

DOI: 10.13376/j.cblls/2019126

文章编号: 1004-0374(2019)10-1025-10

# 血管内皮细胞外泌体的生物学作用 及其分子机制的研究进展

罗俊容, 潘美伶, 王玉洁, 杜小强, 高文博, 曾 烨\*

(四川大学华西基础医学与法医学院生物医学工程研究室, 成都 610041)

**摘要:** 外泌体是细胞分泌的一种纳米级胞外囊泡, 通过携带蛋白质和核酸等小分子物质参与细胞间信号交流。内皮细胞来源的外泌体在许多病理生理过程中起着十分重要的作用。现综述血管内皮细胞外泌体的生物学作用及其分子机制的最新研究进展, 重点关注血管内皮细胞外泌体在心血管疾病、缺血再灌注损伤、肿瘤发生发展和免疫调节等过程中的重要作用, 及其调控受体细胞功能的分子机制。

**关键词:** 血管内皮细胞; 外泌体; 疾病; 分子机制

中图分类号: R730 文献标志码: A

## Research advances on the biological function and molecular mechanism of exosomes derived from vascular endothelial cells

LUO Jun-Rong, PAN Mei-Ling, WANG Yu-Jie, DU Xiao-Qiang, GAO Wen-Bo, ZENG Ye\*

(Institute of Biomedical Engineering, West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine,  
Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** Exosomes are a kind of nano-scale extracellular vesicles secreted by cells such as endothelial cells, which are involved in intercellular communication by carrying small molecules such as proteins and nucleic acids. It has been reported that the vascular endothelial cell-derived exosomes play an important role in many pathophysiological processes. This review summarized the recent advances in the biological role of endothelial cell-derived exosomes and their molecular mechanisms, with a focus on the vital roles of endothelial cell-derived exosomes in cardiovascular diseases, ischemia-reperfusion injury, tumorigenesis, immune regulation, and their molecular mechanism of regulating the receptor cell function.

**Key words:** vascular endothelial cell; exosome; disease; molecular mechanism

外泌体是一种细胞外囊泡, 它通过向受体细胞递送其所携带的脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA)、核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA)、脂类和蛋白质等物质来介导细胞间信号通讯<sup>[1]</sup>。血管内皮细胞是血管生成 (angiogenesis) 的重要效应细胞。近年来, 研究者发现血管内皮细胞来源的外泌体在心血管疾病、肿瘤和脓毒症等方面发挥着重要作用<sup>[2-4]</sup>, 备受关注。本文综述了血管内皮细胞外泌体的生物学功能及其分子机制的最新研究进展, 以帮助研究者更好地认识血管内皮细胞外泌体在心血管疾病、缺血再灌注损伤、肿瘤和脓毒症等疾病中的重要作

用, 阐明血管内皮细胞外泌体的功能机制, 帮助提高这些疾病的临床诊断、治疗和预后水平。

### 1 血管内皮细胞外泌体

国际胞外囊泡协会 (International Society for Extracellular Vesicles) 规定, 胞外囊泡是由细胞自然释放的一类由脂质双分子层界定、不含功能核

收稿日期: 2019-04-29; 修回日期: 2019-07-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(11402153)

\*通信作者: E-mail: ye@scu.edu.cn, Tel: 18140121136

且不能复制的颗粒的通称<sup>[5]</sup>。胞外囊泡根据起源不同,可分为外泌体(exosomes)和微泡(ectosomes, shedding vesicles, microvesicles 或 microparticles)。其中,外泌体由多泡内体(multivesicular endosomes)与细胞膜融合后释放而形成,其直径为30~150 nm;而微泡则由细胞质膜出芽释放,其直径为100~1000 nm<sup>[6]</sup>。根据起源条件和细胞不同,胞外囊泡中特定亚型又被定义为足细胞胞外囊泡(podocyte EVs)、低氧胞外囊泡(hypoxic EVs)、大肿瘤微粒(large oncosomes)和凋亡小体(apoptotic bodies)等<sup>[5]</sup>。

