

文章编号: 1001-764X(2012)10-850-07

循环 microRNA: 潜在的疾病诊断生物标志物*

焦志军(江苏大学附属医院检验科、中心实验室, 镇江市医学免疫学重点实验室, 江苏镇江 210200)



作者简介:焦志军, 副主任技师, 副教授, 博士, 硕士研究生导师。1995年毕业于镇江医学院医学检验专业, 2000~2006年就读上海第二医科大学, 获免疫学博士学位。现为江苏大学附属医院检验科主任兼中心实验室主任, 美国免疫学家协会(AAI)会员, 中华医学会检验医学分会青年委员, 江苏省免疫学会常务理事, 江苏省医学重点人才, 江苏省“333”高层次人才培养对象。主要从事自身免疫性疾病的基础与临床研究, 发表研究论文 50 余篇, 主持两项国家自然科学基金项目及多项省市级科研项目。

摘要:microRNAs (miRNAs) 是一类非编码的内源性小 RNA, 在细胞生长发育、分化、凋亡过程中发挥重要的作用。研究发现 miRNAs 可从细胞内释放, 广泛而稳定地存在于细胞外液, 统称为循环 miRNAs (circulating miRNAs)。在疾病状态下如肿瘤、自身免疫性疾病、心血管疾病等, 其表达谱发生异常改变。miRNAs 作为分子标志物, 克服了蛋白质分子标志物在抗体制备和定量分析上所遇到的瓶颈。而且循环 miRNAs 具有样本易于采集、保存期长及检测手段简便等特点, 临床应用价值也更明显, 已成为生物标志物及转化医学研究的热点领域。

关键词:循环微小 RNA; 生物标志物; 转化医学

中图分类号: Q74; R73

文献标志码: A

microRNAs (miRNAs) 是一类广泛存在于动植物体内的内源性非编码单链 RNA, 由 19~23 个核苷酸组成 (3' 端可有 1~2 个碱基长度的变化)。miRNAs 通过与靶信使核糖核酸 (mRNA) 特异结合抑制转录后基因表达, 在调控基因表达、细胞周期、生物体发育时序等方面发挥重要作用, 具有极其重要的病理和生理意义^[1]。miRNAs 也因此于 2002 年入选《Science》年度十大科学发现之首。过去一直认为 miRNAs 可能被细胞外大量存在的 RNA 酶所降解, 初期研究主要针对细胞内 miRNAs。2008 年, 牛津大学 Lawrie 等^[2]首次报道 B 细胞淋巴瘤血清中 miR-155, miR-210 及 miR-21 增高。随后大量实验证明 miRNAs 可以广泛而稳定地存在于细胞外液, 包括血清、血浆、组织间液及各类体液中, 统称为循环 miRNAs (circulating miRNAs)^[3]。迄今已报道在健康人血液循环中约含有 1 800 多种 miRNAs。循环 miRNAs 作为一种非创伤性检测标志物, 是人类疾病诊断与防治新的研究靶标。目前循环 miRNAs 在肿瘤、心血管病、退行性病变及自身免疫性疾病等疾病中的应用研究已取得重要进展, 现将有关进展作一综述。

1 循环 miRNAs 来源与特点

一般认为, 健康人血液中的 miRNAs 主要来源于血液循环中的各类细胞, 而肿瘤患者血液中的 miRNAs 则主要来源于肿瘤细胞本身, 这也使得循环 miRNAs 成为一类潜在的肿瘤标志物。研究^[4]发现, miRNAs 不仅来源于细胞坏死、凋亡后的被动释放, 同时还来源于有关细胞的主动分泌。极高的稳定性是循环 miRNAs 的重要特点之一, 外周血中高水平的 RNA 酶并不能有效降解内源性的循环 miRNAs。4℃ 或室温保存、反复冻融、长期保存、酸碱处理甚至煮沸均不会影响到血清或血浆 miRNAs 水平, 提示 miRNAs 分子处于一种封闭的保护状态, 但这种保护状态的机制仍不清楚。部分研究推测 miRNAs 分子分布于一类称为微囊的结构中, 包括: 外体 (exosomes)、微粒 (microparticles) 及凋亡小体 (apoptotic bodies)。此类微囊结构不仅协助 miRNAs 由细胞内释放至血液, 而且在血液循环中保护 miRNAs 免受 RNA 酶的降解。进一步研究发现, 细胞培养上清或血浆通过分离微囊并高速离心后, 仍可检测到 miRNAs 的存在, 说明除了微囊结构, miRNAs 还可以其他方式如蛋白质或脂蛋白复合物的形式存在。良好的稳定性以及与多种疾病的相关性使得循环 miRNAs 成为一类理想的疾病诊断标志物^[5]。

