

外泌体内 mircoRNAs 在肝癌中的作用

邓小红^{1), 2)}, 黄俊琪^{1), 2)}*

(¹⁾ 中山大学附属第一医院广东省器官捐献与移植免疫学重点实验室, 广州 510080;
(²⁾ 中山大学附属第一医院广东省器官移植国际科技合作基地, 广州 510080)

摘要 外泌体是细胞间重要的信息交流介质, 包含多种活性分子, 如蛋白质、脂类、DNA 和微 RNA (microRNA, miRNA) 等, 外泌体可从供体细胞分泌后直接或间接作用于受体细胞, 进而影响细胞之间的生命活动。更有意义的是, 外泌体内的 miRNAs 可在血液中稳定存在, 且当肿瘤发生时出现异常表达, 进而参与肿瘤的发生发展, 影响肿瘤患者生存及预后。近年大量研究报道显示, 外泌体内 miRNAs 可作为肝癌诊断的新生物标志物及治疗肝癌的潜在靶标。本文就近年来外泌体内 miRNAs 在肝癌中的表达及其临床应用进行综述。

关键词 肝癌; 外泌体; miRNA

中图分类号 Q-1; Q291; Q734; Q74; R735

Role of Exosome-derived MicroRNAs in Liver Cancer

DENG Xiao-Hong^{1), 2)}, HUANG Jun-Qi^{1), 2)}*

(¹⁾ Guangdong Provincial Key Laboratory of Organ Donation and Transplantation Immunology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; (²⁾ Guangdong Provincial International Cooperation Base of Science and Technology (Organ Transplantation), The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract Exosomes play key roles in modulating and reprogramming recipient cell function by transporting a variety of active molecules, such as proteins, lipids, DNA and microRNA (miRNA) from the donor to the recipient cells as intercellular communicators. Exosomes are remarkably stable in bodily fluids and exosome-derived miRNAs have been found to be essential for tumor progression and metastasis. Accumulating evidence has demonstrated that exosomes-derived miRNAs can potentially be used for prognosis, for therapy, and as new biomarkers for liver cancer. In this review, we summarized current findings on the exosome-derived miRNAs in liver cancer and their clinical applications.

Key words liver cancer; exosomes; miRNA

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一。2012 年全球新发肝癌病例约 78 万, 死亡约 75 万, 中国新发病例及死亡例数均接近全球的 50%^[1]。尽管目前肝癌治疗手段可有效治疗早期阶段的肝癌, 但大多数肝

收稿日期: 2017-04-09; 修回日期: 2017-05-18; 接受日期: 2017-06-01
国家自然科学基金 (No. 31370870), 广东省自然科学基金 (No. S2013020013000), 广东省科技计划 (No. 2013A020229003), 广州市科技计划 (No. 201604020083), 广东省器官捐献与移植免疫重点实验室建设项目 (No. 2013A061401007) 和广东省器官移植国际合作基地建设项目 (No. 2015B050501002) 资助
* 通讯作者 Tel: 020-87755766-8670; E-mail: hjqlab@163.com; huangjq@mail.sysu.edu.cn
Received: April 9, 2017; Revised: May 18, 2017; Accepted: June 1, 2017
Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 31370870); Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. S2013020013000); Science and Technology Program of Guangdong, China (No. 2013A020229003); Science and Technology Program of Guangzhou, China (No. 201604020083); Guangdong Provincial Key Laboratory Construction Projection on Organ Donation and Transplant Immunology (No. 2013A061401007); Guangdong Provincial international Cooperation Base of Science and Technology (Organ Transplantation) (No. 2015B050501002)
* Corresponding author Tel: 020-87755766-8670; E-mail: hjqlab@163.com; huangjq@mail.sysu.edu.cn

癌患者确诊时已是中晚期阶段,预后并不理想。目前,肝癌居中国癌症死亡原因的 $第3位^{[2]}$ 。因此,探寻反映肝癌的早期诊断标志物及治疗肝癌的潜在靶标显得极其迫切。

