

- a, 1992-1993; results of population-based laboratory active surveillance[J]. Clin Infect Dis, 1998, 27(5): 1138-1147.
- [4] Denning DW, Hope WW. Therapy for fungal diseases: opportunities and priorities[J]. Trends Microbiol, 2010, 18(5): 195-204.
- [5] Crump JA, Ramadhani HO, Morrissey AB, et al. Invasive bacterial and fungal infections among hospitalized HIV-infected and HIV-uninfected children and infants in northern Tanzania[J]. Trop Med Int Health, 2011, 16(7): 830-837.
- [6] Huang L, Crothers K. HIV-associated opportunistic pneumonias[J]. Respiriology, 2009, 14(4): 474-485.
- [7] 曾常红, 谢婷, 李希清, 等. HIV/AIDS 合并真菌感染情况调查与分析[J]. 华南预防医学, 2009, 35(2): 46-47.
- [8] Shen YZ, Qi TK, Ma JX, et al. Invasive fungal infections among inpatients with acquired immune deficiency syndrome at a Chinese university hospital[J]. Mycoses, 2007, 50(6): 475-480.
- [9] 马东, 朱泽平. 5 例组织胞浆菌病的诊断与治疗[J]. 临床医药实践, 2009, 2(8): 1497-1498.
- [10] 陈媛媛, 刘春礼, 赵清霞, 等. 未接受 HAART 的 HIV/AIDS 患者血清隐球菌抗原阳性率调查[J]. 传染病信息, 2012, 25(6): 353-355.
- [11] 杨根东, 陆普选, 黄华, 等. 艾滋病合并念珠菌食管炎的影像学表现与 CD4⁺ T 淋巴细胞计数的关系[J]. 中国中西医结合影像学杂志, 2013, 11(1): 7-8.
- [12] Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, et al. Diagnostic accuracy of serum 1, 3- β -D-glucan for pneumocystis jiroveci pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(1): 7-15.
- [13] Sendid B, Francois N, Decool V, et al. Strategy for overcoming serum interferences in detection of serum (1, 3)- β -D-glucans[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(1): 375-376.
- [14] Kedzierska A, Kochan P, Pietrzyk A, et al. Current status of fungal cell wall components in the immunodiagnostics of invasive fungal infections in humans: galactomannan, mannan and (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan antigens[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2007, 26(11): 755-766.
- [15] 张晓艳, 董方, 赵顺英, 等. 血浆 1, 3- β -D 葡聚糖检测对儿童侵袭性真菌感染诊断价值[J]. 中国循证儿科杂志, 2012, 7(3): 192-195.
- [16] 黄素钦, 李圣聪, 吴秋芳. (1, 3)- β -D 葡聚糖检测对 AIDS 患者真菌感染诊断的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(9): 1169-1170.
- [17] Yin Z, Rice BD, Waight P, et al. Invasive pneumococcal disease among HIV-positive individuals, 2000-2009 [J]. AIDS, 2012, 26(1): 87-94.
- [18] Azie N, Neofytos D, Pfaller M, et al. The PATH (prospective antifungal therapy) alliance registry and invasive fungal infections: update 2012[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012, 73(4): 293-300.
- [19] 王彦艳, 萧晨璐, 李军民, 等. 血清半乳甘露聚糖抗原检测在血液病患者侵袭性曲霉病诊断中的应用价值[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(6): 498-501.
- [20] Kourkoumpetis TK, Fuchs BB, Coleman JJ, et al. Polymerase chain reaction-based assays for the diagnosis of invasive fungal infections[J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(9): 1322-1331.
- [21] Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(2): 665-670.
- [22] Thornton CR. Development of an immunochromatographic lateral-flow device for rapid serodiagnosis of invasive aspergillosis[J]. Clin Vaccine Immunol, 2008, 15(7): 1095-1105.
- [23] White PL, Parr C, Thornton C, et al. Evaluation of real-time PCR, galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and a novel lateral-flow device for diagnosis of invasive aspergillosis[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(5): 1510-1516.

