

microRNA 对淀粉样前体蛋白调控的研究进展

刘辰庚 王培昌[△]

(首都医科大学宣武医院检验科 北京 100053)

摘要 淀粉样前体蛋白 (APP) 参与了神经肌肉的信号传导、突触的可塑性及空间学习等生理过程, APP 在阿尔兹海默病 (AD) 人脑组织中高表达, 其切割产物 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 则在 AD 的发生发展中起到重要作用。2011 年 4 月, 美国阿尔兹海默病协会将 $A\beta$ 的聚集程度列入了新版 AD 诊疗指南中, 通过减少 APP 的表达或降低其以 β 切割方式进行代谢来延缓 AD 的进展已成为很多学者的共识。microRNA (miRNA) 是一类内生的、长度约 19-24 个核苷酸的小 RNA, 其在细胞内具有多种重要的调节作用, 据推测, miRNA 调控着人类约三分之一的基因。自 2008 年首次明确 miRNA 对 APP 表达存在调控作用之后, miRNA 对 APP 的调控和相关机制的研究以及其对 AD 诊断和治疗潜在价值的探索已成为 AD 研究领域的热点之一, 本文主要就 miRNA 对 APP 的表达、剪切和切割的调控及 $A\beta$ 对 miRNA 的影响做一综述。

关键词 淀粉样前体蛋白; microRNA; β 淀粉样蛋白; 调控

中图分类号 Q593.2, R749.16 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)25-4977-04

Development of the Regulation of microRNA on Amyloid Protein Precursor

LIU Chen-geng, WANG Pei-chang[△]

(Department of Clinical Laboratory, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100053, China)

ABSTRACT: The amyloid protein precursor (APP) mediates the nerve-muscle signal transmission, synaptic plasticity and space study physiological processes which are high-expressed in the brain of the Alzheimer's disease (AD) patients. The β amyloid protein ($A\beta$), one of the cleaved products of APP, plays an important role in AD events. $A\beta$ aggregates degree is listed in the new practice guidelines of AD by the Alzheimer's association in April 2011. By reducing the expression of APP or inhibiting its β cleaving ways to slow the progress of AD has become the consensus of many scholars. MicroRNA (miRNA) is a kind of endogenous small RNA, with around 19-24 nucleotide of length, which has many important regulatory roles. It is supposed that miRNA regulates about one-third of the human gene. Lots of researches focus on the regulative role of miRNA to the APP and its mechanism as well as its value of the diagnosis and treatment to AD since the evidence was found that miRNA can regulate the expression of APP. In this review, we focus on the role of miRNA on the expression, splicing and cleaving of the APP as well as the effect of $A\beta$ to the miRNA.

Key words: Amyloid protein precursor; MicroRNA; β amyloid proteins; Regulation

Chinese Library Classification: Q593.2, R749.16 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)25-4977-04

前言

淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 是广泛存在于全身组织细胞, 具有膜受体蛋白样结构的单次跨膜糖蛋白。APP 基因定位于人类 21 号染色体长臂中段, 与淀粉样前体类蛋白基因 1 和 2 (APP-like protein 1, 2) 一起构成 APP 基因家族。APP 基因具有管家基因的结构特征, 启动子 GC 含量丰富, 无典型的 TATA 盒及 CAAT 盒。它至少由 19 个外显子组成。APP 基因转录后通过不同的剪接形式可至少表达 6 种不同的亚型, 含有 365~770 个氨基酸。其中 APP 695、751 和 770 是三种最主要的亚型, 分子量为 110~135 kD^[1], 其胞内域和胞外域均可结合蛋白, 从而调节细胞的生理过程, 与神经肌肉的信号传导、突触的可塑性及空间学习等有关^[2]。

2011 年 4 月, 继 1984 年发布的 "NINDS-ADRDA" 诊断标准后, 阿尔兹海默病协会和美国国立卫生研究院国立老化研究所联合发布了新的阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 诊疗指南, 将 APP 的切割产物 β 淀粉样蛋白 (β amyloid protein, $A\beta$) 的聚集程度和神经元损伤的相关标志物如脑脊液 tau 蛋白检测等列入了新版指南。这对减少误诊和明确诊断有着重要的意义^[3]。目前发现 APP 至少可通过 α 、 β 、 γ 三种切割方式进行降解, 经 β 或 γ 切割后形成 39~42 个氨基酸的 β 淀粉样蛋白可以寡聚物、纤维缠结直至斑块的形式沉积于细胞内外, 是 AD 发生和发展的重要原因^[4]。有研究表明^[5], 低浓度 (pmol/L 水平) 的 $A\beta$ 可以有利于突触的可塑性, 并且和记忆密切相关, 只有在 $A\beta$ 高浓度 (nmol/L 水平) 的时候才会产生有害的影响。AD 患者普遍存在 APP 的高表达, 故可通过抑制 APP 的表达或增加其 α 切割方式并减少 β 和 γ 切割方式来改善或预防 AD。