外泌体(exosomes)是一种包含脂类、蛋白质、微RNA(miRNA)等多种生物活性分子的膜性囊泡,可通过传递细胞间物质信息,调节肿瘤的微环境,进而影响肿瘤的发生发展 $^{[3]}$ 。肿瘤发生时,肿瘤细胞可比正常细胞分泌更多的外泌体 $^{[4]}$,且肿瘤来源的外泌体中,miRNAs的表达谱与正常生理条件下有很大区别 $^{[5]}$ 。因此,外泌体内miRNAs可能会成为较好的早期诊断肿瘤的生物标记物。本文将针对外泌体内miRNAs在肝癌中的作用进行综述,以期找到肝癌早期生物标志物及潜在的治疗靶标。

1 外泌体

外泌体是一种由细胞内多泡小体中的小囊泡与细胞膜融合后,释放到细胞外的膜性囊泡。目前,文献中的外泌体主要指细胞外囊泡的混合物 $^{[6]}$,其直径约为40~150 nm,呈球形或杯状 $^{[7]}$ 。

现已发现多种细胞能分泌外泌体,如肥大细胞、树突状细胞、网织红细胞、上皮细胞、B细胞和神经元细胞等 $^{[8]}$,并广泛存在于尿液、精液、唾液、羊水、脑脊液、胆汁、眼泪、乳汁和血液等多种生物体液中 $^{[9,10]}$ 。外泌体可通过其表面的分子靶向其受体细胞,结合后即可通过受体-配体相互作用、胞吞作用或与靶细胞的细胞膜融合将其内容物传递到靶细胞中,从而改变靶细胞的生理状态 $^{[6]}$ 。当肿瘤发生时,肿瘤细胞可通过外泌体,将miRNAs及癌基因等生物活性分子传送到其他组织细胞中,从而影响肿瘤的发生发展 $^{[11,12]}$ 。

2 外泌体内 miRNA 的装载机制

外泌体内各种RNA中,以成熟miRNA的含量最高,约为41.72% $^{[13]}$ 。根据数据库(<http://www.exocarta.org/>)显示,目前外泌体中已发现2 838种miRNA。更具有临床意义的是,血液中外泌体内miRNAs,因脂质分子的存在而可免受RNA酶降解,因而可在血液中维持较长时间 $^{[14,15]}$ 。正常人体血液中,约有2 000万亿外泌体,而癌症患者血液中,则可能包含4 000万亿外泌体 $^{[5,16,17]}$ 。值得注意的是,外泌体内部分miRNA也存在显著的差异性表达 $^{[5,18]}$ 。提示miRNAs并非随机装载进外泌体内,

而可能存在某些特有的机制,但具体的分拣机制目前尚不明确,以下几种途径可能参与其中。

2.1 miRNA 基序与苏素化核不均一核糖核蛋白依赖途径

Villarroya-Beltri等发现,被分拣到外泌体的miRNAs,含有共同短序列GGAG(EXO基序)。这种基序主要分布在miRNAs的3'端上,可与苏素化核内不均一核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP) A2B1特异性结合,最终使miRNAs分拣入外泌体内。当改变hnRNP A2B1的苏素化水平或突变识别部位EXO基序时,可调节外泌体装载miRNAs的功能 $^{[19]}$ 。Santangelo等发现,突触结合胞质RNA相互作用蛋白SYNCRIP(synaptotagmin-binding cytoplasmic RNA-interacting protein,又称hnRNPQ或NSAP1)也参与肝细胞外泌体miRNAs的分拣 $^{[20]}$ 。hnRNP A1也可能有类似的功能 $^{[19]}$ 。

2.2 Y-box 蛋白 1 相关途径

Shurtleff等 $^{[21]}$ 建立了外泌体形成的无细胞反应体系,发现即使在无细胞反应体系中,miRNAs也可以选择性地进入外泌体中,并通过质谱及突变Y-box蛋白1(Y-box protein 1, YBX1),证实YBX1参与了外泌体分拣miRNAs的机制。同时,也验证了Argonaute2(AGO2)蛋白并不直接参与miRNAs拣入外泌体的过程。此外,也有文献报道,外泌体分拣miRNAs可能与AGO2蛋白相关,因为AGO2蛋白普遍存在于外泌体中 $^{[5,22]}$,并且当敲除AGO2基因后,原本优先进入外泌体的miRNA的类型及丰度均呈现下降 $^{[23]}$ 。但其具体的机制尚需进一步的研究。

2.3 中性鞘磷脂酶-2 依赖性途径

Kosaka等发现,中性鞘磷脂酶-2(neutral sphingomyelinase 2, nSMase2)具有调节外泌体miRNAs的分泌,并促进肿瘤微环境内的血管生成以及转移的功能。当nSMase2过表达时,能增加外泌体miRNA的数量。相反地,抑制nSMase2表达可以减少外泌体miRNA的数量 $^{[24]}$ 。