(收稿日期: 2013-11-17)

• 综 述 •

胞外 microRNA 的生成与转运机制研究进展*

徐娇阳^{1,2}, 姜 婧²综述, 桂俊豪^{2△}, 余伍忠^{1,2▲}审校

(1. 石河子大学医学院, 新疆 石河子 832000; 2. 兰州军区乌鲁木齐

总医院临床医学研究所, 新疆 乌鲁木齐 830000)

关键词: 微 RNAs; 生物学标记; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 06. 027

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)06-0715-04

MicroRNA(miRNA)是一类长约 22 bp 的小分子非编码单链 RNA。作为一类基因表达调控分子, 绝大多数 miRNA 存在于细胞内, 通过与靶 mRNA 的 3'-非翻译区(3'-UTR)互补结合而介导抑制 mRNA 的翻译, 从转录后水平参与基因表达调控。除作为胞内基因表达调控分子之外, 近年研究发现,

血清、血浆、唾液和尿液等细胞外体液中稳定地存在着大量的 miRNA, 是为胞外 miRNA。其中, 血清、血浆中的 miRNA 被称为循环 miRNA, 其异常表达与肿瘤等疾病密切相关, 因此可能成为一类新型的疾病诊断或预警生物标志物。近年来, 人们提出了多种关于胞外 miRNA 生成及转运的可能机制。

* 基金项目: 兰州军区医药卫生科研计划课题(CLZ12JA12); 自治区青年科技人才专项科研课题(2013QK016); 医院博士返院后续课题(2013ZY001)。 作者简介: 徐娇阳, 女, 硕士研究生在读, 主要从事分子生物学检验诊断研究。 △ 通讯作者, E-mail: Junhaog@gmail. com;

▲ 通讯作者, E-mail: wuzhong. yu@yahoo. com. cn。

1 胞内 miRNA 的被动释放

研究表明,细胞损伤、凋亡或组织坏死时,能直接导致细胞内 miRNA 被动释放进入血液循环,因此成为可能反映组织损伤的分子标志物。例如,有多位学者研究了肝脏损伤时循环 miRNA 表达的变化,其中 Bala 等^[1]检测了慢性丙型肝炎病毒感染患者血清以及外周血单核细胞中的 miR-122、miR-155、miR-146a 和 miR-125b 的含量,发现 miR-122 和 miR-155 表达水平升高与炎症性肝细胞损伤程度呈正相关;其中,血浆 miR-122 可能是肝细胞损伤而释放,而丙型肝炎病毒感染患者血清中 miR-155 表达升高可能由免疫细胞释放和肝细胞损伤共同导致。Wang 等^[2]基于药物诱导肝损伤模型,发现小鼠血浆中 miR-122 和 miR-192 的表达水平显著升高,说明肝细胞损伤能够直接导致细胞内 miRNA 被释放至血浆中,其灵敏度高于传统的谷丙转氨酶(ALT),对此,Starkey 等^[3]推测 miR-122 的释放可能分两个阶段:早期由能量依赖的转运,随后则是大量细胞坏死后泄漏。

在研究急性心肌梗死(AMI)时,Li 等^[4]发现早期 AMI 时心脏特异表达的 miR-1、miR-133a、miR-208b 和 miR-499 表达即显著上调。Ai 等^[5]亦发现,AMI 患者血浆中 miR-1 的表达水平显著高于对照组,并且用药后恢复至正常。鉴于 miR-1 在心肌中含量丰富且特异表达,认为 AMI 患者血液循环中 miR-1 显著升高源于坏死的心肌细胞的直接释放。除此之外,miRNA 亦能由死亡的肿瘤细胞释放进入血液中。例如,Roth 等^[6]提到凋亡或坏死的肿瘤细胞除能释放 DNA 和 RNA,还能够释放 miRNA 进入循环中。

2 胞内 miRNA 的主动释放途径

2.1 经微囊泡(MVs)的主动分泌

MVs 包括外泌体和脱落囊泡(SVs),其中,外泌体(直径 40~100 nm)包含在微囊泡小体(MVBs)中并通过质膜融合的胞吐作用产生并释放至胞外;脱落囊泡(直径小于 1 μ m)是由微囊泡的质膜直接出芽产生并被释放进入循环中;微粒(MPs)则是来源于血小板和单核细胞等细胞的脱落囊泡^[7]。

