很好地反映患者肿瘤生长的临床病理特征,例如与淋巴转移情况,以及孕酮受体的状态等等均密切相关。

3.2 非肿瘤研究领域

非肿瘤领域包括妊娠、组织损伤、败血症、心衰等研究领域。

3.2.1 妊娠

Chim等^[17]分析了孕妇血细胞、胎盘miRNA的

表达谱,挑选了胎盘高表达的miRNA作为研究对象,发现生产24h后血浆中的miR-141、miR-149明显下降,进一步分析发现miR-141在早、中、晚期妊娠阶段的含量各不相同,在妊娠晚期含量最高。

Gilad等^[18]比对了妊娠晚期孕妇和非孕妇血浆中的已经报道的胎盘特异的28条miRNA,其中12条在孕妇血浆中的含量要高于非孕妇5~6倍,其中miR-526a、miR-527、miR-520d-5p的含量要高出数百倍,生产后即下降。作者进一步建立了以这3条miRNA的含量来判断妇女是否怀孕的方法,并可用于异位妊娠的诊断。

3.2.2 组织器官损伤

(1)急性组织损伤 Laterza等^[19]为了阐明血浆中组织特异来源的miRNA能作为组织损伤特异标志物的概念,制备了3种组织特异损伤的动物模型,他们分别利用四甲基对苯二胺(2,3,5,6-tetramethyl-pphenylenediamine, TMPD)皮下注射,或促生长素抑制素(statinA)连续灌胃的方法制备了骨骼肌损伤模型,利用三氯溴甲烷(trichlorobromomethane, CBrCl₃)或四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)连续灌胃制备了肝损伤模型,利用股静脉插管大脑中动脉导丝闭塞的方法制备了脑损伤模型,然后收集造模动物的血浆,分别对骨骼肌特异的miR-133a、肝组织特异的miR-122,以及脑组织特异的miR-124含量进行检测,发现miR-133a和miR-122分别在骨骼肌和肝组织损伤后明显增高,升高倍数达到数百倍至数千倍,而此时传统的骨骼肌损伤和肝损伤标志物肌酸激酶(creatine kinase, CK)、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)轻度增高或增高数十倍,结合病理染色,发现miR-122诊断肝损伤的敏感性要优于ALT。同时,在大脑中动脉闭塞后8h的大鼠血浆中能明确检测到脑组织特异的miR-124的增高,24h时增高得更加明显。这些研究结果不仅表明骨骼肌、肝组织、脑组织特异的miRNA能作为骨骼肌损伤、肝组织损伤、脑组织损伤特异标志物,并且可拓展至所有组织特异的miRNA都能作为该组织损伤特异标志物的科学概念。

(2)药物性肝损伤 Wang等^[20]比对了脑、心、肝、脾、肾、肺6个组织和血浆miRNA的表达谱,发现血浆中miRNA的来源非常的广泛,然后利用过量对乙酰氨基酚(acetaminophen)灌胃制备药物性肝损伤小鼠模型,在造模24h的时候,对损伤前后肝组

织、血浆中 miRNA 的表达谱进行比对,发现共有 20 个 miRNA 在肝组织和血浆中均存在显著变化,其中 17 个具有相反的改变趋势,其中 miR-122、-192 在造模后血浆中明显增高而肝组织中显著降低;随后针对 miR-22、-101b、-122、-133a、-135*、-192、-193 和-486进行了时间和剂量的深入研究,发现这些 miRNA 在血浆中的含量和对乙酰氨基酚灌胃呈现很好的时间、剂量依赖性;不仅如此,肝脏特异的 miR-122 和-192 能在 150 mg/kg 对乙酰氨基酚灌胃 1 h 的时候就能在血浆中检测到显著的升高,而血浆中 ALT 的含量尚未有明显的改变,说明血浆 miRNA 反映肝脏损伤的灵敏度要优于 ALT。