2.4 miRNA 序列 3'末端依赖性途径

细胞内miRNA与外泌体中miRNA不同。Koppers-Lalic等发现,miRNA末端核苷酸的类型可影响细胞内和外泌体中miRNAs的分布。腺苷化的3'末端miRNAs主要存在于细胞内,而尿苷化的3'末端内源性miRNAs主要富集于外泌体中。这提示,miRNA序列的3'末端可能含有重要的外泌体miRNA分拣信号 $^{[25]}$ 。外泌体选择性装载miRNA的

功能,使外泌体 miRNAs 作为一种新型疾病标记物成为可能。

3 外泌体 miRNAs 与肝癌

近年来,国内外对外泌体在肿瘤中的发生发展及其作用机制已有一定深度的研究,表明外泌体既

Table 1 Some studies of exosomal miRNAs in HCC

miRNA	Source of exosomes	Year	References
miR-21	Cell cultural supernatants	2012, 2015	[27, 43, 45]
	Serum	2014, 2015	[34, 35, 46]
miR-221	Cell cultural supernatants	2012, 2015	[27, 45]
	Serum	2015	[35, 47]
miR-122	Cell cultural supernatants	2014, 2015	[40, 42]
	Serum	2015	[35, 46]
Let-7	Cell cultural supernatants	2015	[43]
	Serum	2015	[47]
Other			
miR-101	Serum	2015	[35]
miR-106b	Serum	2015	[35]
miR-195	Serum	2015	[35]
miR-718	Serum	2015	[44]

3.1 miR-21

目前研究表明,miR-21 在肝癌组织中高表达,可促进肝癌细胞的增殖、侵袭和转移。miR-21 表达量越高,患者的预后越差,生存率越低^[32, 33]。最近研究也发现,相对慢性乙型肝炎和正常健康人,肝癌患者的血清外泌体 miR-21 的水平明显升高^[34],并且与肝癌的分期呈正相关。但 Sohn 等则认为,肝癌、肝硬化和慢性乙型肝炎患者血清外泌体 miR-21 水平无明显差异^[35]。Xu 等发现,肝硬化患者血清中 miR-21 水平比肝癌患者的要高^[36]。笔者认为,这些差异可能是由于患者的选择、标本量的大小、血清与血清外泌体的区别及 miRNA 的检测方法不同所引起。因此,miR-21 在肝癌组织是否升高仍需进一步研究确定。此外,Chiba 等研究发现,结肠癌细胞系来源的外泌体,能把 miR-21 转移到肝癌 HepG2 细胞株中^[27],提示结肠癌肝转移有可能与外泌体 miR-21 相关,间接支持肝癌的发生与外泌体 miR-21 可能存在某种关联。

3.2 miR-221

miR-221 在肝癌组织中亦存在高表达,与肝癌的大小及患者的预后生存相关^[37]。Sohn 等发现,肝癌患者血清中 miR-221 水平,与慢性乙型肝炎和肝硬化组相比,具有统计学差异,肝癌组 miR-221 水平明显高于慢性乙型肝炎和肝硬化组^[35]。此外,

有促肿瘤^[26, 27] 又有抗肿瘤^[28-30] 的双重作用。而 miRNAs 在人类多种疾病包括在肝癌中也发挥重要的作用^[31],与细胞的增殖代谢、基因突变、血管生成和免疫反应也息息相关。因此推测,外泌体中 miRNA 可能参与了肝癌发生发展。目前,与肝癌相关的外泌体 miRNA 的研究如 Table 1 所示。