通过 100 000×g 超高速离心,人们从体液或细胞培养上清中能够分离出 MVs。研究表明,MVs 中的内容物包括脂质、mRNA、miRNA 和蛋白质等,而且几乎所有类型的细胞都能主动分泌出包裹有 miRNA 的膜性囊泡至细胞外。进一步研究发现,大多数 MVs 中的 miRNA 与 Ago2 蛋白(1 种 miRNA 介导的基因沉默复合体的功能蛋白)结合,说明这些与 Ago2 结合的 miRNA 是具有功能活性的^[8-9],因此,MVs 膜性囊泡中的 miRNA 可能发挥类似激素或旁分泌作用的基因表达调控分子而发挥生物学功能。多项实验证实,miRNA 能被许多类型的细胞包裹进入外泌体、微囊泡和凋亡小体等脂质性囊泡中,加入去污剂破坏脂质性囊泡结构后将导致囊泡内 RNA 被迅速降解^[10]。有学者认为,血清中可检测到的大部分 miRNA 被包裹于 MVs 内,而且 MVs 对 miRNA 的转运具有十分重要的作用。Skog 等^[11]发现,将 MVs 暴露于 RNA 酶 A 的环境时,MVs 内 RNA 含量仅下降 7%,提示大部分 RNA 都包裹在 MVs 中从而免受 RNA 酶降解;Gallo 等^[12]将新鲜和冻存的人血清及唾液超速离心后分离外泌体,检测发现血清和唾液中大部分 miRNA 存在于外泌体中;但也有学者通过分子筛层析色谱技术和免疫沉淀法,检测到大部分循环 miRNA 并非

存在于 MVs 内,而是与 Ago2 蛋白结合形成 Ago2-miRNA 复合物而稳定存在于血液循环中^[8-9]。

已有研究发现,MVs 能够以其表面蛋白分子作为配体而靶向性地向受体细胞转运具有活性的蛋白质、mRNA、miRNA 等^[13]。Zhang 等^[14]证实 THP1 单核细胞和巨噬细胞的 MVs 能将 FITC 标记的外源性 miR-150 转运至培养的 HMEC-1 内皮细胞,从而下调 HMEC-1 细胞 c-Myb 基因表达并且增加 HMEC-1 细胞的迁移,进一步实验表明,静脉注射 THP-1 源性 MVs 能明显提高小鼠体内循环 miR-150 的含量,而动脉粥样硬化患者的血浆中的 MVs 中含有大量的 miR-150。Jing 等^[15]随后证明,以 MVs 为转运载体,单核细胞分泌的 miR-150 可作用于内皮细胞而促进新生血管生成,因此也提供了一种基于 miRNA 的新的疾病治疗思路。Ismail 等^[16]研究发现,巨噬细胞源性 MVs 中包含的 miR-223 等 miRNA 能够转运到单核细胞、内皮细胞、上皮细胞以及成纤维细胞中发挥相应的生物学功能。Gidlöf 等^[17]认为血小板内源性 miRNA 需经囊泡的形式才能有效释放并转运到内皮细胞中,研究发现,荧光标记的 miRNA 和外源性线虫 miRNA 能够经由活化血小板被高效的转运到内皮细胞系内,当加入 brefeldin A(血小板微粒释放抑制剂)后,miRNA 的转运能完全被抑制,因此说明 miRNA 的释放具有囊泡依赖性。业已表明,血小板包含有大量且多样的 miRNA,血小板源性的 MPs 也是循环系统中最丰富的 MVs。Laffont 等^[18]亦证实,激活的血小板能够释放出包含有 miRNA 等生物活性物质的膜性微粒并转运到受体细胞中发挥生物效应。

2.2 经外泌体的主动分泌

外泌体是一种大小均一、直径约为 40~100 nm 的囊性小体^[7],存储于晚期核内体的多囊泡小体内,通过与细胞膜融合而释放。当细胞受到刺激时,发生核内体出芽,此过程受钙内流、钙蛋白酶和细胞骨架重构以及鞘磷脂酶 2 (nSMase2)活性的调控。其中,作为神经酰胺合成的限速酶,nSMase2 控制着外泌体的释放^[19]。外泌体含有大量的 miRNA,Valadi 等^[20]曾首次报道外泌体可将细胞内 miRNA 转运至细胞外循环及受体细胞内发挥作用。借助 COS7 和 HEK293 细胞,Kosaka 等^[10]证实,miRNA 可通过一种神经酰胺依赖的分泌机制释放,当 nSMase2 被抑制剂或小干扰 RNA 抑制时,miRNA 的分泌明显减少,而 nSMase2 的过表达可使胞外 miRNA 含量增加。Gibbins 等^[21]提出,miRNA 装载进入外泌体可能是并不是一个随机事件而是受 RNA 诱导的沉默复合物(RISC)的特殊蛋白控制的选择性过程,而 nSMase2 可能是决定因素之一。Valadi 等^[20]发现肥大细胞源性的外泌体运载有 121 种不同的 miRNA,其中一些 miRNA 在外泌体中的含量相对其源细胞更高,据此推测 miRNA 借助一种主动选择机制进入外泌体中。Yang 等^[22]发现荧光素标记的外源性 miRNA 能够从 IL-4 激活的巨噬细胞“穿梭”到共培养但并未有直接接触的乳腺癌细胞中,促进共培养的 SKBR3 和 MDA-MB-231 细胞显著增殖、侵袭,而从巨噬细胞释放的外泌体中能够检测到巨噬细胞特异性 miR-223,当采用反义寡核苷酸(ASO)抑制 miR-223 后,共培养的乳腺癌细胞的侵袭性减低,因此说明巨噬细胞源性外泌体介导了具有致癌作用的 miR-223 在细胞间的转运。Ohshima 等^[23]发现胃癌细胞株 AZ-P7a 源性外泌体富含 Let-7 族的 miRNA,可能在胃癌细