研究表明, 在痴呆临床症状出现的数年甚至数十年之前, 患者体内已产生了一系列的病理生理改变^[6-8]。痴呆症状的出现, 则意味着患者已进入了 AD 的晚期 (end-stage), 而目前并没有药物来对晚期 AD 进行有效的治疗^[6]。所以, 力争在 AD 发

作者简介 刘辰庚 (1980-), 男, 博士研究生, 主要研究方向: 衰老及相关疾病标志物筛选

△通讯作者 王培昌 (1965-), 男, 博士生导师, 教授, 主要研究方向: 衰老及相关疾病机制研究及标志物筛选,

电话: 010-83198688, E-mail: peichangwang@yahoo.com。

(收稿日期: 2012-04-24 接受日期: 2012-05-22)

病前 10 年左右的“临床前期”对其进行早期预警,并及时展开治疗,是控制 AD 发生发展的重要途径。microRNA (miRNA) 是一类内生的、长度约 19-24 个核苷酸的小 RNA,其在细胞内具有多种重要的调节作用。据推测,miRNA 调控着人类三分之一的基因。miRNA 以多对多的形式对其靶基因进行调控:一个 miRNA 可以有多个靶基因,而几个 miRNA 也可以共同调控一个基因。这种复杂的调控网络既可以通过一个 miRNA 来调控多个基因的表达,也可以通过几个 miRNAs 的组合来精细调控某个基因的表达。作为具有蛋白表达调控作用的小分子,miRNA 具有潜在的 AD 早期诊断价值和治疗价值。自 2008 年首次明确 miRNA 对 APP 表达存在调节作用之后^[9],该领域已成为 AD 研究的热点之一,本文主要就 miRNA 对 APP 表达、剪切及切割的调控做一综述。

1 miRNA 对 APP 表达调控的研究现状

目前针对 miRNA 对 APP、BACE-1 等 AD 相关蛋白的表达调控的研究方法主要集中在芯片技术和生物信息学等方面:使 AD 患者或动物模型的脑组织进行 miRNA 芯片测定或进行多种 miRNA 表达水平的检测分析,或使用生物信息学检索可能对靶蛋白具有调节作用的 miRNA。但最后都要归于使用细胞或动物试验进行 miRNA 的转染或注射,研究相应 miRNA 对靶蛋白表达的调节作用或对动物模型的治疗效果,并最终明确其作用机制^[9]。由于 AD 患者往往不需要手术治疗,故可获得的脑组织大都来源于遗体捐献或并发其他脑部疾患需要手术的患者,不仅使得脑组织难于获得,且其代表性也有待商榷,从而使利用脑组织进行 miRNA 表达谱的研究变得难以大范围开展。自 2007 年 Lukiw 首次进行 AD 患者脑组织 miRNA 表达谱分析以来^[10],大部分研究者所作的工作都是基于小样本的研究。miRNA 表达谱研究的优势在于能提供高通量的数据,给机制研究指明方向的同时,也为未来将 miRNA 作为 AD 诊断和治疗的标志物打下了基础。就已有研究来看,通过生物信息学或通过脑组织 miRNA 表达谱来确定 miRNA 研究对象并进行进一步的细胞水平的研究^[11],细胞水平的研究得到有价值的结果之后再进行动物实验或大规模的临床调查似乎更加易行,这种调查可以着眼于检测 AD 患者血清和脑脊液中的相应 miRNA 的水平^[12],从而为 AD 的预防和诊治提供帮助。近几年随着安捷伦、ABI 等通量高、准确性强的新一代 miRNA 芯片的出现,使用新型 miRNA 芯片对组织标本进行检测,把获得的高通量结果进行统计分析后做进一步的研究可是一个能更快取得有价值研究进展的方案。目前已多个发现多个与 APP 表达调控相关的 miRNA,同时,一些能抑制 APP 表达的 miRNA 如 miR-106b 在 AD 患者脑组织中的表达下调^[13],这些研究结果为从 miRNA 层面进行 AD 的治疗和预防提供了思路。但是,一些能下调 APP 表达的 miRNA 如 miR-9 的功能可被累积 A β 的所抑制^[14];miR-147 可被 AD 患者表达的特异性 APP 变异体如 T117C 所抑制^[15]。这样,可能出现 miR-147 和 miR-9 等的抑制与 APP 的上调的恶性循环,最终导致 A β 的累积,值得研究者的关注。