* 基金项目: 江苏省科技厅临床医学科技专项 (BL2012057)。

2 循环miRNAs与肿瘤

有关循环miRNAs作为生物标志物的研究目前主要集中于肿瘤,约占总体研究报道的80%左右。Lawrie等^[2]首次报道B细胞淋巴瘤血清中miR-155、miR-210及miR-21增高,且血清miR-21水平高的患者无复发生存期更长。Wong等^[6]发现miR-184不仅高表达于舌鳞状细胞癌组织局部,也表达于外周血中,其水平在手术后显著降低。Mitchell等^[7]用基因芯片和测序技术直接测定前列腺癌患者与小鼠模型血浆中的miRNAs,证实血浆中miR-141可用于前列腺癌的鉴别诊断。我国学者Chen等^[8]也采用Solexa测序技术筛选到一类与肺癌及结直肠癌相

关的循环miRNAs。此类早期的研究为探寻将循环miRNAs表达谱作为疾病诊断、分型和预后判断的生物标志物奠定了重要基础。Wu等^[9-10]报道乳腺癌患者血清中miR-21和miR-29显著升高,可望成为乳腺癌的生物标志物。与健康对照组相比,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者血清中miR-1254、miR-574-5p明显增多,其诊断NSCLC的敏感性和特异性分别为82%和77%。NSCLC患者血浆亦可检测到高水平的miR-21^[11]。可用于肿瘤的早期诊断及预后判断标志物的相关研究,见表1。

表1 循环miRNAs与肿瘤

肿瘤	来源	循环miRNAs	表达水平	参考文献(年度)
结直肠癌	血浆	miR-29a, miR-92	升高	[12](2010)
	血浆	miR-17-3p, miR-92a	升高	[13](2010)
	血浆	miR-141	升高	[14](2011)
	血浆	miR-221	升高	[15](2010)
	血浆/血清	RNU2-1f	升高	[16](2012)
	血清	miR-21	升高	[17](2012)
胃癌	血清	miR-21	升高	[18](2011)
	血浆	miR-17-5p, miR-20a	升高	[19](2012)
	血浆	miR-17-5p, miR-21, miR-106a, miR-106b	升高	[20](2010)
		let-7a	降低	
	血清	miR-1, miR-20a, miR-27a, miR-34a, miR-423-5p	升高	[21](2011)
	血清	miR-93, miR-16	升高	[22](2012)
胰腺癌	血清	miR-187, miR-371-5p, miR-378	升高	[23](2012)
	血浆/血清	RNU2-1f	升高	[16](2012)
	血浆	miR-18a	升高	[24](2011)
	血浆	miR-21, miR-210, miR-155, miR-196a	升高	[25](2009)
	血清	miR-200a, miR-200b	升高	[26](2010)
	血浆	miR-210	升高	[27](2010)
肺癌	血清	miR-125b	升高	[28](2012)
	血清	miR-21, miR-24	升高	[29](2012)
	血浆	miR-155, miR-197, miR-182	升高	[30](2011)
	血浆	miR-21, miR-210	升高	[31](2011)
乳腺癌		miR-486-5p	下降	
	血浆	miR-210	升高	[32](2012)
	全血	miR-202	升高	[33](2012)
	血浆	miR-718	下降	
肝癌	血浆	miR-425	非裔美国人升高	[34](2012)
		miR-302b	美国白种人升高	
	血清	miR-15b, miR-130b	术后下降	[35](2012)
	血清	miR-122	升高	[36](2011)
	血浆	miR-21	升高, 术后下降	[37](2012)
	血清	miR-21, miR-122, miR-223	升高	[38](2011)
卵巢癌	血清	miR-21, miR-92, miR-93, miR-126, miR-29a	升高	[39](2009)
		miR-155, miR-127, miR-99b	降低	
前列腺癌	血浆	miR-141	升高	[40](2011)
	血清	miR-375, miR-141	侵袭性前列腺癌	[41](2011)
	血清	miR-375, miR-378, miR-141	升高	[42](2012)

