

外泌体为动脉粥样硬化提供新的干预靶点

江悦, 田梦翔 综述, 王双, 易光辉 审校

(南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 外泌体; 动脉粥样硬化; 微小 RNA

[摘要] 动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病。临床上使用的抗动脉粥样硬化药物的目标主要集中在减少循环低密度脂蛋白水平, 升高高密度脂蛋白水平, 并减轻炎症。然而, 心血管疾病的发病率和死亡率仍然很高。因此, 识别未知的治疗靶点和开发新的抗动脉粥样硬化药物的需求越来越大。外泌体是活细胞分泌的来源于晚期核内体(也称为多囊泡体)的膜性囊泡。外泌体内含有与来源细胞相关的蛋白质、rRNA 和微小 RNA, 并能够通过生物屏障, 从而发挥各种生物学功能。外泌体有望成为一种治疗动脉粥样硬化的新型给药途径及基因治疗载体。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Exosome provides a new intervention target for atherosclerosis

JIANG Yue, TIAN Meng-Xiang, WANG Shuang, YI Guang-Hui

(Institute of Cardiovascular Disease Research & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Exosome; Atherosclerosis; Micro RNA

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease. The objective of the clinical use of anti-atherosclerotic drugs is to decrease circulating low density lipoprotein level, increase high density lipoprotein level, and reduce inflammation. However, the morbidity and mortality of cardiovascular disease remain high. Therefore, the identification of unknown therapeutic targets and the development of new anti-atherosclerotic drugs is growing. Exosome is a kind of membrane vesicles derived from late nuclear endosome (also known as polycystic body) secreted by living cells. Exosome contains protein, rRNA, and micro RNA, which are related to the source cells, and it can pass the biological barrier and produce various biological functions. Exosome is expected to become a novel drug delivery pathway and gene therapy vector for the treatment of atherosclerosis.

外泌体(exosome)是活细胞分泌的来源于晚期核内体(也称为多囊泡体)的膜性囊泡^[1]。它存在于健康人体的外周血中,但血小板外泌体是最丰富的,占有循环外泌体的70%~90%,而且是许多疾病状态的高标记物。由于携带的蛋白质不同,它能够发挥不同的生物学功能。外泌体内含有与细胞来源相关的蛋白质、rRNA 和微小 RNA(micro RNA, miR),并且能够通过生物屏障,在细胞间传递功能性核酸分子,从而发挥各种生物学功能^[2];它可以作为新陈代谢和心血管疾病例如动脉粥样硬化、肥胖、2 型糖尿病、癌症的标志。

1 外泌体的来源和检测

1.1 外泌体的来源

外泌体是由细胞分泌的直径为 30~100 nm、密度为 1.13~1.21 kg/L 的微小囊泡状结构,内含来源于细胞相关的蛋白质与核苷酸等生物分子^[2]。几乎所有类型的细胞分泌外泌体,并且在组织细胞生理和病理情况下皆可持续分泌;外泌体存在于多种体液当中,包括血液、唾液、尿液和母乳^[3]。细胞向内出芽,管腔内的小泡聚集,形成大的多泡体,然后与细胞膜融合,并对外释放小泡,形成外泌体,里面

[收稿日期] 2016-09-17

[修回日期] 2016-11-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81270360);湖南省科技计划重点项目(2014FJ2012)

[作者简介] 江悦,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治,E-mail 为 1947488635@qq.com。通讯作者王双,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail 为 wangya1105@hotmail.com。通讯作者易光辉,博士,教授,博士研究生导师,E-mail 为 ghy6108@163.com。