外泌体由镶嵌蛋白质或小分子物质的磷脂双分子层,及其包裹的蛋白质、核酸和其他代谢物所组成。当前认为,外泌体形成的机制主要有内吞体运输分选复合物(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)依赖和ESCRT非依赖两种形式。实际上,不同细胞生成外泌体的机制存在异质性。外泌体的形成过程主要可分为三个阶段:第一阶段为多囊泡内体腔内囊泡的形成,ESCRT<sup>[7]</sup>、肿瘤易感基因101蛋白<sup>[8]</sup>和鞘磷脂、神经酰胺<sup>[9]</sup>等在此过程中发挥了重要的作用。第二阶段是多囊泡内体在细胞内的转运。多囊泡内体可被转运至溶酶体发生降解,也可被转运至细胞膜,其向细胞膜的转运依赖于它们与肌动蛋白和微管细胞骨架的相互作用。第三阶段为外泌体的释放,源于多囊泡内体与细胞膜的融合<sup>[10]</sup>。内皮细胞Ea.hy926外泌体的分泌受整合素金属蛋白酶17(A disintegrin and metalloprotease 17, ADAM-17)调控,ADAM-17可抑制外泌体分泌,从而降低脑啡肽酶的释放量<sup>[11]</sup>。

## 2 血管内皮细胞外泌体的内容物

外泌体的分泌量随起源细胞的不同而不同<sup>[12]</sup>。血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是血管内皮细胞的前体细胞<sup>[13]</sup>,而内皮细胞集落形成细胞(endothelial colony-forming cells, ECFCs)被认为是“晚期”的EPCs,拥有更强的增殖能力和自我分化能力<sup>[14]</sup>。血管内皮细胞、EPC和ECFCs分泌的外泌体中的主要微小RNA(microRNA, miRNA)和蛋白质内容物有:miR-126<sup>[15-22]</sup>、miR-10b-5p<sup>[23]</sup>、miR-486-5p<sup>[24]</sup>、miR-146a<sup>[25]</sup>、miR-143<sup>[26]</sup>、miR-210<sup>[27]</sup>、miR-214<sup>[28]</sup>、miR-191<sup>[16]</sup>、miR-125a<sup>[16]</sup>、miR-15a<sup>[29]</sup>、miR-34a<sup>[29]</sup>、miR-375<sup>[4]</sup>、miR-630<sup>[30]</sup>、miR-218<sup>[31]</sup>、转化生长因子-β1(transforming growth factor-beta1, TGF-β1)<sup>[32]</sup>、TGF-β1信使RNA(messenger RNA, mRNA)<sup>[33]</sup>、Delta-like protein 4(Dll4)<sup>[34]</sup>、多功能蛋白聚糖Versican<sup>[35]</sup>、

赖氨酰氧化酶样2(lysyl oxidase-like 2, LOXL2)<sup>[36]</sup>、巨细胞病毒抗原<sup>[37]</sup>、热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)<sup>[38]</sup>和干扰素-λ(interferon-λ, IFN-λ)<sup>[39]</sup>等。表1和表2整理了这些外泌体内容物的来源和主要生物学功能。内皮细胞可通过这些内容物调控血管内皮细胞、癌细胞、心肌成纤维细胞和T细胞等的生物学功能。

## 3 血管内皮细胞外泌体的生物学作用

血管内皮细胞外泌体在动脉粥样硬化、心肌病、深静脉血栓、高血压、缺血再灌注损伤、肿瘤和脓毒症等疾病中起着十分重要的作用。

### 3.1 动脉粥样硬化

氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)诱导的血管内皮细胞损伤和凋亡被认为是动脉粥样硬化的重要起始事件。ox-LDL的激活可促使单核细胞黏附于血管内皮细胞,并侵入内皮下间隙,转分化为巨噬细胞。人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)经ox-LDL处理后,可通过释放富含转移相关的肺腺癌转录物1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)的外泌体,促进M2巨噬细胞的极化<sup>[42]</sup>。