miRNA 调节蛋白表达主要有两种机制^[16,17]:与靶 mRNA 的 3'UTR 和 / 或 5'UTR 结合来上调或下调其蛋白质的翻译通

过切除靶 mRNA 的 PolyA 尾巴等途径降解靶 mRNA 从而下调其蛋白质的表达。已有的研究表明,大部分与 APP 表达调控相关的 miRNA 如 miR-153、miR-644、miR-655 等都是通过降解其 mRNA 来下调其蛋白质的表达,而 miR-20a 和 miR-147 能够通过与 mRNA 的 3'UTR 结合来调控 APP 蛋白的表达。同时,APP 3'UTR 的不同变异体对 miRNA 的亲合力也有不同,如 T117C 能抑制 miR-147 的结合,而 A454G 能增强 miR-20a 的结合。APP 的 5'UTR 区域在其表达调控中起到重要作用,但目前尚未见 miRNA 能对其产生作用的报道。

2 miRNA 对 APP 选择性剪切的调控

APP 基因转录后通过对 7、8 和 15 号外显子不同的剪接可至少表达 6 种不同的亚型,其中 APP695、751 和 770 是较为重要的 3 种亚型。在正常神经细胞中,APP695 为表达量最多的亚型^[1]。APP770 含有 7 号外显子所编码的 KPI 结构域和 8 号外显子编码的 OX2 结构域;APP751 仅含有 KPI 结构域;APP695 则不含上述两种结构域。KPI 结构域除具有抑制凝血的作用之外,还能通过抑制 β -sAPP 生成的方式来减少 A β 的生成^[17]。研究表明^[18],miRNA 参与了对 APP 选择性剪切的调控,miRNA-124 能够上调含有 7 号和 8 号外显子的 APP mRNA 剪切产物的表达。其可能的机制是,降低的 miRNA-124 下调其靶基因多聚嘧啶区结合蛋白 -1 (polypyrimidine tract binding protein 1, PTBP-1) 的表达,下调的 PTBP-1 进而抑制 APP770 和 APP751 剪切产物的表达。同时 PTBP-2 的表达与 APP770 和 APP751 剪切产物的表达也成正相关性,但其是否与 miRNA 有关尚待研究。临床调查发现,miRNA-124 在 AD 患者脑组织中的表达显著降低^[10],这为上述细胞试验结果提供了更加坚实的依据,也为 AD 的诊断和基因治疗提供了一个方向。

3 miRNA 对 APP 蛋白切割的调控

APP 蛋白可经由两种途径进行切割,如 APP 首先被 β 分泌酶切割后,再被 γ 分泌酶切割,其产物主要包括 A β 、 β -sAPP 和 β -CTF,称为 APP 的淀粉样变性切割途径。而 α 分泌酶的切割位点位于 APP 上 A β 区域的第 6 个氨基酸,故如果 APP 首先被 α 分泌酶切割则不会有 A β 产生,且其切割产物之一 α -sAPP 具有神经营养作用,该途径称为 APP 的非淀粉样变性切割途径^[19]。因此,抑制 β 或 γ 切割或者增强 α 切割都可能减少 A β 的积累,改善 AD 的病理生理表现。miRNA 对 APP 切割的调控主要是通过对 β 分泌酶的调控而实现的。细胞实验证明 miR-9、miR-29a、miR-29b1 能上调 β 分泌酶的表达,其中虽然 miR-9 同时能够下调 APP 的表达,但其总体作用仍是增加了 A β 的积累^[20,21]。对限制能量摄入的老龄 AD 转基因模型鼠 Tg2576 的研究部分证实了上述结果:miR-29a 和 miR-29b1 下调的同时, β 分泌酶的蛋白表达水平随之显著降低,且其作用机制处于 β 分泌酶的翻译水平^[22,23]。使用 N2a 和 NIH 3T3 细胞进行的实验表明,miR-298 和 miR-328 能与 β 分泌酶的 3'UTR 结合并上调其表达;细胞实验和人脑组织的检测结果表明, β 分泌酶蛋白表达升高的同时,其 mRNA 水平无明显改变,提示上述两种 miRNA 仅通过 3'UTR 途径调控 β 分泌酶的蛋白表达^[21]。另外,miR-29c 可能与 β 分泌酶的上调有关,miR-103 和