包含蛋白质、mRNA、miR 等(图 1)。

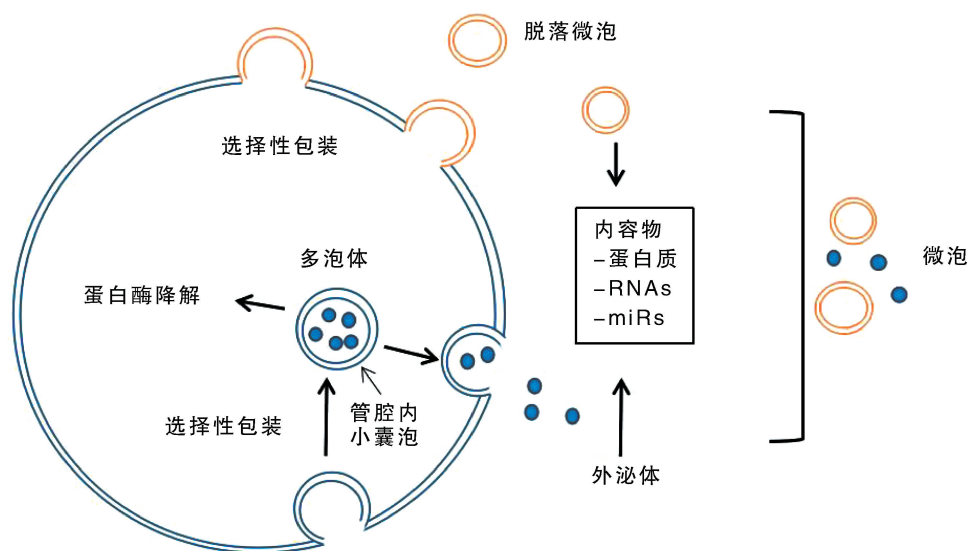


图 1. 外泌体的形成与释放

Figure 1. Formation and release of exosome

1.2 外泌体的检测

外泌体被特殊标记后,其所含的内容物或许可以被追踪,在动脉粥样硬化形成病理生理过程中,可根据外泌体特殊标记进行检测^[4]。目前除了超速离心法或分子筛技术,新的检测方法旨在提升外泌体和微粒检测的敏感度,并加快周期敏感性分析的速度。这些技术包括微流体器件的芯片分离、循环微粒的数量和性质^[5]。进一步的检测技术包括基于液滴用于核酸提取的 RNA 提取液滴微芯片、数字微流体、实时 PCR 和 miR 扩增及等离子体检测生物标志物相关的内容物等^[6]。

2 外泌体与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一种多病因所致的慢性炎症性疾病,可能会导致血栓形成,甚至心肌梗死和中风,它是冠心病、脑卒中等心脑血管病的主要病理基础,严重危害人类健康^[7]。在病理情况下,外泌体可通过作用于血管和心肌细胞参与心血管疾病的发生和发展过程,包括影响血管张力的调节、炎症反应、血管修复和重塑、血管内血栓形成。血管内皮细胞是血管壁内脂蛋白内流的第一个动脉屏障,这个内皮屏障使细胞间隙保持炎症反应的能力。目前已知凋亡或受损的细胞分泌的外泌体可以有效地调节内皮功能,包括促炎症和促血栓形成等致病性扩增^[8]。但是,外泌体的影响可能并不总

是有害的。事实上,它们的形成和清除可能反映细胞活性和损伤、细胞生存和凋亡、血管重塑和血管生成之间的微妙平衡。此外,外泌体也在多细胞生物的稳态维护中发挥作用。

2.1 动脉粥样硬化条件下的外泌体

研究表明,在一些条件下,外泌体和其他微粒发挥抗动脉粥样硬化或促动脉硬化的作用。成熟树突细胞源外泌体在动脉粥样硬化过程中可能有助于免疫系统的超活化,因为他们通过可溶性细胞间黏附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 依赖的方式转移诱导幼稚 T 细胞至 B 淋巴细胞,间接减少他们对氧化低密度脂蛋白的反应^[9]。然而,内皮外泌体导致 T 细胞的聚集和炎症因子的分泌。此外,对慢性肾脏病患者研究发现,外泌体介导钙化反应,增加血管平滑肌细胞钙化^[10]。相反,外泌体介导的内皮细胞与平滑肌细胞之间的细胞通信,在内皮剪切应力条件下可能发挥动脉粥样硬化保护作用,由于所含的 miR-143/145 集群表达和依赖于肺 Kruppel 样转录因子的表达,影响了血管弯曲和分叉处紊乱的血流^[11]。