Krüppel样因子2(Krüppel-like factor 2, KLF2)是一种剪切反应的转录因子,是动脉粥样硬化的保护因子<sup>[43]</sup>。HUVECs过表达KLF2或在切应力作用下,KLF2表达增加,可促进富miR-143/150的细胞外囊泡释放,该囊泡可抑制平滑肌细胞靶基因如*ELK1*<sup>[44]</sup>、*KLF4*<sup>[45]</sup>的表达,从而诱导平滑肌细胞的动脉粥样硬化表型。动物实验同样证明,过表达KLF2的血管内皮细胞所生成的细胞外囊泡可降低*ApoE*<sup>-/-</sup>小鼠主动脉粥样硬化病变程度<sup>[26]</sup>。Ox-LDL处理和KLF2基因过表达还可分别促进HUVECs释放富miR-155的细胞外囊泡,作用于单核细胞并调控巨噬细胞表型<sup>[46]</sup>。

### 3.2 血管钙化与衰老

与正常HUVEC来源的外泌体相比,高糖(high glucose, HG)诱导HUVEC外泌体中多功能蛋白聚糖Versican上调<sup>[35]</sup>。该富Versican的外泌体被血管平滑肌细胞募集和活化后,Versican作用于血管平滑肌细胞线粒体,降低线粒体膜电位和线粒体三功能蛋白α亚基(hydroxyacyl-CoA dehydrogenase/3-ketoacyl-CoA thiolase/enoyl-CoA hydratase, alpha subunit, HADHA)、细胞色素氧化酶4(cytochrome

表1 内皮细胞外泌体miRNA及其功能

microRNA	刺激因素	来源	靶细胞	相关疾病	功能	文献
<b>正常水平</b>						
miR-126	N/A	HUVECs	MNSC、IMR-90	肠型鼻窦腺癌	抑制癌细胞增殖	[21]
miR-503	N/A	HUVECs	人乳腺癌细胞	乳腺癌	抑制癌细胞增殖	[3]
miR-10b-5p	N/A	ECFCs	心脏成纤维细胞	缺血性心脏病	抗纤维化	[23]
miR-486-5p	N/A	ECFCs	HUVECs	缺血性肾损伤	抑制细胞凋亡	[24]
miR-214	N/A	HMECs	HMECs	血管生成	促进血管生成	[28]
miR-126	N/A	EPCs	HMECs	脓毒症	防止微血管功能障碍、改善脓毒症疗效	[40]
<b>上调</b>						
miR-126	香烟烟雾	HLMVECs、HPAEC和MLECs	单核细胞来源的巨噬细胞	慢性阻塞性肺疾病	抑制巨噬细胞的胞葬作用	[16]
miR-191和miR-125	运动	EPCs	脑内皮细胞	心血管疾病	抑制内皮细胞损伤、促进血管生成	[17]
miR-146a	脂多糖	EPCs	HUVECs	急性肺损伤	促进细胞增殖、迁移和血管生成	[19]
miR-143和miR-145	正常/葡萄糖剥夺	HUVECs	A549	非小细胞肺癌	抑制癌细胞增殖和成瘤	[20]
miR-210	外泌体转染miR-126模拟物	EPCs	HUVECs	深静脉血栓	促进细胞增殖和血管生成	[22]
miR-375	香烟烟雾	HLMVECs、HPAEC和MLECs	单核细胞来源的巨噬细胞	慢性阻塞性肺疾病	抑制巨噬细胞的胞葬作用	[16]
miR-218	N-末端催乳素片段	HUVECs	心肌细胞	围产期心脏病	降低心肌细胞代谢	[25]
miR-218	KLF2过表达/切应力	HUVECs	人主动脉平滑肌细胞	动脉粥样硬化	降低动脉粥样硬化病变程度	[26]
miR-218	EPCs转染miR-210模拟物	EPCs	脑内皮细胞	缺血性肾损伤	降低H/R诱导的线粒体氧化损伤	[27]
miR-218	IL-10敲除	EPCs	HUVECs	系统性炎症	抑制内皮细胞成血管能力	[4]
<b>下调</b>						
miR-218	氧化应激	RAPC	ECs	缺血性肾损伤	促进内皮细胞迁移	[31]