续表 1

肿瘤	来源	循环miRNAs	表达水平	参考文献(年度)
	血清	miR-141, miR-298, miR-346, miR-375	患者和鼠模型均升高	[43](2012)
	血浆	miR-20a, miR-21, miR-145, miR-221	侵袭性前列腺癌升高	[44](2012)
	血浆	miR-622, miR-1285	高于健康人和良性前列腺增生症	[45](2012)
		let-7c, let-7e, miR-30c	低于健康人和良性前列腺增生症	
食管癌	血浆	miR-107, miR-130, miR-141, miR-2110, miR-301a, miR-326, miR-331-3p, miR-432, miR-484, miR-574-3p, miR-625	升高	[46](2012)
		miR-181a-2	降低	
	miR-155, miR-183	下降	[47](2012)	
	miR-21	升高	[48](2011)	
淋巴瘤	血浆	miR-375	下降	
		miR221 (NK/T 细胞淋巴瘤)	升高	[49](2010)
	血清	miR-155, miR-210, miR-21 (弥漫性大 B 细胞淋巴瘤)	升高	[2](2008)

3 循环miRNAs与自身免疫性疾病

循环miRNAs在众多自身免疫性疾病患者血清/血浆中也呈现特征性改变,一方面可作为疾病的治疗靶点,同时也是一类重要的诊断标志物。Murata等^[50]检测类风湿性关节炎(RA)患者外周血与关节滑液中的6种miRNAs分子表达水平,发现外周血和滑液中miRNAs表达谱不一致。RA患者血浆miR-132明显低于健康人。ROC曲线分析发现,如以67.8 pmol/L作为miR-132 cut off值,其对RA诊断的特异性和敏感性分别为80.7%和83.8%。Wang

等^[51]用miRNAs芯片技术同时检测30例SLE和25例RA患者血浆miRNAs,筛选出8种miRNAs后再用定量PCR法验证,证实miR-21、miR-451、miR-223及miR-16在SLE和RA患者外周血中均升高,而miR-126仅在SLE患者外周血中增多。miR-125a-3p、miR-155及miR-146a在SLE患者外周血中呈降低趋势。SLE患者尿液中miR-200a、miR-200c、miR-141、miR-429及miR-192也明显低于健康人^[52]。除RA和SLE外,其他多种自身免疫性疾病亦发生循环miRNAs表达谱的变化,见表2。

表2 循环miRNAs与自身免疫性疾病

疾病	来源	循环miRNAs	表达水平	参考文献
类风湿关节炎	血浆	miR-132	降低	[50](2010)
	滑膜液	miR-21, miR-451, miR-223, miR-16	升高	[51](2012)
系统性红斑狼疮	血浆	miR-125a-3p, miR-126, miR-155, miR-146a	降低	
		miR-126, miR-21, miR-451, miR-223, miR-16	升高	
	血清	miR-125a-3p, miR-155, miR-146a	降低	[52](2010)
多发性硬化	血清	miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-429, miR-205, miR-192	降低	[53](2010)
	血清	miR-155, miR-146a	降低	[53](2010)
	血清	miR-21, miR-106b	升高	[54](2012)
系统性硬化病	血清	miR-614, miR-572, miR-648, miR-1826, miR-422a, miR-22	升高	[55](2012)
		miR-1979	降低	
	血清	miR-92a	升高	[56](2012)
硬皮病	血清	miR-142-3p	升高	[57](2011)
	血清	miR-29a	降低	[58](2011)
寻常银屑病	血清	miR-1266	升高	[59](2012)
	血清	miR-424	降低	[60](2011)
斑块状银屑病	血清	miR-19a, miR-29a	降低	[61](2011)

4 循环miRNAs与心血管疾病

miRNAs在心脏的生长发育及心血管疾病过程中发挥着重要的作用。Sun等^[62]用qRT-PCR法检

测了 31 例冠心病和 36 例非冠心病患者血浆中的 miR-126, 发现 miR-126 在两组间的表达并无明显差异, 但意外发现 miR-126 在低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 升高的患者血浆中表达水平增高, 而 LDL-C 降低的患者中表达水平降低, 提示 miR-126 与脂类代谢存在一定相关性。