2.2 外泌体与血管内皮及炎症

在成熟血管中,血管内皮细胞和血管平滑肌细胞之间的信号是维持血管内皮功能和血压所必需的。外泌体包含物如 miR 等可用于传达生物信息。当暴露于抗动脉粥样硬化作用的高剪切应力,内皮细胞分泌的外泌体含有丰富的 miR-143/145。但当

其转运至平滑肌细胞,这些外泌体减少 miR-143/145 靶标如细胞核内激活转录因子(ELK1)和钙调素依赖蛋白激酶 2d(Camk2d)的表达,这是两种主要的平滑肌细胞表型调节器,而且他们还减少平滑肌细胞分化并抑制增殖^[11]。

血管炎症影响内皮功能,缺乏一氧化氮会增强血管炎症。由于慢性炎症是动脉粥样硬化的一个关键因素,外泌体对炎症过程的影响已经被人们进行了详细的研究。高胆固醇饮食的动物中,动脉内膜和血管中层发现浸润的淋巴细胞、单核细胞、粒细胞和巨噬细胞。白细胞聚集是动脉粥样硬化的一个早期表现,外泌体通过白细胞黏附分子如血管细胞黏附分子 1、E 选择素、P 选择素、促炎因子等激活内皮细胞;单核细胞趋化蛋白 1、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、IL-8 的逆向受体也在白细胞细胞膜表面表达^[12]。来自单核细胞的外泌体在炎症和免疫反应过程中的细胞间通讯作用是公认的,他们的激活可能部分由邻近的细胞外泌体诱导的 Toll 样受体依赖方式完成^[13]。单核细胞是巨噬细胞和树突状细胞的主要祖细胞,它们的激活是免疫反应所需的,而一些病理状态导致炎症和氧化应激。

巨噬细胞及巨噬细胞依赖的微泡在附近的动脉内皮大量存在。单核细胞分泌的外泌体可能直接诱导内膜浸润。Aharon 等^[14]发现单核细胞来源的外泌体在内皮诱导细胞凋亡,并通过释放组织因子促进凝血途径,进一步导致内皮细胞的紊乱。单核细胞来源的外泌体可以通过分泌 miR-150 促进内皮细胞迁移,巨噬细胞来源的外泌体也有类似的相关报道^[15]。学者们的研究表明,巨噬细胞分泌的外泌体通过控制整合素转运反向调节内皮细胞迁移。

具体来说,巨噬细胞来源的外泌体促进原代人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)整合素 $\beta 1$ 内化,并刺激内化的整合素 $\beta 1$ 转运到溶酶体,导致其降解。而外泌体介导的整合素降解可以被巴弗洛霉素 A(溶酶体降解抑制剂)阻断。除了介导整合素的表面表达,巨噬细胞源外泌体也被证明能有效地抑制促分裂原活化蛋白激酶/胞外信号调节激酶的信号通路和 HUVEC 迁移,这都依赖于整合素 $\beta 1$ 。这些结果提示了外泌体调控整合素转运重要功能的新的研究视角。

一些研究指出外泌体介导巨噬细胞和淋巴细胞正常的炎症激活可能导致炎症浸润。巨噬细胞和淋巴细胞率先进入损伤部位,并协同血管内膜浸润。巨噬细胞源性较大的微泡可通过升高 ICAM-1

和核因子 κB 的活化促进白细胞流动和依附^[16]。外泌体直接介导的淋巴细胞和巨噬细胞之间的交流也有所发现,在这项研究中,作者发现上清活性外泌体的潜在促动脉粥样硬化作用,CD4⁺T 淋巴细胞增强胆固醇负荷并累积在磷脂酰丝氨酸受体依赖性培养的单核细胞,显示外泌体也可能有协调这两种细胞的作用,他们能够转运外源 siRNA 至单核细胞和淋巴细胞^[17]。