表注: HUVECs, human umbilical vein endothelial cells, 人脐静脉内皮细胞; MNSC, malignant nasal squamous cell carcinoma, 鼻腔恶性鳞状细胞癌细胞; IMR-90, 纤维母细胞(fibroblasts); ECFCs, endothelial colony-forming cells, 内皮细胞集落形成细胞; HMECs, human microvascular endothelial cells, 人微血管内皮细胞; EPCs, endothelial progenitor cells, 内皮祖细胞; HLMVECs, primary human lung microvascular endothelial cells, 原代人肺微血管内皮细胞; HPAEC, human pulmonary artery endothelial cells, 人肺动脉内皮细胞; MLECs, mouse lung endothelial cells, 小鼠肺内皮细胞; A549, 非小细胞肺癌A549细胞株; RAPCs, renal artery-derived vascular progenitor cells, 肾动脉源性血管祖细胞; ECs, endothelial cells, 内皮细胞。

表2 内皮细胞外泌体差异蛋白质及其功能

蛋白质	刺激因素	来源	靶细胞	相关疾病	功能	文献
<b>上调</b>						
Dll4	3D微流与胶原基质	内皮尖端细胞	远端内皮细胞	血管生成	增强细胞迁移、抑制细胞增殖	[34]
HSP70	氧化型低密度脂蛋白、高半胱氨酸	RAECs	单核细胞	心血管	抑制单核细胞黏附	[38]
Versican	高糖	HUVECs	血管平滑肌细胞	糖尿病	线粒体功能紊乱、细胞钙化/衰老	[35]
LOX-2	低氧	HMECs	N/A	纤维化和伤口愈合	增加赖氨酸氧化酶和胶原交联活性	[41]
<b>下调</b>						
TGF- $\beta$ 1	高糖	GECs	GMCs	糖尿病肾病	细胞活化、增殖和细胞外基质过表达	[32]
巨细胞病毒抗原	巨细胞病毒感染	HUVECs	CD4 <sup>+</sup> T细胞	艾滋病或器官移植	刺激同种异体CD4 <sup>+</sup> T细胞增殖	[37]
IFN- $\lambda$	PolyI:C	HBMECs	巨噬细胞	艾滋病	抑制HIV复制	[39]

表注: Dll4, delta-like protein 4; HSP70, heat shock protein 70, 热休克蛋白70; RAECs, rat aortic endothelial cells, 大鼠主动脉内皮细胞; LOXL2, lysyl oxidase-like 2, 赖氨酰氧化酶样2; HMECs, human microvascular endothelial cells, 人微血管内皮细胞; TGF- $\beta$ 1, transforming growth factor-beta1, 转化生长因子- $\beta$ 1; GECs, glomerular endothelial cells, 肾小球内皮细胞; GMCs, glomerular mesangial cells, 肾小球系膜细胞; IFN- $\lambda$ , interferon- $\lambda$ , 干扰素- $\lambda$ ; PolyI:C, polyinosinic:polycytidylic acid, 聚肌苷酸-聚胞苷酸; HBMECs, human brain microvascular endothelial cells, 人脑微血管内皮细胞。

oxidase-4, Cox-4) 蛋白的表达水平, 最终导致线粒体功能紊乱和细胞钙化 / 衰老。

### 3.3 围产期心肌病

围产期心肌病 (peripartum cardiomyopathy, PPCM) 是以心肌病变为基本特征和以充血性心力衰竭为主要表现的心脏病变。16-kDa N-末端催乳素片段 (16-kDa N-terminal prolactin fragment, 16K PRL) 是启动和驱动 PPCM 的潜在因子。内皮细胞在 16K PRL 作用下, 释放富含 miR-146a 的外泌体作用于心肌细胞, 降低心肌细胞靶基因 *ErbB4*、*Notch1* 和 *Irak1* 的表达, 从而降低心肌细胞代谢<sup>[25]</sup>。