胞克隆形成和转移中发挥重要作用。Levenan 等^[24]在哮喘患者和健康对照的支气管肺泡灌洗液的外泌体中均检测到了 miRNA 的存在。Pegtel 等^[25]证实,外泌体 miRNA 能够促进病毒感染,通过 EB 病毒感染的 B 细胞与未感染的树突状细胞的共培养,发现 EB 病毒 miRNA(EBV-miRNA)通过外泌体的转运而积聚,并且影响与其共培养的未感染细胞 CXCL11 基因的表达。Ohno 等^[26]研究证实外泌体在体内可将抗肿瘤的 miRNA 转运至乳腺癌细胞,并据此提出外泌体可作为药物传递系统的载体。Wang 等^[27]证实 B 细胞、T 细胞、树突状细胞(DC)的外泌体含有不同的 miRNA。Montecalvo 等^[28]认为,DC 之间的相互作用可能通过外泌体穿梭 miRNA 而介导。

2.3 经凋亡小体主动释放途径 细胞凋亡是一种由基因控制的细胞有序自主死亡过程,凋亡小体是细胞凋亡时经细胞膜内陷而将细胞自行分割成多个外有膜包裹、内容物不外泄的小体,直径约为 0.5~2.0 μm ^[29]。现已发现,在发生动脉粥样硬化时,凋亡小体被释放到循环中。Zernecke 等^[30]在小鼠动脉粥样硬化的动物模型中,发现由凋亡小体运载的 miR-126 能向血管受体细胞传递旁分泌信号而诱发 CXCL12 的产生,从而抑制动脉粥样硬化而发挥保护血管作用。

2.4 经脱落囊泡释放途径 在细胞生物学中,囊泡指一类体积相对较小的细胞内囊状构造,这些囊泡外围由至少 1 层的脂质双层分子膜构成,用来存放、消化或传递物质。据文献^[7]报道可将直接从质膜出芽的直径小于 1 μm 的囊泡均归结为脱落囊泡,可来源于神经细胞、成纤维细胞、肿瘤细胞、血小板、单核细胞和树突状细胞等,在 Ca^{2+} 等刺激下,静息细胞也可产生脱落囊泡。微粒(MPs)是一种可归类于脱落囊泡的膜性小体。如前所述,血小板源性 MPs 是血液循环中含量最丰富的 MPs,因此也是循环 miRNA 的重要载体之一^[17]。基于对 THP-1 细胞和 HUVECs 细胞进行二代测序及对血小板源性 MPs 进行 qRT-PCR,Diehl 等^[31]发现 MPs 中 miRNA 的表达水平与其母体细胞截然不同,受刺激和未受刺激的母体细胞 MPs 中的 miRNA 表达水平也有显著不同,据此认为 miRNA 进入 MPs 的过程是一个主动包裹的过程。

3 HDL 介导的 miRNA 转运

最近发现,作为胆固醇逆向转运的载体,高密度脂蛋白胆固醇(HDL)还是 miRNA 运载体之一^[32]。与人工基因运载工具类似,天然 HDL 能作为血浆中循环 miRNA 的载体或仓库,并依赖于 B 类 I 型清道夫受体促进内源性 miRNA 向受体细胞的转运。实验显示,人类血浆 HDL-miRNA 复合体的表达水平在家族性高胆固醇血症患者和健康对照的人群显著不同,而且 HDL 介导的 miRNA 的转运也受 nSMase2 和神经酰胺依赖途径调控。前文述及^[10],nSMase2 的过表达和神经酰胺途径的激活能够诱导外泌体的释放以及 miRNA 的转运。而与之相反,HDL 介导的 miRNA 的转运是随着 nSMase2 的水平增高而受到抑制。因此,nSMase2 的表达高低或许是 miRNA 选择通过外泌体分泌还是通过 HDL 结合转运的分支点^[32]。