2.3 外泌体作为凋亡的信号载体和诱导物

血管细胞的外泌体可能诱导血管内皮细胞凋亡,从而导致血管功能障碍。例如,血小板外泌体可通过升高还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸活性或过氧亚硝酸盐的产生,影响氧化还原代谢机制从而增加内皮细胞凋亡^[18]。以类似方式,红细胞外泌体增强单核细胞肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)产生,增强有丝分裂原诱导的 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞增殖(以抗原提呈细胞依赖方式)^[19]。一些证据表明在炎症状态下外泌体介导的细胞凋亡增多。活化 T 细胞外泌体增加凋亡诱导配体 FAS-L 的水平。同样,人类单核细胞暴露于活化的 CD4⁺淋巴细胞来源的外泌体,其 TNF- α 水平在上清液中也升高^[20]。溶酶体介导的脱颗粒作用是外泌体释放的一种方式,活化 T 细胞来源的外泌体导致 FAS 细胞表面死亡受体配体(FAS-L)和 TNF 相关凋亡诱导配体在其细胞膜附近表达增加,在 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞中 FAS-L 也升高^[21]。同样的,树突状细胞外泌体其表面的凋亡诱导配体表达升高,可能进一步导致内皮细胞凋亡增加^[22]。外泌体还影响炎症反应,从而诱导炎症介导的细胞凋亡反应。除此之外,从脂肪组织释放的外泌体能激活巨噬细胞在血管壁以 Toll 样受体 4/ β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白(TLR4/TRIF)依赖途径分泌 IL-6 和 TNF- α , 调节胰岛素耐受性^[17]。

2.4 外泌体调节凝血通路

血小板分泌的微泡占血清中微粒含量的 70%,并通过激活内皮细胞、引发树突状细胞的成熟和诱导血管平滑肌细胞增殖来影响动脉粥样硬化的形成^[23]。它们最显著的作用是,激活其他血小板,促进其黏附血管壁,导致血栓形成。Srikanthan 等^[24]为此提供了临床证据,来自富含血小板的血浆(去除有核细胞)中的外泌体脂质负荷减少,血小板凝血功能降低,这是通过减少 CD36(促凝血主要调节因子)的表达来实现的。利用 RNA 测序,Rezeli 等^[25]发现血小板外泌体 miR-320 减少,内皮细胞 ICAM-1 的表达也减少,从而促进血管内皮细胞的活

力,减少炎症和血栓形成,这可能作为防止进一步损伤的一种手段。外泌体依赖溶酶体抑制剂布雷菲德菌素 A 沉默微泡的表达也被验证。他们的研究进一步表明,miR-22、miR-185、miR-320b 和 miR-4235p 的表达在血小板上清液升高。同样,肥大细胞外泌体被认为可刺激内皮细胞诱导 I 型纤溶酶原激活剂的溶栓,这有助于通过纤维蛋白溶解减少不稳定斑块。

2.5 外泌体中的 miR

miR 是高度保守的非编码 RNA 分子,约 22 个核苷酸长,作用于基因表达转录。miR 在不同组织和细胞类型特异性表达,在许多生物过程中发挥重要作用,包括炎症。miR 在心血管疾病炎症和代谢中的作用已在最近的一些研究中报道。虽然大多数 miR 仅存在于细胞内,但是细胞外也被少量检测到,包括各种体液。虽然细胞外存在高活性的核糖核酸酶,但细胞外的 miR 非常稳定,表明这些 miR 很可能以某种方式包装,以保护他们免受核酸酶消化。事实上,最近的研究表明,细胞外的 miR 免受降解的包装系统有外泌体。包裹 miR 的外泌体与母体细胞明显不同,这提示其是具有选择性的包裹。此外,Palma 等^[26]报道外泌体中的 miR 不能准确反映 miR 在初始细胞的数量,外泌体包含的 miR 从释放细胞到靶细胞的转运具有基因调控功能,而且有不同类型的外泌体参与转运 miR。

Ragusa 等^[27]率先发现外泌体含有的 miR 介导细胞与细胞之间的信号交流,例如,miR-1、miR-15、miR-16、miR-17、miR-18、miR-181 等,它们被发现存在于肥大细胞系分泌的外泌体中。此外,内皮细胞的 miR-143/145、单核细胞的 miR-150、T 细胞的 miR-335 和在树突状细胞的 miR-451 在外泌体中均有发现。Gallo 等^[28]得出结论,在唾液和血清中,83%~92%的 miR 来源于外泌体,其中包括 miR-7a、miR-16、miR-92a、miR-101、miR-107、miR-374 和 miR-768。