(3) 急性心肌损伤 Ji 等^[21]为研究心脏组织特异 miRNA 能否作为心肌损伤的标志物,首先比对了心、肾、肝、骨骼肌 miRNA 表达谱,发现 miR-208 和-490 在心脏特异高表达,在随后多种组织的定量 PCR 验证过程中,发现 miR-208 是严格意义心脏特异表达的 miRNA,并以此为备选标志物;然后利用异丙肾上腺素(320 mg/kg)皮下注射的方法制备了急性心肌损伤大鼠模型,在不同时间点进行了血浆 miR-208 定量检测,绘制了含量-时间变化曲线,同时与肌钙蛋白比较发现 miR-208 在造模 3 h 即能在血浆中检测到显著性增高,这种增高一直持续至 12 h,在 24 h 后血浆 miR-208 的含量呈现下降趋势;同时在急性肾梗塞、心肌肥厚的动物模型中没有发现血浆 miR-208 的增高,提示心脏特异 miRNA 不仅可能是新颖的心肌损伤监测标志物,同时还提示了在某些肌钙蛋白升高的非心梗疾患中的应用前景。

Ai 等^[22]则针对心肌组织高表达,同时在心肌缺血后会表达增高的 miR-1,对急性心梗人群和非心梗人群血浆中的含量进行了研究,他们发现 miR-1 在急性心梗人群中的含量要高于非心梗人群,其含量和心电图 QRS 波的宽度存在正相关性,提示血浆中心脏高表达的 miRNA 可作为急性心梗诊断新的标志物,可能对急性心梗的预后判断具有一定的作用。

Wang 等^[23]从理想的心肌标志物的特征出发,筛选了心脏特异高表达而血浆中缺乏或含量微弱的 miRNA 作为候选标志物,包括 miR-208a、-499、-133a 和-1,利用开胸结扎前降支的方法制备了急性心梗动物模型,发现这 4 个 miRNA 在冠脉结扎 1 h 后均能检测到明显的增加,在 6~12 h 血浆中含量达到高峰,24 h 的时候明显下降,结合 miRNA 的

表达谱以及单纯开胸不结扎冠脉的假手术组血浆中 miR-133a、-1 和-499 也出现不同程度增加的现象,他们认为心脏特异的 miR-208a 是一个较好的候选标志物。随后在小样本的人群中,研究发现血浆中这 4 个 miRNA 的平均水平在急性心梗人群中明显高于非心梗人群,这种差异能有效地区分心梗人群(ROC 分析曲线下面积均在 0.8 以上);尤其是 miR-208a,在非心梗人群中检测不到(PCR 结果 Ct 值大于 40),而在 90.9%(30/33)的心梗人群中能检测到明显的增高。进一步对急性心梗人群按照胸痛时间进行亚组分析时发现,在胸痛 4 h 以内 miR-208a 对急性心梗的检出率要高于肌钙蛋白,提示血浆 miRNA 很有可能作为急性心梗的诊断标志物。

3.2.3 败血症

Vasilescu 等^[24]首先对比了败血症患者白细胞 miRNA 表达谱,发现在所有败血症患者中均出现变化的 miRNA 有 4 个,miR-150 和-342-5p 均下调,miR-182 和-486 均上调;然后挑选了变化最显著的 miR-150 在败血症患者血浆中进行研究,发现血浆 miR-150 的含量和患者序贯性器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)分值呈负相关,能反映病情的轻重程度;利用 KEGG 分析了 miR-150 可能影响与炎症免疫相关的信号通路包括 MAPK、mTOR、Insulin、ErbB、Wnt 等;利用 miR Gen 分析了可能的靶基因,其中促炎因子 TNF α 和抗炎因子 IL-10、IL-18 均为可能的靶基因,这些炎症因子在败血症患者的血浆中均显著上升,其含量和 miR-150 的血浆含量呈负相关,而血浆 IL-18 和 miR-150 的比值,可以进一步区分 miR-150 含量不同的败血症患者。