miR-107 可能与 β 分泌酶的下调有关,且 miR-107 在 AD 患者脑组织的表达显著下降^[24,25]。虽然生物信息学的检索结果表明其机制可能与 β 分泌酶的 3'UTR 有关^[26],但尚未见实验依据。miRNA 对 β 分泌酶和 APP 表达的调控构成了一个网络,一些能上调 APP 的 miRNA 可能对 β 分泌酶具有下调作用,反之亦然。这时, $A\beta$ 的生成量往往可作为对待测 miRNA 进行整体分析的一个评判标准。虽然 α 分泌酶已成为 AD 药物治疗的研究靶点,但其是否也存在 miRNA 的调控, β 切割和 α 切割是否存在竞争关系尚未见报道。由于 β 分泌酶是 β 切割的关键酶, γ 分泌酶是否存在 miRNA 的调控,其活性的改变能否影响 β 切割的水平,也值得进行进一步的研究。

4 $A\beta$ 对 miRNA 的调控

一些 miRNA 可调控 APP 的蛋白表达,而 APP 的降解产物之一 $A\beta$ 又可反过来对一些 miRNA 进行 " 强有力 " ^[27] 的调控,从而形成了由 miRNA、APP、 β 分泌酶、 $A\beta$ 为主要组成的调控网络。虽然有学者认为 miRNA 是以 " 微调 " (fine-tuning) 的形式来影响靶基因的表达^[1,28],但由于很多时候其影响的均是关键酶或关键功能蛋白,故 miRNA 的作用虽不能看做上游调控事件,但其调控结果往往非常关键。调控网络的一个点发生改变,可能就会引起网络中基因表达较大程度的改变。目前一些研究者认为 AD 患者脑组织中 miRNA 的整体性下调可能与 $A\beta$ 的增多有关。Schonrock 等^[23]使用 ABI 的 miRNA 芯片对表达人 APP751 的 APP23 转基因小鼠脑组织的 230 种 miRNA 进行了检测,发现多达 108 种 (47%) 被测 miRNA 出现了显著性下调,41 种 (18%) 出现了显著性上调,作者认为这种改变是由 $A\beta$ 增多导致的。其中的 miR-9、miR-181c、miR-664 等目前都被证实参与了 APP 的表达调控,并且 $A\beta$ 对 miR-9 和 miR-181c 的抑制已在细胞试验中得到了证明^[29]。同时,一系列对 AD 患者脑组织的研究也发现了 miR-9、miR-181c 等表达的下调^[11,29],进一步支持了之前细胞及动物实验的结果。最近的研究表明^[30],tau 蛋白可能是 AD 疾患在神经细胞间传播的一种媒介,但其对 miRNA 表达水平是否产生影响目前尚未见报道。

5 展望

miRNA 对 APP 的调控是多层次、多方式且存在类似于正反馈和负反馈机制的一个庞大且复杂的网络,目前对其的研究还只是冰山一角。以 miRNA 对 APP 的调控为主要切入点的研究在 AD 的早期诊断、治疗、监测等方面已展现出良好的应用前景,值得研究者投入更多的精力。

参考文献 (References)

- [1] Nicole S, Miriam M, Lars M, et al. MicroRNA networks surrounding APP and amyloid- β metabolism implications for Alzheimer's disease [J]. Exp Neurol, 2012, 235(2): 447-454
- [2] Weyer SW, Klevanski M, Delekate A, et al. APP and APLP2 are essential at PNS and CNS synapses for transmission, spatial learning and LTP [J]. EMBO J, 2011, 30(11): 2266-2280
- [3] Sperling RA, Jack CR Jr, Aisen PS. Testing the right target and right drug at the right stage [J]. Sci Transl Med, 2011, 3(111): 111cm33
- [4] Götz J, Eckert A, Matamalas M, et al. Modes of A β toxicity in