血脂增高对冠心病的发生、发展是一个非常关键的因素, 研究发现血浆 miR-122 和 miR-370 在血脂增高的患者中显著增多, 并且与 TC、TG 及 LDL-C 的水平呈正相关, 提示 miR-122 和 miR-370 与冠心

病的发生有密切关系^[63]。用多元回归分析发现循环 miR-126、miR-223 及 miR-197 与心肌梗死 (MI) 发生有重要的关系。其中, miR-126 与 MI 发病状态呈正相关, 而 miR-223 和 miR-197 表现出负相关^[64]。此外, 循环 miR-208b 和 miR-499 在急性心肌梗死 (AMI) 患者血浆中显著升高, 并且发现 ST 段抬高的 MI 患者比 ST 段正常的 MI 患者表达量高, 二者均和肌酸激酶 (CK) 和肌钙蛋白 (cTnT) 的峰值有关, 93% 患者血浆中可以检测到 miR-499^[65]。提示循环 miRNAs 有望成为心血管疾病新型生物标志物 (表 3)。

表 3 循环miRNAs与心血管疾病

疾病	来源	循环miRNAs	表达水平	参考文献
冠心病	血浆	miR-126	LDL-C 高时表达水平增高, LDL-C 低时表达水平降低	[62] (2012)
原发性高血压	血浆	miR-12, miR-370	血脂增高的患者中表达量显著增加	[63] (2012)
	血浆	miR-296-5p, hcmv-miR-UL112 let-7e	升高 降低	[66] (2011)
心衰	血清	miR-423-5p	升高	[67] (2010)
心肌梗死	血浆	miR-1, miR-223, miR-197	miR-126 与 MI 发病状态呈正相关, 而 miR-223 和 miR-197 表现出负相关。	[64] (2012) [68-70] (2010)
	血浆	miR-208, miR-499	显著升高, 均和 CK 和 cTnT 的峰值有关。	[65] (2012)

5 循环miRNAs与其他疾病

阿尔茨海默病 (AD) 患者及动物模型血清中 miR-137、miR-181c、miR-9、miR-29a 及 miR-29b 均显著降低^[71]。重度肾衰时血浆 miR-210、miR-16 和

miR-21 水平明显降低, 其与肾小球滤过率的相关性高于其他慢性肾病指标 (如贫血和甲状旁腺功能亢进)^[72]。在胆管闭锁、肝损伤、异位妊娠及克罗恩病等疾病中均发现循环 miRNAs 表达的改变 (表 4)。

表 4 循环miRNAs与其他疾病

疾病	来源	循环miRNAs	表达水平	参考文献
阿尔兹海默病	血清	miR-137, miR-181c, miR-9, miR-29a, miR-29b	降低	[71] (2012)
慢性肾病	血浆	miR-210, miR-16, miR-21	降低	[72] (2011)
胆管闭锁	血清	miR-200a, miR-200b, miR-429	升高	[73] (2012)
肝损伤	血清	miR-122	升高	[74] (2012)
		miR-483, miR-711, miR-192	降低	
异位妊娠	血清	miR-323-3p	升高	[75] (2012)
克罗恩病	血清	miR-16, let-7b, miR-195, miR-106a, miR-20a, miR-30e, miR-140, miR-484, miR-93, miR-192, miR-21	升高	[76] (2011)

6 循环miRNAs检测与诊断靶标研究策略

检测循环 miRNAs 的方法主要有: 高通量测序法, miRNAs 芯片法, northern blot 法, qRT-PCR 法。新一代的测序技术在序列未知的情况下可以对 miRNAs 进行分析, 在此基础上发现和鉴定新的 miRNAs 分子, 但测序法价格昂贵, 不适合普通实验室开展。miRNAs 芯片是通过对样本中已知 miRNAs 序列进行的研究, 得出特定的表达谱, 但很难区分前体 miRNAs 和成熟 miRNAs, 所以芯片结果需要用 qRT-PCR 进行确认。northern blot 法步骤繁琐, 需要较多的样本且灵敏度较低, 不适合大批量临床样本

检测。qRT-PCR 是研究 miRNAs 最常用的方法, 可以对循环 miRNAs 定性或者定量检测, 此法操作简便、快速, 且具有较高的灵敏度和特异性^[3]。