Chiba 等同样也发现,结肠癌细胞株来源的 miR-221 可转移至肝癌细胞株内,提示 miR-221 也可能参与结肠癌肝转移过程。

3.3 miR-122

miR-122 是研究较多的与肝癌相关的外泌体 miRNA。miR-122 是正常肝组织中丰度最高的 miRNA^[38],约占肝组织 miRNA 的 50%。研究表明,miR-122 在肝癌组织中表达明显下降^[39],且在肝癌血清外泌体中的表达也呈现下降^[35]。此外,Basu 等发现,miR-122 可装载入外泌体中而转移到其他细胞中。当人类肝癌细胞株 Huh7 与 miR-122 缺陷的 HepG2 共培养时,HepG2 可以摄取 Huh7 分泌的 miR-122,从而降低生长速度及增值能力^[40]。也有研究表明,miR-122 可提高肝癌细胞对化疗的敏感性^[41]。Lou 等同样也发现,miR-122 可通过外泌体运载至肝癌细胞中,使其增加对化疗的敏感性^[42]。他们将 miR-122 转染,进入脂肪组织来源的间充质干细胞,使其产生大量富含 miR-122 的外泌体,进而将 miR-122 传递到肝癌细胞中,以提高肝癌细胞对化疗的敏感性^[42]。外泌体 miR-122 的这些功能很可能成为今后治疗肝癌的新手段。

3.4 let-7 家族

虽然 let-7 家族是人们最早发现的人类 miRNA,但目前为止,let-7 家族在肝癌中确切的作用仍不清

楚。Wei 等分析了肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞内及其细胞培养上清液中外泌体的 miRNA 表达谱,发现与母细胞相比,外泌体中 let-7b-5p、let-7c-5p 和 let-7d-5p 均低表达^[43]。这可能与外泌体生物合成调控因子 Vps4A 通过磷脂酰肌醇-3-激酶/丝苏氨酸蛋白激酶 (phosphate-inositol 3 kinase/serine-threonine kinase, PI3K/Akt) 信号通路,调控外泌体内 miRNA 的分泌、积聚或摄取有关。

3.5 其他 miRNAs

Sugimachi 等分析了肝移植后肝癌复发患者和未复发患者的血清外泌体 miRNA 中的表达谱,发现 miR-718 有显著性差异,低表达 miR-718 的患者更易复发、预后更差并发现其主要原因是外泌体中 miR-718 能调节靶基因 *HOXB8*,从而抑制肝癌细胞的分化^[44]。此外,在肝癌患者中,miR-106b、miR-101、miR-195 等水平也较慢性肝炎和肝硬化患者低^[35]。

4 外泌体 miRNAs 在肝癌治疗中的作用

由自身细胞分泌的外泌体可避免自身免疫排斥反应,同时具有组织器官的靶向性及能较稳定的存在于循环系统中的特性^[48],使其作为一种优异的药物和基因投递载体成为了可能。Haney 及其同事利用外泌体作为药物载体治疗帕金森疾病^[48]。此外, Qi 等利用磁功能使外泌体在外磁场的作用下迅速富集,解决了外泌体分离纯化困难与靶向能力差等问题^[49]。更让人振奋的是,目前已有研究利用疏水修饰的小干扰 RNA 装载入外泌体^[50],使得修饰外泌体治疗疾病成为可能。因此,相信未来有望将 miRNAs 装载入外泌体中进而靶向治疗肝癌。

5 问题与展望

综上所述,外泌体 miRNAs 在肝癌发生发展过程中,充当了重要的角色。但目前对于肝癌外泌体 miRNAs 的研究还主要集中在肝癌患者血清内的外泌体 miRNA 表达谱的改变上,而对于肝癌患者其他体液中的外泌体 miRNAs、外泌体 miRNA 含量变化的具体机制、外泌体的 miRNAs 如何调节受体细胞与供体细胞的功能以及改造外泌体 miRNAs 的应用的研究仍然较欠缺。这些问题的深入探讨将对理解肝癌发生发展乃至治疗肝癌有着深刻的意义。相信随着对外泌体 miRNAs 研究的不断深入,以上问题将会逐一得到解决,为肝癌的诊断和治疗提供新的思路。

参考文献 (References)

[1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, **65**(2): 87-108

[2] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, **66**(2): 115-132

[3] Kahlert C, Kalluri R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, **91**(4): 431-437

[4] Jenjaroenpun P, Kremenska Y, Nair VM, *et al.* Characterization of RNA in exosomes secreted by human breast cancer cell lines using next-generation sequencing[J]. *Peer J*, 2013, **1**: e201

[5] Melo SA, Sugimoto H, O'Connell JT, *et al.* Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2014, **26**(5): 707-721

[6] Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go[J]. *Cell*, 2016, **164**(6): 1226-1232

[7] Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer[J]. *J Clin Invest*, 2016, **126**(4): 1208-1215

[8] Ludwig AK, Giebel B. Exosomes: small vesicles participating in intercellular communication[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, **44**(1): 11-15