- Alzheimer's disease [J]. Cell Mol Life Sci, 2011, 68(20): 3359-3375
- [5] D Puzzo, L Privitera, E Leznik, et al. Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus [J]. J Neurosci, 2008, 28(53): 14537-14545
- [6] Reiman EM, McKhann GM, Albert MS, Sperling RA, Petersen RC, Blacker D. Alzheimer's disease: implications of the updated diagnostic and research criteria [J]. J Clin Psychiatry, 2011, 72(9): 1190-1196
- [7] Sohrabi HR, Weinborn M, Badcock J, Bates KA, Clarnette R, Trivedi D, Verdile G, Sutton T, Lenzo NP, Gandy SE, Martins RN. New lexicon and criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease [J]. Lancet Neurol, 2011, 10(4): 299-300
- [8] Thies B, Truschke E, Morrison-Bogorad M, Hodes RJ. Consensus report of the Working Group on: molecular and biochemical markers of Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Aging, 1999, 20(2): 247
- [9] Patel N, Hoang D, Miller N, et al. MicroRNAs can regulate human APP levels [J]. Mol Neurodegener, 2008, 3: 10
- [10] Lukiw WJ. Micro-RNA speciation in fetal, adult and Alzheimer's disease hippocampus [J]. Neuroreport, 2007, 18(3): 297-300
- [11] Hébert SS, Horré K, Nicolay L, et al. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(17): 6415-6420
- [12] John P, Cogswella, James Ward, et al. Identification of miRNA changes in Alzheimer's disease brain and CSF yields putative biomarkers and insights into disease pathways [J]. J Alzheimers Dis, 2008, 14(1): 27-41
- [13] Hébert SS, Horré K, Nicolay L, et al. MicroRNA regulation of Alzheimer's Amyloid precursor protein expression [J]. Neurobiol Dis, 2009, 33(3): 422-428
- [14] Schonrock N, Ke YD, Humphreys D, et al. Neuronal microRNA deregulation in response to Alzheimer's disease amyloid-beta [J]. PLoS One, 2010, 5(6): 11070
- [15] Delay C, Calon F, Mathews P, et al. Alzheimer-specific variants in the 3'UTR of amyloid precursor protein affect microRNA function [J]. Mol Neurodegener, 2011, 7(6): 70-76
- [16] Lahiri DK, Ge YW, Maloney B. Characterization of the APP proximal promoter and 5'-untranslated regions: identification of cell type-specific domains and implications in APP gene expression and Alzheimer's disease [J]. FASEB J, 2005, 19(6): 653-655
- [17] Sinha S, Lieberburg I. Cellular mechanisms of beta-amyloid production and secretion [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96 (20): 11049-11053
- [18] Smith P, Al Hashimi A, Girard J, et al. In vivo regulation of amyloid precursor protein neuronal splicing by microRNAs [J]. J Neurochem, 2011, 116(2): 240-247
- [19] Wang JF, Lu R, Wang YZ. Regulation of cleavage of amyloid precursor protein [J]. Neurosci Bull, 2010, 26(5): 417-427
- [20] Vassar R, Kovacs DM, Yan R, et al. The beta-secretase enzyme BACE in health and Alzheimer's disease: regulation, cell biology, function, and therapeutic potential [J]. J Neurosci, 2009, 29 (41): 12787-12794
- [21] Zong Y, Wang H, Dong W, et al. miR-29c regulates BACE1 protein expression [J]. Brain Res, 2011, 1395: 108-115