3 抗动脉粥样硬化药物对循环外泌体水平的影响

许多研究报道指出,某些抗动脉粥样硬化及心脏保护药物对于外泌体及其表面标记有影响,表明这些药物发挥的有益作用至少部分是通过降低外泌体浓度来介导的。

3.1 降脂药物

他汀类药物通过抑制羟甲基戊二酸单酰辅酶 A

还原酶降低血浆胆固醇浓度,同时也是降低低密度脂蛋白胆固醇的一线治疗药物^[4]。大量的临床研究证明了他汀类药物在预防心血管疾病的多效性,它不仅降低胆固醇,也可能影响血管内皮功能、血管炎症和血小板聚集。他汀类药物能够减少循环中总外泌体的数量,包括来自血小板、白细胞以及内皮细胞的外泌体。他汀类药物参与 G 蛋白功能修饰,主要包括细胞骨架组装、基因调控、细胞生长和运动、蛋白质和脂质转运,因此,他汀类药物可能影响膜外泌体脱落,导致脂质依赖机制中外泌体水平下降^[29]。参与细胞骨架重组和外泌体形成的 Rho 激酶通路,可能是他汀类药物抑制外泌体分泌的作用机制。

3.2 抗血小板药物

噻吩并吡啶类药物如氯吡格雷,通过活性代谢物不可逆转地结合到血小板 P2Y₁₂受体(二磷酸腺苷对血小板膜的化学感受器)。在体内和体外实验中,氯吡格雷均降低内皮细胞微泡水平^[30];氯吡格雷药物浓度与血小板外泌体水平呈负相关,提示其保护冠状动脉疾病的一个新的潜在好处。普拉格雷的活性代谢产物能有效降低胶原性血浆膜联蛋白阳性微泡的水平^[31]。此外,在 P2Y₁₂受体抑制的情况下,阿司匹林可对此类胶原性反应施加部分抑制作用,但是 P2Y₁₂受体抑制增加时,阿司匹林抑制影响不再变化。

3.3 抗氧化药物

在过去的几十年中,一些研究已经证实氧化应激在动脉粥样硬化形成中的作用。在充血性心力衰竭患者中,维生素 C 抑制细胞凋亡、降低循环促凝血外泌体水平^[32]。糖尿病和血脂异常患者心肌梗死后,维生素 C 降低内皮细胞外泌体和血小板外泌体水平,这有助于改善内皮功能。 β -受体阻滞剂卡维地洛具有抗氧化性能,通过降低内皮细胞外泌体的产生而发挥内皮保护作用^[33]。其他的保护剂如钙通道阻滞剂也表现出对血小板外泌体的影响。

4 外泌体在动脉粥样硬化治疗中的潜在作用

4.1 作为生物标志物

生物标志物定义为客观测量和评价正常生物学功能、致病过程或药物治疗干预响应的指标特征。直接评估生物状态往往具有侵入性,或过于昂贵,而生物标志物在确定病理状态和评估疾病风险方面具有显著的临床效用。此外,因为疾病终点往

往需要很长时间才出现,生物标志物提供了病理状态早期检测的可能,并可能有助于提前治疗干预。细胞外囊泡在压力或损伤的条件下形成,循环小泡很可能成为心血管疾病的生物标志物^[34]。外泌体的水平受到其形成和清除过程影响,因此血浆中其水平可能不容易被检测,但是保持一个动态的平衡。研究发现,多种疾病状态中外泌体的水平都有增加,特别是在动脉粥样硬化患者伴血管损伤、炎症和血栓形成时表现出明显的升高。

4.2 作为药物分子递送装置

细胞外的囊泡也被开发作为治疗传递的天然载体。外泌体介导的传递具有如下优点:良好的生物相容性,源自相应细胞的外泌体免疫无效,它们可以来自病人本身,具有能力跨过主要的生物屏障包括血脑屏障,治疗性蛋白质、RNA 分子甚至药物活化物可以从供体细胞内转运到外泌体等细胞外囊泡^[4]。另一方面,外泌体包含大量生物活性分子,包括遗传信息和蛋白质,这些分子可能参与维持血管稳态,为动脉粥样硬化的治疗提供新的药物靶点。