[9] De Toro J, Herschlik L, Waldner C, *et al.* Emerging roles of exosomes in normal and pathological conditions: new insights for diagnosis and therapeutic applications [J]. *Front Immunol*, 2015, **6**: 203

[10] 赵濛,刘志红,李金泉,等. 外泌体组成特征及其作为细胞通讯和分子标记的生物学作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报* (Zhao M, Liu ZH, Li JQ, *et al.* Component and biological function of exosome as intercellular communication mediator and biomarker[J]. *Chin J Biochem Mol Biol*), 2016, **32**(6): 612-619

[11] Shrivastava S, Devhare P, Sujjantarant N, *et al.* Knockdown of autophagy inhibits infectious hepatitis c virus release by the exosomal pathway[J]. *J Virol*, 2015, **90**(3): 1387-1396

[12] Conigliaro A, Costa V, Lo Dico A, *et al.* CD90⁺ liver cancer cells modulate endothelial cell phenotype through the release of exosomes containing H19 lncRNA[J]. *Mol Cancer*, 2015, **14**: 155

[13] Huang X, Yuan T, Liang M, *et al.* Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer[J]. *Eur Urol*, 2015, **67**(1): 33-41

[14] Valadi H, Ekstrom 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

[15] Lima LG, Chammas R, Monteiro RQ, *et al.* Tumor-derived microvesicles modulate the establishment of metastatic melanoma in a phosphatidylserine-dependent manner [J]. *Cancer Lett*, 2009, **283**(2): 168-175

[16] Melo SA, Luecke LB, Kahlert C, *et al.* Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2015, **523**(7559): 177-182

[17] Caradec J, Kharmate G, Hosseini-Beheshti E, *et al.* Reproducibility and efficiency of serum-derived exosome extraction methods [J]. *Clin Biochem*, 2014, **47**(13-14): 1286-1292

[18] Riches A, Campbell E, Borger E, *et al.* Regulation of exosome release from mammary epithelial and breast cancer cells - a new regulatory pathway[J]. *Eur J Cancer*, 2014, **50**(5): 1025-1034

[19] Villarroya-Beltri C, Gutierrez-Vazquez C, Sanchez-Cabo F, *et al.* Sumoylated hnRNP2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs[J]. *Nat Commun*, 2013, **4**: 2980

[20] Santangelo L, Giurato G, Cicchini C, *et al.* The RNA-binding protein SYNCYRIP is a component of the hepatocyte exosomal machinery controlling microRNA sorting[J]. *Cell Rep*, 2016,