Wang 等^[25]则针对单纯依据临床症状很难区分感染和非感染性原因导致的系统性炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)这一临床问题,选择了明确存在血细菌培养阳性的败血症患者 50 例,非感染原因导致的 SIRS 并且无器官衰竭的患者 35 例,以及 20 例健康对照,挑选了和炎症病理生理相关的 7 个 miRNA 进行了病例对照研究,发现 miR-146a 和-223 能有效的区分感染和非感染原因导致的败血症和 SIRS 患者,当特异度为 100% 时,其灵敏度分别是 63.3% 和 80%。

3.2.4 心力衰竭

Tijssen 等^[26]对心衰(heart failure, HF)患者的血浆 miRNA 表达谱进行了研究,他们对比了 12 个健

康志愿者和12个HF患者的血浆miRNA表达谱,挑选了16个显著差异的miRNA进行定量PCR验证,发现miR-423-5p、-129-5p、-675、-18b*、-1254、-622和HS-202.1等7个miRNA在HF和健康对照之间存在显著性差异;进而对39个健康志愿者和50个胸闷患者(包括30个HF以及20个非HF)研究时发现仅有miR-423-5p和-18b*能在胸闷患者中区分HF和非HF,而当血清中脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)的含量以及左心室射血分数(EF%)和血浆中miRNA含量进行相关性分析时,发现仅有miR-423-5p和BNP存在正相关($R=0.43$, $P=0.002$),和EF%存在负相关($R=-0.34$, $P=0.023$),提示血浆miR-423-5p是一种有潜力的心衰分子标志物。已有心衰和正常心脏组织对比芯片数据提示miR-423-5p在心衰心脏中增高,作者进行了进一步确认,并大胆猜想心衰患者血浆中增多的miR-423-5p可能来源于衰竭的心脏。

4 血浆、血清中miRNA生物学功能

众所周知,血浆或血清中存在大量的外切酶,已有试验显示裸露的mRNA或miRNA在加入血浆或血清中以后会很快降解^[2,3]。因此,miRNA肯定不是以裸露的形式存在于血浆、血清中,一定存在某种保护机制来抵抗RNA酶的作用,血浆、血清miRNA的功能研究的前提是应该阐明其存在形式、释放机制,受体细胞是如何接收等问题。

已有证据显示细胞在生理或病理状态下,能释放或脱落某些具有膜结构的微泡,直径从数十纳米至数微米不等,按照大小或来源不同取名为exosome、microparticle、microvesicle、apoptotic body等,这些微泡中就含有miRNA,其膜结构可以抵抗RNA酶对miRNA的酶切作用,推测这是miRNA能稳定存在于血浆、血清中的主要原因。尽管已有利用微泡中的miRNA作为疾病标志物在非小细胞肺癌^[27]、卵巢癌^[28]以及口腔肿瘤^[29]中的研究报道,但微泡之中成分复杂,除了miRNA之外,还富含蛋白质、DNA和RNA,因此没有很好的对照,很难将某种由微泡导致的生物学效应完全归因于其中的某个miRNA^[30]。Zernecke等^[31]利用miR-126特异性敲除小鼠,巧妙地研究了微泡中miR-126的功能。他们发现内皮细胞释放的微泡中miR-126的含量最高,并且显著高于来源内皮细胞的含量;这些微泡在被内皮细胞接受的同时,将miR-126传递给

受体细胞,miR-126在受体细胞内含量的增加,能通过抑制CXCL12上游的负调控因子RGS16,致CXCL12表达量上调;利用ApoE(-/-)小鼠在高脂餐诱发的动脉粥样硬化动物模型中研究发现,CXCL12表达量增高后,可以促进lin-Sca-1⁺内皮祖细胞在粥样斑块形成之初就募集在斑块周围,进行损伤修复,从而减少斑块面积,防止斑块的形成,维持斑块的稳定。这项研究,首次正面回答了血浆、血清miRNA是否具有生物学活性的问题,并且提供了血浆、血清miRNA研究可供借鉴的思路。