### 3.4 深静脉血栓

深静脉血栓 (deep vein thrombosis, DVT) 由深静脉凝血引起。miR-126 能够抑制靶基因 *PIK3R2* 的表达, 并激活 PI3K/Akt 信号通路, 增强 EPCs 在静脉血栓中的募集, 提高 EPCs 的体外迁移和血管生成能力<sup>[47]</sup>。利用电穿孔法将 miR-126 转入 EPCs 释放的外泌体中, 可抑制 EPCs 原钙黏蛋白基因 -7 (*Protocadherin-7*) 的表达, 并促进深静脉血栓模型小鼠的血管再通<sup>[22]</sup>。

### 3.5 高血压

脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 和缺氧可诱导肺主动脉内皮细胞 (pulmonary artery endothelial cells,

PAEC) 释放外泌体, 促进肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary artery smooth muscle cells, PASMC) 的增殖, 抑制细胞凋亡, 可能参与肺动脉高压的形成<sup>[48]</sup>。

### 3.6 缺血再灌注损伤

ECFCs 释放的外泌体中富含 miR-486-5p, 可抑制缺氧 / 复氧 (hypoxia/reoxygenation, H/R) 条件下 HUVECs 的 PTEN (phosphatase and tensin homolog) 表达, 促进 Akt 蛋白磷酸化, 保护小鼠免受肾缺血 / 再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤<sup>[24]</sup>。

与低氧条件比较, 正常条件下 ECFCs 释放更多富含 miR-10b-5p 的外泌体。miR-10b-5p 可抑制纤维化基因泛素连接酶 Smad 泛素化调节因子 1 (smad ubiquitin regulatory factor 1, Smurf1) 和组氨酸去乙酰化酶 (histone deacetylase 4, HDAC4) 的表达, 从而抑制低氧条件下心脏成纤维细胞的活化, 抑制心脏纤维化<sup>[23]</sup>。EPCs 来源外泌体可抑制间充质-内皮转换相关基因和心肌纤维化调节蛋白高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein B1, HMGB1) 的表达, 促进内皮细胞特异标记物如 CD31 和血管内皮生长因子受体 2 的表达, 抑制纤维化相关蛋白如  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白、波形蛋白、I 型胶原、TGF- $\beta$ 1 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  的表达, 从而促进心脏成纤维细胞的增殖和血管生成<sup>[49]</sup>。

尾静脉注射的肾动脉源性血管祖细胞 (renal artery-derived vascular progenitor cells, RAPC) (来源于肾动脉的 CD34<sup>+</sup>/CD105<sup>-</sup> 细胞) 可整合入急性 I/R 损伤小鼠的肾微血管网络<sup>[31]</sup>。I/R 条件下, 股动脉内皮细胞释放的外泌体可促进 Bcl-2 的表达, 抑制神经细胞 SH-SY5Y 中 Bax 和 Caspase-3 的表达, 促进细胞增殖、迁移和侵袭, 从而保护神经细胞免受 I/R 损伤<sup>[50]</sup>。

此外, EPCs 转染 miR-210 模拟物后释放富 miR-210 的外泌体, 能够减少 H/R 诱导的脑内皮细胞凋亡, 抑制活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的过度产生和成血管功能障碍, 同时还可以减少线粒体片段化, 增加线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 和 ATP 水平, 促进线粒体动力相关蛋白 1 (dynamins-related protein 1, Drp1) 和线粒体融合蛋白 -2 (mitofusin-2, Mfn2) 等裂变和融合蛋白的表达, 保护内皮细胞免受 H/R 损伤<sup>[27]</sup>。