总之,针对动脉粥样硬化治疗,外泌体提供的新的诊断和治疗可能是一个有前途的研究方向。重要的是,通过一种药物引起的外泌体水平变化可以影响其他细胞过程,如细胞分化、迁移及细胞周期。但在将实验室测试转化为临床研究之前,外泌体的毒性或免疫原性需要更多的研究。尤其要控制好心血管疾病的背景下,外泌体有害和有益影响之间的微妙的平衡,这将是一个挑战。此外,对外泌体结合靶细胞的调节机制以及其摄取机制的深入研究,可能有助于我们提高外泌体真正运用的效率。

5 应用前景展望

在动脉粥样硬化病变中,外泌体的生物合成和摄取等,其功能主要是通过特异的靶细胞相互作用,并转运内容物(功能基因、蛋白质、脂质或其他的囊泡成分),因此他们可能参与心血管疾病的生理和病理过程^[35]。进一步研究其生物合成和调控机制,再根据不同功能和生物结果输送到相应靶细胞,可能为动脉粥样硬化的诊断和预后提供新的信息。

外泌体的组成和数量也可以表示疾病的严重程度,而且外泌体的水平可能反映治疗效果^[36]。一些抗动脉粥样硬化药物或饮食营养可能靶向不同细胞源的外泌体,但这些药物只能减缓动脉粥样硬化发展和减少心血管事件的发生率。外泌体的分泌激发科学家发展新的药理工程,如自然释放或者

人造微泡。在不久的将来,利用上调或下调外泌体表面相应的分子表达,外泌体可能作为新的临床治疗输送装置。此外,考虑到安全性、有效性和稳定性,外泌体的分类、离析和纯化也需要规范化,以确保在临床上可行的。进一步探索动脉粥样硬化的细胞生物学过程,也有助于更好地了解外泌体的复杂功能。由于动脉粥样硬化无症状期很长,临床确定高风险的患者并决定治疗策略以选择个性化治疗都非常重要,外泌体可能为此提供新的药物靶点,以预防和治疗动脉粥样硬化性心血管疾病。

[参考文献]

- [1] Khatun Z, Bhat A, Sharma S, et al. Elucidating diversity of exosomes: biophysical and molecular characterization methods [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2016, 11(17): 2359-377.
- [2] Wahlgren J, Statello L, Skogberg G, et al. Delivery of small interfering RNAs to cells via exosomes [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1364: 105-125.
- [3] Fang DY, King HW, Li JY, et al. Exosomes and the kidney: blaming the messenger [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2013, 18(1): 1-10.
- [4] Yin M, Loyer X, Boulanger CM. Extracellular vesicles as new pharmacological targets to treat atherosclerosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 763(Pt A): 90-103.
- [5] Peterson MF, Otoc N, Sethi JK, et al. Integrated systems for exosome investigation [J]. *Methods*, 2015, 87: 31-45.
- [6] Kanwar SS, Dunlay CJ, Simeone DM, et al. Microfluidic device (ExoChip) for on-chip isolation, quantification and characterization of circulating exosomes [J]. *Lab Chip*, 2014, 14(11): 1891-900.
- [7] Hoefer IE, Steffens S, Ala-Korpela M, et al. Novel methodologies for biomarker discovery in atherosclerosis [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(39): 2635-642.
- [8] Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimi T, et al. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction [J]. *Circulation*, 2001, 104(22): 2649-652.
- [9] Segura E, Nicco C, Lombard B, et al. ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T-cell priming [J]. *Blood*, 2005, 106(1): 216-223.
- [10] Kapustin AN, Chatrou ML, Drozdov I, et al. Vascular smooth muscle cell calcification is mediated by regulated exosome secretion [J]. *Circ Res*, 2015, 116(8): 1312-323.
- [11] Hergenreider E, Heydt S, Treguer K, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2012,