5 结语和展望

血浆、血清miRNA发现至今2年内,在疾病标志物领域的研究取得了丰硕的成果,不仅如此,在血液之外的其他体液,例如唾液^[32]、痰^[33]、尿液^[34]中,以miRNA作为肺癌、口腔肿瘤标志物的研究也显示了很好的价值。相信随着研究的深入和拓展,将会发现越来越多的血浆、血清miRNA作为疾病的诊断和预后的标志物,同时血浆、血清miRNA的功能研究,必将成为标志物研究之后的又一个热点。

[参 考 文 献]

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281-97
- [2] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(30): 10513-8
- [3] 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. *Cell Res*, 2008, 18(10): 997-1006
- [4] Melkonyan HS, Feaver WJ, Meyer E, et al. Transrenal nucleic acids: from proof of principle to clinical tests. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1137: 73-81
- [5] Vlassov W, Laktionov PP, Rykova EY. Circulating nucleic acids as a potential source for cancer biomarkers. *Curr Mol Med*, 2010, 10(2): 142-65
- [6] Ji J, Shi J, Budhu A, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer. *N Engl J Med*, 2009, 361(15): 1437-47
- [7] Huang Z, Huang D, Ni S, et al. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J Cancer*, 2009, 127(1): 118-26
- [8] Ng EK, Chong WW, Jin H, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*, 2009, 58(10): 1375-81
- [9] Wang J, Chen J, Chang P, et al. MicroRNAs in plasma of

- pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease. *Cancer Prev Res: Phila Pa*, 2009, 2(9): 807-13
- [10] Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer*, 2010, 102(7): 1174-9
- [11] Liu CJ, Kao SY, Tu HF, et al. Increase of microRNA miR-31 level in plasma could be a potential marker of oral cancer. *Oral Dis*, 2010, 16(4): 360-4
- [12] 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 Clin Oncol*, 2010, 28(10): 1721-6
- [13] Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*, 2008, 141(5): 672-5
- [14] Tanaka M, Oikawa K, Takanashi M, et al. Down-regulation of miR-92 in human plasma is a novel marker for acute leukemia patients. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5532
- [15] Zhu W, Qin W, Atasoy U, et al. Circulating microRNAs in breast cancer and healthy subjects. *BMC Res Notes*, 2009, 2: 89
- [16] Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, et al. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer. *Ann Surg*, 2010, 251(3): 499-505
- [17] Chim SS, Shing TK, Hung EC, et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem*, 2008, 54(3): 482-90
- [18] Gilad S, Meiri E, Yagev Y, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One*, 2008, 3(9): e3148
- [19] Laterza OF, Lim L, Garrett-Engele PW, et al. Plasma microRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury. *Clin Chem*, 2009, 55(11): 1977-83
- [20] Wang K, Zhang S, Marzolf B, et al. Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(11): 4402-7
- [21] Ji X, Takahashi R, Hiura Y, et al. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem*, 2009, 55(11): 1944-9
- [22] Ai J, Zhang R, Li Y, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 73-7
- [23] Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J*, 2010, 31(6): 659-66
- [24] Vasilescu C, Rossi S, Shimizu M, et al. MicroRNA fingerprints identify miR-150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7405
- [25] Wang JF, Yu ML, Yu G, et al. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(1): 184-8
- [26] Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res*, 2010, 106(6): 1035-9
- [27] Rosell R, Wei J, Taron M. Circulating microRNA signatures of tumor-derived exosomes for early diagnosis of non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*, 2009, 10(1): 8-9
- [28] Taylor DD, Gerceel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 2008, 110(1): 13-21
- [29] Michael A, Bajracharya SD, Yuen PS, et al. Exosomes from human saliva as a source of microRNA biomarkers. *Oral Dis*, 2010, 16(1): 34-8
- [30] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6): 654-9
- [31] Zerneck A, Bidzhekov K, Noels H, et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. *Sci Signal*, 2009, 2(100): ra81
- [32] Park NJ, Zhou H, Elashoff D, et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(17): 5473-7
- [33] Xie Y, Todd NW, Liu Z, et al. Altered miRNA expression in sputum for diagnosis of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2010, 67(2): 170-6
- [34] Hanke M, Hoefig K, Merz H, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urol Oncol*, 2009. [Epub ahead of print]