- 17(3): 799-808
- [21] Shurtleff MJ, Temoche-Diaz MM, Karfilis KV, *et al.* Y-box protein 1 is required to sort microRNAs into exosomes in cells and in a cell-free reaction[J]. *Elife*, 2016, **5**. pii: e19276
 - [22] Goldie BJ, Dun MD, Lin M, *et al.* Activity-associated miRNA are packaged in Map1b-enriched exosomes released from depolarized neurons[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(14): 9195-9208
 - [23] 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**: 357
 - [24] Kosaka N, Iguchi H, Hagiwara K, *et al.* Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2)-dependent exosomal transfer of angiogenic microRNAs regulate cancer cell metastasis[J]. *J Biol Chem*, 2013, **288**(15): 10849-10859
 - [25] Koppers-Lalic D, Hackenberg M, Bijnsdorp IV, *et al.* Nontemplated nucleotide additions distinguish the small RNA composition in cells from exosomes[J]. *Cell Rep*, 2014, **8**(6): 1649-1658
 - [26] Whiteside TL. Immune modulation of T-cell and NK (natural killer) cell activities by TEXs (tumour-derived exosomes)[J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, **41**(1): 245-251
 - [27] Chiba M, Kimura M, Asari S. Exosomes secreted from human colorectal cancer cell lines contain mRNAs, microRNAs and natural antisense RNAs, that can transfer into the human hepatoma HepG2 and lung cancer A549 cell lines[J]. *Oncol Rep*, 2012, **28**(5): 1551-1558
 - [28] Aucher A, Rudnicka D, Davis DM. MicroRNAs transfer from human macrophages to hepato-carcinoma cells and inhibit proliferation[J]. *J Immunol*, 2013, **191**(12): 6250-6260
 - [29] Putz U, Howitt J, Doan A, *et al.* The tumor suppressor PTEN is exported in exosomes and has phosphatase activity in recipient cells[J]. *Sci Signal*, 2012, **5**(243): ra70
 - [30] Azmi AS, Bao B, Sarkar FH. Exosomes in cancer development, metastasis, and drug resistance: a comprehensive review[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2013, **32**(3-4): 623-642
 - [31] Ruan K, Fang X, Ouyang G. MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer[J]. *Cancer Lett*, 2009, **285**(2): 116-126
 - [32] Xu G, Zhang Y, Wei J, *et al.* MicroRNA-21 promotes hepatocellular carcinoma HepG2 cell proliferation through repression of mitogen-activated protein kinase-kinase 3[J]. *BMC Cancer*, 2013, **13**: 469
 - [33] Zhu Q, Wang Z, Hu Y, *et al.* miR-21 promotes migration and invasion by the miR-21-PDCD4-AP-1 feedback loop in human hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2012, **27**(5): 1660-1668
 - [34] Wang H, Hou L, Li A, *et al.* Expression of serum exosomal microRNA-21 in human hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Res Int*, 2014, **2014**: 864894
 - [35] Sohn W, Kim J, Kang SH, *et al.* Serum exosomal microRNAs as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. *Exp Mol Med*, 2015, **47**(9): e184
 - [36] 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
 - [37] Li J, Wang Y, Yu W, *et al.* Expression of serum miR-221 in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, **406**(1): 70-73
 - [38] Hou J, Lin L, Zhou W, *et al.* Identification of miRNomes in human liver and hepatocellular carcinoma reveals miR-199a/b-3p as therapeutic target for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2011, **19**(2): 232-243
 - [39] Bandiera S, Pfeffer S, Baumert TF, *et al.* miR-122—a key factor and therapeutic target in liver disease[J]. *J Hepatol*, 2015, **62**(2): 448-457
 - [40] Basu S, Bhattacharyya SN. Insulin-like growth factor-1 prevents miR-122 production in neighbouring cells to curtail its intercellular transfer to ensure proliferation of human hepatoma cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(11): 7170-7185
 - [41] Xu Y, Xia F, Ma L, *et al.* MicroRNA-122 sensitizes HCC cancer cells to adriamycin and vincristine through modulating expression of MDR and inducing cell cycle arrest[J]. *Cancer Lett*, 2011, **310**(2): 160-169
 - [42] Lou G, Song X, Yang F, *et al.* Exosomes derived from miR-122-modified adipose tissue-derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, **8**: 122
 - [43] Wei JX, Lv LH, Wan YL, *et al.* Vps4A functions as a tumor suppressor by regulating the secretion and uptake of exosomal microRNAs in human hepatoma cells[J]. *Hepatology*, 2015, **61**(4): 1284-1294
 - [44] Sugimachi K, Matsumura T, Hirata H, *et al.* Identification of a bona fide microRNA biomarker in serum exosomes that predicts hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation[J]. *Br J Cancer*, 2015, **112**(3): 532-538
 - [45] Fornari F, Ferracin M, Trerè D, *et al.* Circulating microRNAs, miR-939, miR-595, miR-519d and miR-494, identify cirrhotic patients with HCC[J]. *PLoS One*, 2015, **10**(10): e141448
 - [46] Liu WH, Ren LN, Wang X, *et al.* Combination of exosomes and circulating microRNAs may serve as a promising tumor marker complementary to alpha-fetoprotein for early-stage hepatocellular carcinoma diagnosis in rats[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, **141**(10): 1767-1778
 - [47] Li Y, Xiang GM, Liu LL, *et al.* Assessment of endogenous reference gene suitability for serum exosomal microRNA expression analysis in liver carcinoma resection studies[J]. *Mol Med Rep*, 2015, **12**(3): 4683-4691
 - [48] Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, *et al.* Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy[J]. *J Control Release*, 2015, **207**: 18-30
 - [49] Qi H, Liu C, Long L, *et al.* Blood exosomes endowed with magnetic and targeting properties for cancer therapy[J]. *ACS Nano*, 2016, **10**(3): 3323-3333
 - [50] Didiot MC, Hall LM, Coles AH, *et al.* Exosome-mediated delivery of hydrophobically modified siRNA for huntingtin mRNA silencing[J]. *Mol Ther*, 2016, **24**(10): 1836-1847