在计算 HDL-miR 占总循环 miRNA 池的百分比时,Wagner 等^[33]发现 miR-126、miR-378、miR-223 相比于其他 miRNA 能更为有效的与 HDL 结合,说明 HDL-miRNA 的结合具有特异性;另外,与 HDL 结合浓度最高的 miR-223 仅占总循环

miRNA 的 8%,表明大多数循环 miRNA 并非与 HDL 相关联,而且,HDL 相关 miRNA 并未被内皮细胞、平滑肌细胞及外周血单核细胞有效的摄取,其生物功能尚待进一步研究。

4 Ago2 介导的 miRNA 转运形式

研究表明,经过蛋白酶 K 处理后,miRNA 对 RNA 酶极其敏感。前文提到^[8-9],大多数血浆 miRNA 与 Ago2 蛋白结合而得到保护。Turchinovich 等^[9]利用超速离心法和蛋白免疫印迹法证实细胞外 miRNA 是非囊泡来源,并与 Ago2 蛋白相关联的,其以 Ago2 蛋白-miRNA 复合物的形式稳定存在于细胞外间隙。进一步研究发现^[34],血浆 miRNA 主要是与 Ago1 和 Ago2 相关联的。然而,除 miR-222 主要是与 Ago1 相关联而存在,其余 Ago1 中 miRNA 的含量均显著低于 Ago2。Li 等^[35]证实细胞分泌的 MVs 中,Ago2 蛋白复合物和 MVs 分别为 miRNA 提供了特异性和非特异性的保护作用,借助 miR-16 探针及免疫共沉淀,确定 Ago2 是 miR-16 的一个主要的相关蛋白,而且,相对于裸露的 miR-16,Ago2 相关的 miR-16 对 RNA 酶的耐受呈现剂量和时间依赖性,而当 miR-16/Ago2 复合物被吡啶黄破坏后,miR-16 对 RNA 酶的耐受力降低。类似的相互关系还体现在 miR-223/Ago2 复合物中。Guduric 等^[36]发现特异的内源性 miR-451 可选择性通过 Ago2 相关的途径释放并转运。最近,Xu 等^[37]研究发现一种由神经元细胞轴突末端分泌并主动释放的非囊泡性 Ago2 相关的 miRNA,去极化能够刺激 miRNA 通过胞吐作用分泌,其作用类似于神经递质的释放。

5 展望

胞外 miRNA 尤其是循环 miRNA 作为一种潜在的疾病诊断或预警生物标志物已经备受关注,而阐明 miRNA 的释放及转运机制对于理解并发现有价值的 miRNA 作为疾病生物标志物极为重要。目前,人们已经发现一些可能作为疾病诊断、预警及预后标志物的循环 miRNA,然而,细胞内源性 miRNA 分泌或释放到细胞外的途径复杂多样,目前来看,尚难以将 miRNA 的分泌、转运方式完全归结于某一种特定途径,随着更为有效的数据挖掘办法的应用,借助采取“组”学和“谱”学的研究方法,有助于推进 miRNA 作为生物标志物的应用研究。

参考文献

- [1] Bala S, Tilahun Y, Taha O, et al. Increased microRNA-155 expression in the serum and peripheral monocytes in chronic HCV infection[J]. J Transl Med, 2012, 10(1): 151.
- [2] Wang K, Zhang S, Marzolf B, et al. Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(11): 4402-4407.
- [3] Starkey Lewis PJ, Merz M, Couttet P, et al. Serum microRNA biomarkers for drug-induced liver injury[J]. Clin Pharmacol Ther, 2012, 92(3): 291-293.
- [4] Li YQ, Zhang MF, Wen HY, et al. Comparing the diagnostic values of circulating microRNAs and cardiac troponin T in patients with acute myocardial infarction[J]. Clinics (Sao Paulo), 2013, 68(1): 75-80.
- [5] 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.