循环 miRNAs 诊断靶标研究策略大致分两类: 一类方法是利用 miRNAs 芯片技术对血清/血浆 miRNAs 进行高通量分析, 得到上调明显或者下调明显的两组 miRNAs, 再挑选出若干变化明显的 miRNAs 进行 qRT-PCR 的验证性研究。对验证后的 miRNAs 进行 ROC 曲线分析, 得出诊断某种疾病的敏感性和特异性, 评价其作为分子标志物的价值。该法易于取得原创性结果, 但研究费用较高。另一类方法是筛选前期发现的与疾病相关的细胞内 miRNAs 分子, 研究

在相应疾病状态下,此类 miRNAs 分子是否能释放到血液或体液中,并呈现与疾病进程的相关性,从而作为疾病诊断的标志物。与芯片技术研究相比,此法简便、研究费用低,但研究内容不够全面。

7 循环 miRNAs 作为生物标志物的优点

目前血液中生物标志物主要基于一些特定蛋白质在血液中表达水平的改变,如肌钙蛋白与心血管疾病,癌胚抗原与多种肿瘤,前列腺特异抗原与前列腺癌,转氨酶与肝功能等。但是血液蛋白质组成的复杂性、转录后修饰引起的变异、较低的蛋白质标志物水平、标本稳定性及检验手段的敏感性等在一定程度上制约了进一步寻找新型蛋白质标志物。循环 miRNAs 的发现,弥补了蛋白质标志物的不足。主要表现在:miRNAs 分子在血液及多种体液中非常稳定;大多数 miRNAs 分子在不同物种间进化保守;部分 miRNAs 分子具有器官或生物学发育时段的特异性;有多种高敏感性的检测方法可用于 miRNAs 检测。最具实际临床应用意义的是,目前已发现多种 miRNAs 分子与不同疾病的相关性,包括各种肿瘤、自身免疫性疾病及心血管疾病等。除作为一种诊断或预后判断指标外,还可利用器官特异性 miRNAs 分子来监测相应器官的生理或病理改变。例如,目前常用血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)来评价肝脏功能的损伤程度,但是烧伤、肌肉疾病及甲状腺功能低下均会导致血液 ALT 水平增高,削弱了 ALT 作为肝功能评价的可靠性。研究发现,miR-122 是一个肝脏特异的 miRNAs 分子,其对药物性肝损伤诊断的敏感性和特异性明显高于血清 ALT 检测,因此 miR-122 可作为肝功能评价的新型标志物^[4]。

8 循环 miRNAs 作为生物标志物存在的问题与展望

循环 miRNAs 用作疾病的生物标志物仍存在诸多问题有待解决:(1)目前的研究较为零散、标本量较小,缺乏系统的大样本协作研究,同时由于检测手段与结果判断标准不统一,使得部分研究结果、结论缺少一致性;(2)一种 miRNAs 可在多种疾病中发生表达水平的改变,如 miR-21 在多种肿瘤、RA 及多发性硬化病时均呈现表达量的改变。一种疾病也会出现多种 miRNAs 分子表达改变,因此有待进一步探明多种循环 miRNAs 形成的复杂且呈动态变化的调节网络;(3)最新的研究^[7]还发现血清与血浆 miRNAs 分子表达量与表达谱并不完全一致。目前血清或血浆 miRNAs 产生及转运的机制尚不明确;(4)还缺乏血清/血浆内源性参照 miRNAs,细胞中 miRNAs 研究

所使用的参照并不适用于血清;(5)循环 miRNAs 在外周血中作用的靶分子仍不清楚。这类问题的解决需采用类似于蛋白质组学与基因组学的研究思路,进行系统与动态的基础与临床研究。我国学者较早开展了这方面的研究,如张辰宇等^[78]首次提出植物的 miRNAs 可经食物摄取进入人体血液和组织器官,并调控人体内靶基因表达。北京朝阳医院心脏中心对高血压患者和健康人血浆中的 miRNAs 表达谱进行系统分析,揭示人巨细胞病毒与原发性高血压存在关联^[79]。深圳人民医院临床医学中心提出循环 miRNAs 可作为 SLE 的诊断标志物^[52]等。