- 14(3): 249-256.
- [12] Krychtiuk KA, Kastl SP, Speidl WS, et al. Inflammation and coagulation in atherosclerosis[J]. *Hamostaseologie*, 2013, 33(4): 269-282.
- [13] Bretz NP, Ridinger J, Rupp AK, et al. Body fluid exosomes promote secretion of inflammatory cytokines in monocytic cells via Toll-like receptor signaling[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(51): 36 691-702.
- [14] Aharon A, Tamari T, Brenner B. Monocyte-derived microparticles and exosomes induce procoagulant and apoptotic effects on endothelial cells[J]. *Thromb Haemost*, 2008, 100(5): 878-885.
- [15] 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.
- [16] Liu ML, Scalia R, Mehta JL, et al. Cholesterol-induced membrane microvesicles as novel carriers of damage-associated molecular patterns: mechanisms of formation, action, and detoxification[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(9): 2 113-121.
- [17] Deng ZB, Poliakov A, Hardy RW, et al. Adipose tissue exosome-like vesicles mediate activation of macrophage-induced insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2009, 58(11): 2 498-505.
- [18] Janiszewski M, Do Carmo AO, Pedro MA, et al. Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAD(P)H oxidase activity: A novel vascular redox pathway[J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(3): 818-825.
- [19] Gambim MH, do Carmo Ade O, Marti L, et al. Platelet-derived exosomes induce endothelial cell apoptosis through peroxynitrite generation: experimental evidence for a novel mechanism of septic vascular dysfunction[J]. *Crit Care*, 2007, 11(5): R107.
- [20] Zakharova L, Svetlova M, Fomina AF. T cell exosomes induce cholesterol accumulation in human monocytes via phosphatidylserine receptor[J]. *J Cell Physiol*, 2007, 212(1): 174-181.
- [21] Bossi G, Griffiths GM. Degranulation plays an essential part in regulating cell surface expression of Fas ligand in T cells and natural killer cells[J]. *Nat Med*, 1999, 5(1): 90-96.
- [22] Munich S, Sobo-Vujanovic A, Buchser WJ, et al. Dendritic cell exosomes directly kill tumor cells and activate natural killer cells via TNF superfamily ligands[J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(7): 1 074-083.
- [23] Barry OP, Pratico D, Savani RC, et al. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles[J]. *J Clin Invest*, 1998, 102(1): 136-144.
- [24] Srikanthan S, Li W, Silverstein RL, et al. Exosome polyubiquitin inhibits platelet activation, downregulates CD36 and inhibits pro-atherothrombotic cellular functions[J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(11): 1 906-917.
- [25] Rezeli M, Gidlöf O, Evander M, et al. Comparative proteomic analysis of extracellular vesicles isolated by acoustic trapping or differential centrifugation[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(17): 8 577-586.
- [26] Palma J, Yaddanapudi SC, Pigati L, et al. MicroRNAs are exported from malignant cells in customized particles[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(18): 9 125-138.
- [27] Ragusa M, Barbagallo C, Statello L, et al. miRNA profiling in vitreous humor, vitreal exosomes and serum from uveal melanoma patients: Pathological and diagnostic implications[J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(9): 1 387-396.
- [28] 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): e30 679.
- [29] Suades R, Padro T, Alonso R, et al. Lipid-lowering therapy with statins reduces microparticle shedding from endothelium, platelets and inflammatory cells[J]. *Thromb Haemost*, 2013, 110(2): 366-377.
- [30] Hamilos M, Muller O, Ntalianis A, et al. Relationship between peripheral arterial reactive hyperemia and residual platelet reactivity after 600 mg clopidogrel[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2011, 32(1): 64-71.
- [31] Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, et al. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(10): 1 166-173.
- [32] Rossig L, Hoffmann J, Hugel B, et al. Vitamin C inhibits endothelial cell apoptosis in congestive heart failure[J]. *Circulation*, 2001, 104(18): 2 182-187.
- [33] Chan S, Chen MP, Cao JM, et al. Carvedilol protects against iron-induced microparticle generation and apoptosis of endothelial cells[J]. *Acta Haematol*, 2014, 132(2): 200-210.
- [34] Thind A, Wilson C. Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets[J]. *J Extracell Vesicles*, 2016, 5: 31 292.
- [35] Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Extracellular vesicles and atherosclerotic disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(14): 2 697-708.
- [36] Gaceb A, Martinez MC, Andriantsitohaina R. Extracellular vesicles: new players in cardiovascular diseases[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 50(1): 24-28.

(此文编辑 曾学清)