- [22] O'Connor T, Sadleir KR, Maus E, et al. Phosphorylation of the translation initiation factor eIF2 α increases BACE1 levels and promotes amyloidogenesis [J]. *Neuron*, 2008, 60(6): 988-1009
- [23] O'Carroll D, Mecklenbrauker I, Das PP, et al. A Slicer-independent role for Argonaute 2 in hematopoiesis and the microRNA pathway [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(16): 1999-2004
- [24] Boissonneault V, Plante I, Rivest S, et al. MicroRNA-298 and microRNA-328 regulate expression of mouse beta-amyloid precursor protein-converting enzyme 1 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (4): 1971-1981
- [25] Faghihi MA, Modarresi F, Khalil AM, et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase [J]. *Nat Med*, 2008, 14(7): 723-730
- [26] Wang WX, Rajeev BW, Stromberg AJ, et al. The expression of microRNA miR-107 decreases early in Alzheimer's disease and may accelerate disease progression through regulation of beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 [J]. *J Neurosci*, 2008, 28 (5): 1213-1223
- [27] Schonrock N, Ke YD, Humphreys D, et al. Neuronal microRNA deregulation in response to Alzheimer's disease amyloid-beta [J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): 11070
- [28] Schonrock N, Humphreys DT, Preiss T, et al. Target Gene Repression Mediated by miRNAs miR-181c and miR-9 Both of Which Are Down-regulated by Amyloid- β [J]. *J Mol Neurosci*, 2012, 46 (2): 324-335
- [29] Cogswell JP, Ward J, Taylor IA, et al. Identification of miRNA changes in Alzheimer's disease brain and CSF yields putative biomarkers and insights into disease pathways [J]. *J Alzheimers Dis*, 2008, 14(1): 27-41
- [30] Liu L, Drouet V, Wu JW, et al. Trans-synaptic spread of tau pathology in vivo [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31302

(上接第 4836 页)

- [4] Tesselaar ME, Romijn FP, Van Der Linden IK, et al. Microparticle-associated tissue factor activity: a link between cancer and thrombosis [J]. *Thromb Haemost*, 2007, 5(3): 520-527
- [5] Biró E, Sturk-Maquin KN, Vogel GM, et al. Human cell-derived microparticles promote thrombus formation in vivo in a tissue factor-dependent manner [J]. *J Thromb Haemost*, 2003, 1(12): 2561-2568
- [6] Mallat Z, Benamer H, Hugel B, et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes [J]. *Circulation*, 2000, 101(8): 841-843
- [7] Pereira J, Alfaro G, Goycoolea M, et al. Circulating platelet-derived microparticles in systemic lupus erythematosus. Association with increased thrombin generation and procoagulant state [J]. *Thromb Haemost*, 2006, 95(1): 94-99
- [8] Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, et al. Elevated endothelial microparticles in thrombotic thrombocytopenic purpura: findings from brain and renal microvascular cell culture and patients with active disease [J]. *Br J Haematol*, 2001, 112(1): 81-90
- [9] Lechner D, Kollars M, Gleiss A, et al. Chemotherapy-induced thrombin generation via procoagulant endothelial microparticles is independent of tissue factor activity [J]. *J Thromb Haemost*, 2007, 5 (12): 2445-2452
- [10] Simak J, Gelderman MP. Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers [J]. *Transfus Med Rev*, 2006, 20(1):1-26
- [11] Banfi C, Brioschi M, Wait R, et al. Proteome of endothelial cell-derived procoagulant microparticles [J]. *Proteomics*, 2005, 5 (17): 4443-4455
- [12] Rubin O, Crettaz D, Tissot JD, et al. Pre-analytical and methodological challenges in red blood cell microparticle proteomics [J]. *Talanta*, 2010, 82(1): 1-8
- [13] Berckmans RJ, Nieuwland R, Böing AN, et al. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation [J]. *Thromb Haemost*, 2001, 85(4): 639-646
- [14] Nomura S, Tandon NN, Nakamura T, et al. High-shear-stress-induced activation of platelets and microparticles enhances expression of cell adhesion molecules in THP21 and endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2001, 158(2): 277-287
- [15] Distler J HW, Jungel A, Huber LC, et al. The induction of matrix metalloproteinase and cytokine expression in synovial fibroblasts stimulated with immune cell microparticles [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(8): 2892-2897
- [16] Pfister SL. Role of platelet microparticles in the production of thromboxane by rabbit pulmonary artery [J]. *Hypertension*, 2004, 43 (2): 428-433
- [17] Martin S, Tesse A, Hugel B, et al. Shed membrane particles from T lymphocytes impair endothelial function and regulate endothelial protein expression [J]. *Circulation*, 2004, 109(13): 1653-1659
- [18] Kim HK, Song KS, Chung JH, et al. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro [J]. *Br J Haematol*, 2004, 124(3): 376-384
- [19] Kim HK, Song KS, Park YS, et al. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: possible role of a metastasis predictor [J]. *Eur J Cancer*, 2003, 39(2): 184-191
- [20] Chen GQ, Shi XG, Tang W, et al. Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): I. As_2O_3 exerts dose-dependent dual effects on APL cells [J]. *Blood*, 1997, 89(9): 3345-3353