相信随着循环 miRNAs 分子的特性、作用机制和临床意义的进一步阐明,循环 miRNAs 也必将成为一类重要的疾病诊断生物标志物。

9 参考文献

- [1] Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers[J]. *Mutat Res*, 2011, 717(1-2):1-8.
- [2] 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[J]. *Br J Haematol*, 2008, 141(5):672-675.
- [3] Reid G, Kirschner MB, van Zandwijk N. Circulating microRNAs: association with disease and potential use as biomarkers[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2011, 80(2):193-208.
- [4] Etheridge A, Lee I, Hood L, *et al.* Extracellular microRNA: a new source of biomarkers[J]. 2011, 717(1-2):85-90.
- [5] Ajit SK. Circulating microRNAs as biomarkers, therapeutic targets, and signaling molecules [J]. *Sensors (Basel)*, 2012, 12(3):3359-3369.
- [6] Wong TS, Liu XB, Wong BY, *et al.* Mature miR-184 as potential oncogenic microRNA of squamous cell carcinoma of tongue [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(9):2588-2592.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Wu Q, Lu Z, Li H, *et al.* Next-generation sequencing of microRNAs for breast cancer detection[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011:597145.
- [10] Asaga S, Kuo C, Nguyen T, *et al.* Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer [J]. *Clin Chem*, 2011, 57(1):84-91.
- [11] 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.
- [12] Huang Z, Huang D, Ni S, *et al.* Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(1):118-126.
- [13] Ng EK, Chong WW, Jin H, *et al.* Differential expression of microR-

- NAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening [J]. *Gut*, 2009, 58 (10): 1375-1381.
- [14] Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, *et al.* Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17745.
- [15] Pu XX, Huang GL, Guo HQ, *et al.* Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal cancer and is correlated with p53 expression[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 25(10): 1674-1680.
- [16] Baraniskin A, Nöpel-Dünnebacke S, Ahrens M, *et al.* Circulating U2 small nuclear RNA fragments as a novel diagnostic biomarker for pancreatic and colorectal adenocarcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2012. doi: 10.1002/ijc.27791.
- [17] Wang B, Zhang Q. The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(10): 1659-1666.
- [18] Zheng Y, Cui L, Sun W, *et al.* MicroRNA-21 is a new marker of circulating tumor cells in gastric cancer patients[J]. *Cancer Biomark*, 2011, 10(2): 71-77.
- [19] Wang M, Gu H, Wang S, *et al.* Circulating miR-17-5p and miR-20a: molecular markers for gastric cancer[J]. *Mol Med Report*, 2012, 5(6): 1514-1520.
- [20] Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, *et al.* Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(7): 1174-1179.
- [21] Liu R, Zhang C, Hu Z, *et al.* A five-microRNA signature identified from genome-wide serum microRNA expression profiling serves as a fingerprint for gastric cancer diagnosis[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(5): 784-791.
- [22] Song J, Bai Z, Han W, *et al.* Identification of suitable reference genes for qPCR analysis of serum microRNA in gastric cancer patients[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(4): 897-904.
- [23] Liu H, Zhu L, Liu B, *et al.* Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2012, 316(2): 196-203.
- [24] Morimura R, Komatsu S, Ichikawa D, *et al.* Novel diagnostic value of circulating miR-18a in plasma of patients with pancreatic cancer[J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(11): 1733-1740.
- [25] Wang J, Chen J, Chang P, *et al.* MicroRNAs in plasma of pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2009, 2(9): 807-813.