- [6] Roth C, Rack B, Müller V, et al. Circulating microRNAs as blood-based markers for patients with primary and metastatic breast cancer[J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(6):R90.
- [7] Cocucci E, Racchetti G, Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more[J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(2):43-51.
- [8] Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs Independent of vesicles in human plasma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(12):5003-5008.
- [9] Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, et al. Characterization of extracellular circulating microRNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(16):7223-7233.
- [10] Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, et al. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(23):17442-17452.
- [11] Skog J, Würlinger T, van Rijn S, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers[J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(12):1470-1476.
- [12] Gallo A, Tandon M, Alevizos I, et al. The majority of microRNAs detectable in serum and saliva is concentrated in exosomes[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e30679.
- [13] Ahmed KA, Xiang J. Mechanisms of cellular communication through intercellular protein transfer[J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(7):1458-1473.
- [14] Zhang Y, Liu D, Chen X, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration[J]. *Mol Cell*, 2010, 39(1):133-144.
- [15] Li J, Zhang Y, Liu Y, et al. Microvesicle-mediated transfer of microRNA-150 from monocytes to endothelial cells promotes angiogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(32):23586-23596.
- [16] Ismail N, Wang Y, Dakhllallah D, et al. Macrophage microvesicles induce macrophage differentiation and miR-223 transfer [J]. *Blood*, 2013, 121(6):984-995.
- [17] Gidlöf O, van der Brug M, Ohman J, et al. Platelets activated during myocardial infarction release functional miRNA, which can be taken up by endothelial cells and regulate ICAM1 expression[J]. *Blood*, 2013, 121(19):3908-3917.
- [18] Laffont B, Corduan A, Plé H, et al. Activated platelets can deliver mRNA regulatory Ago2-microRNA complexes to endothelial cells via microparticles[J]. *Blood*, 2013, 122(2):253-261.
- [19] Zampetaki A, Willeit P, Drozdov I, et al. Profiling of circulating microRNAs: from single biomarkers to re-wired networks[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(4):555-562.
- [20] Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6):654-659.
- [21] Gibbins DJ, Ciaudo C, Erhardt M, et al. Multivesicular bodies associate with components of miRNA effector complexes and modulate miRNA activity[J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(9):1143-1149.
- [22] Yang M, Chen J, Su F, et al. Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10(1):117.
- [23] Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, et al. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line[J]. *PLoS One*, 2010, 5(10):e13247.
- [24] Levänen B, Bhakta NR, Torregrosa Paredes P, et al. Altered microRNA profiles in bronchoalveolar lavage fluid exosomes in asthmatic patients[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(3):894-903.
- [25] Pegtel DM, Cosmopoulos K, Thorley-Lawson DA, et al. Functional delivery of viral miRNAs via exosomes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(14):6328-6333.
- [26] Ohno S, Takanashi M, Sudo K, et al. Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver antitumor microRNA to breast Cancer cells[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(1):185-191.
- [27] Wang J, Wang L, Lin Z, et al. More efficient induction of antitumor T cell immunity by exosomes from CD40L gene-modified lung tumor cells[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(1):125-131.
- [28] Montecalvo A, Larregina AT, Shufesky WJ, et al. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes[J]. *Blood*, 2012, 119(3):756-766.
- [29] Creemers EE, Tijssen AJ, Pinto YM. Circulating microRNAs: novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease[J]. *Circ Res*, 2012, 110(3):483-495.
- [30] Zerneck A, Bidzhikov K, Noels H, et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection[J]. *Sci Signal*, 2009, 2(100):ra81.
- [31] Diehl P, Fricke A, Sander L, et al. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(4):633-644.
- [32] Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(4):423-433.
- [33] Wagner J, Riawanto M, Besler C, et al. Characterization of levels and cellular transfer of circulating lipoprotein-bound microRNAs [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(6):1392-1400.
- [34] Turchinovich A, Burwinkel B. Distinct AGO1 and AGO2 associated miRNA profiles in human cells and blood plasma[J]. *RNA Biol*, 2012, 9(8):1066-1075.
- [35] Li L, Zhu D, Huang L, et al. Argonaute 2 complexes selectively protect the circulating microRNAs in cell-secreted microvesicles [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e46957.
- [36] Guduric-Fuchs J, O'Connor A, Camp B, et al. Selective extracellular vesicle-mediated export of an overlapping set of microRNAs from multiple cell types[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1):357.
- [37] Xu J, Chen Q, Zen K, et al. Synaptosomes secrete and uptake functionally active microRNAs via exocytosis and endocytosis pathways[J]. *J Neurochem*, 2013, 124(1):15-25.