- [26] Li A, Omura N, Hong SM, *et al.* Pancreatic cancers epigenetically silence SIP1 and hypomethylate and overexpress miR-200a/200b in association with elevated circulating miR-200a and miR-200b levels[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(13): 5226-5237.
- [27] Ho AS, Huang X, Cao H, *et al.* Circulating miR-210 as a novel hypoxia marker in pancreatic cancer[J]. *Transl Oncol*, 2010, 3(2): 109-113.
- [28] Yuxia M, Zhennan T, Wei Z. Circulating miR-125b is a novel biomarker for screening non-small-cell lung cancer and predicts poor prognosis[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012.
- [29] Le HB, Zhu WY, Chen DD, *et al.* Evaluation of dynamic change of serum miR-21 and miR-24 in pre- and post-operative lung carcinoma patients[J]. *Med Oncol*, 2012.
- [30] Zheng D, Haddadin S, Wang Y, *et al.* Plasma microRNAs as novel biomarkers for early detection of lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2011, 4(6): 575-586.
- [31] Shen J, Liu Z, Todd NW, *et al.* Diagnosis of lung cancer in individuals with solitary pulmonary nodules by plasma microRNA biomarkers[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 374.
- [32] Jung EJ, Santarpia L, Kim J, *et al.* Plasma microRNA-210 levels correlate with sensitivity to trastuzumab and tumor presence in breast cancer patients[J]. *Cancer*, 2012, 118(10): 2603-2614.
- [33] Schrauder MG, Strick R, Schulz-Wendtland R, *et al.* Circulating micro-RNAs as potential blood-based markers for early stage breast cancer detection[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29770.
- [34] Zhao H, Shen J, Medico L, *et al.* A pilot study of circulating miRNAs as potential biomarkers of early stage breast cancer[J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13735.
- [35] Liu AM, Yao TJ, Wang W, *et al.* Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study [J]. *BMJ Open*, 2012, 2(2): e000825.
- [36] Qi P, Cheng SQ, Wang H, *et al.* Serum microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28486.
- [37] Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, *et al.* Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(1): 167-175.
- [38] Xu J, Wu C, Che X, *et al.* Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis[J]. *Mol Carcinog*, 2011, 50(2): 136-142.
- [39] Resnick KE, Alder H, Hagan JP, *et al.* The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform[J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 112(1): 55-59.
- [40] Gonzales JC, Fink LM, Goodman OB Jr, *et al.* Comparison of circulating MicroRNA 141 to circulating tumor cells, lactate dehydrogenase, and prostate-specific antigen for determining treatment response in patients with metastatic prostate cancer [J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2011, 9(1): 39-45.
- [41] Brase JC, Johannes M, Schlomm T, *et al.* Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer[J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(3): 608-616.
- [42] Nguyen HC, Xie W, Yang M, *et al.* Expression differences of circulating microRNAs in metastatic castration resistant prostate cancer and low-risk, localized prostate cancer[J]. *Prostate*, 2012. doi: 10.1002/pros.22572.
- [43] Selth LA, Townley S, Gillis JL, *et al.* Discovery of circulating microRNAs associated with human prostate cancer using a mouse model of disease[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(3): 652-661.
- [44] Shen J, Hruby GW, McKiernan JM, *et al.* Dysregulation of circulating microRNAs and prediction of aggressive prostate cancer [J]. *Prostate*, 2012, 72(13): 1469-1477.
- [45] Chen ZH, Zhang GL, Li HR, *et al.* A panel of five circulating microRNAs as potential biomarkers for prostate cancer [J]. *Prostate*, 2012, 72(13): 1443-1452.

- [46] Bryant RJ, Pawlowski T, Catto JW, *et al.* Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012,106(4):768-774.
- [47] Liu R, Liao J, Yang M, *et al.* Circulating miR-155 expression in plasma: a potential biomarker for early diagnosis of esophageal cancer in humans[J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2012,75(18):1154-1162.
- [48] Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, *et al.* Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2011,105(1):104-111.
- [49] Guo HQ, Huang GL, Guo CC, *et al.* Diagnostic and prognostic value of circulating miR-221 for extranodal natural killer/T-cell lymphoma[J]. *Dis Markers*, 2010,29(5):251-258.
- [50] Murata K, Yoshitomi H, Tanida S, *et al.* Plasma and synovial fluid microRNAs as potential biomarkers of rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2010,12(3):R86.
- [51] Wang H, Peng W, Ouyang X, *et al.* Circulating microRNAs as candidate biomarkers in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Transl Res*, 2012,160(3):198-206.
- [52] Wang G, Tam LS, Li EK, *et al.* Serum and urinary free microRNA level in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2011,20(5):493-500.
- [53] Wang G, Tam LS, Li EK, *et al.* Serum and urinary cell-free MiR-146a and MiR-155 in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *J Rheumatol*, 2010,37(12):2516-2522.
- [54] Thamilarasan M, Koczan D, Hecker M, *et al.* MicroRNAs in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *Autoimmun Rev*, 2012,11(3):174-179.
- [55] Siegel SR, Mackenzie J, Chaplin G, *et al.* Circulating microRNAs involved in multiple sclerosis[J]. *Mol Biol Rep*, 2012,39(5):6219-6225.
- [56] Sing T, Jinnin M, Yamane K, *et al.* microRNA-92a expression in the sera and dermal fibroblasts increases in patients with scleroderma[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2012,51(9):1550-1556.
- [57] Makino K, Jinnin M, Kajihara I, *et al.* Circulating miR-142-3p levels in patients with systemic sclerosis[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2012,37(1):34-39.
- [58] Kawashita Y, Jinnin M, Makino T, *et al.* Circulating miR-29a levels in patients with scleroderma spectrum disorder[J]. *J Dermatol Sci*, 2011,61(1):67-69.
- [59] Ichihara A, Jinnin M, Oyama R, *et al.* Increased serum levels of miR-1266 in patients with psoriasis vulgaris[J]. *Eur J Dermatol*, 2012,22(1):68-71.
- [60] Ichihara A, Jinnin M, Yamane K, *et al.* microRNA-mediated keratinocyte hyperproliferation in psoriasis vulgaris[J]. *Br J Dermatol*, 2011,165(5):1003-1010.
- [61] Oyama R, Jinnin M, Kakimoto A, *et al.* Circulating microRNA associated with TNF-alpha signaling pathway in patients with plaque psoriasis[J]. *J Dermatol Sci*, 2011,61(3):209-211.
- [62] Sun X, Zhang M, Sanagawa A, *et al.* Circulating microRNA-126 in patients with coronary artery disease: correlation with LDL cholesterol[J]. *Thromb J*, 2012,10(1):16.
- [63] Gao W, He HW, Wang ZM, *et al.* Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patients with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease[J]. *Lipids Health Dis*, 2012,11:55.
- [64] Zampetaki A, Willeit P, Tilling L, *et al.* Prospective study on circulating microRNAs and risk of myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012,60(4):290-299.
- [65] Devaux Y, Vausort M, Goretti E, *et al.* Use of circulating microRNAs to diagnose acute myocardial infarction[J]. *Clin Chem*, 2012,58(3):559-567.
- [66] Yu LP, Shi LY, Zhang MM, *et al.* MicroRNA expression profile and pathogenetic initial study in essential hypertension[J]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2011,39(6):488-493.
- [67] Goren Y, Kushnir M, Zafrir B, *et al.* Serum levels of microRNAs in patients with heart failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2012,14(2):147-154.
- [68] D' Alessandra Y, Devanna P, Limana F, *et al.* Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction[J]. *Eur Heart J*, 2010,31(22):2765-2773.
- [69] Cheng Y, Tan N, Yang J, *et al.* A translational study of circulating cell-free microRNA-1 in acute myocardial infarction[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2010,119(2):87-95.
- [70] Ai J, Zhang R, Li Y, *et al.* Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010,391(1):73-77.
- [71] Geekiyana H, Jicha GA, Nelson PT, *et al.* Blood serum miRNA: non-invasive biomarkers for Alzheimer's disease[J]. *Exp Neurol*, 2012,235(2):491-496.
- [72] Neal CS, Michael MZ, Pimlott LK, *et al.* Circulating microRNA expression is reduced in chronic kidney disease[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011,26(11):3794-3802.
- [73] Zahm AM, Hand NJ, Boateng LA, *et al.* Circulating microRNA is a biomarker of biliary atresia[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2012,55(4):366-369.
- [74] Ding X, Ding J, Ning J, *et al.* Circulating microRNA-122 as a potential biomarker for liver injury[J]. *Mol Med Report*, 2012,5(6):1428-1432.
- [75] Zhao Z, Zhao Q, Warrick J, *et al.* Circulating microRNA miR-323-3p as a biomarker of ectopic pregnancy[J]. *Clin Chem*, 2012,58(5):896-905.
- [76] Zahm AM, Thayu M, Hand NJ, *et al.* Circulating microRNA is a biomarker of pediatric Crohn disease[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2011,53(1):26-33.
- [77] Wang K, Yuan Y, Cho JH, *et al.* Comparing the microRNA spectrum between serum and plasma[J]. *PLoS One*, 2012,7(7):e41561.
- [78] Zhang L, Hou D, Chen X, *et al.* Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA[J]. *Cell Res*, 2012,22(1):107-126.
- [79] Li S, Zhu J, Zhang W, *et al.* Signature microRNA expression profile of essential hypertension and its novel link to human cytomegalovirus infection[J]. *Circulation*, 2011,124(2):175-184.

(收稿日期:2012-08-31)

(本文编辑:许晓蒙,陈维忠)