### 3.7 肿瘤

乳腺癌组织中 miR-503 较癌旁组织显著低表达, 正常 HUVECs 外泌体通过递送 miR-503 抑制 MDA-MB-231 乳腺癌细胞的增殖和浸润<sup>[3]</sup>。

miR-126 在鼻窦肠型腺癌 (intestinal-type sinonasal adenocarcinomas, ITACs) 中低表达<sup>[21]</sup>。HUVECs 来源外泌体中富 miR-126, 可抑制鼻腔恶性鳞状细胞癌的靶基因胰岛素受体底物 -1 (insulin receptor substrate 1, IRS1) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等的表达, 从而抑制细胞的增殖和成瘤<sup>[21]</sup>。

在非小细胞肺癌患者中, miR-126 在血清、外泌体及无外泌体血清中的表达量均较健康对照有显著增加, 但其主要存在于外泌体中。来源于非小细胞肺癌患者的外泌体可促进人气道上皮细胞的血管生成和转移。正常或葡萄糖剥夺的 HUVECs 释放富 miR-126 的外泌体, 可抑制 A549 细胞的 IRS1 和 VEGF 的表达, 抑制肿瘤细胞的生长和成瘤<sup>[20]</sup>。

人脑微血管内皮细胞可通过释放外泌体, 促进小细胞肺癌细胞高表达 S100A16, 从而抑制小细胞肺癌线粒体膜电位丢失, 增强细胞在应激条件下的凋亡抵抗和细胞活性<sup>[51]</sup>。

鼠脑内皮细胞 bEND.3 来源外泌体可跨血脑屏障将 VEGF siRNA 递送至胶质母细胞瘤-星形细胞瘤 U-87 MG 细胞构建的斑马鱼脑肿瘤, 降低癌细胞数量<sup>[52]</sup>。

内皮细胞还可能通过外泌体的方式释放血管生成素 -2 (angiopoietin-2, Ang2), 调控肿瘤生长<sup>[53]</sup>。

### 3.8 脓毒症

脓症患者来源的 EPCs 外泌体高表达 miR-34a, 但是低表达 miR-15a 和 miR-27a。生物信息学分析表明这三种 miRNAs 与内皮细胞周期、凋亡、VEGF 信号、脂多糖刺激的 MAPK 信号, 以及 NF- $\kappa$ B 信号通路密切相关<sup>[29]</sup>。EPC 外泌体中有丰富的 miR-126, 通过抑制脂多糖诱导的人微血管内皮细胞的 HMGB1 和血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1) 的表达, 防止微血管功能障碍、改善脓毒症疗效<sup>[40]</sup>。

IL-10 基因敲除的系统性炎症模型小鼠, 其血管生成功能受损, 心肌梗死后恢复能力降低, EPC 外泌体中 miR-375 水平升高<sup>[4]</sup>。抑制 EPC 的 miR-375 表达可降低外泌体的 miR-375 水平, 促进靶基因 *PDK1* 表达, 活化 PI3K/AKT 信号通路, 提高血管生成能力<sup>[4]</sup>。

### 3.9 免疫调节

巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 感染的 HUVEC 通过释放抗原性外泌体激活 CMV 阳性供者的 CD4<sup>+</sup> T 细胞, 从而引起受者的内皮细胞功能损伤, 加剧移植器官的排斥反应<sup>[37]</sup>。

心脏内皮细胞 (cardiac endothelial cells, CECs) 来源的外泌体携带的整合素  $\alpha$ v $\beta$ 6, 可促进 B 细胞释放 TGF- $\beta$ , 抑制效应 T 细胞的增殖, 具有免疫抑制功能<sup>[54]</sup>。丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染后的人肝窦内皮细胞释放外泌体, 抑制受感染肝细胞的病毒复制<sup>[55-56]</sup>。活化的 Toll 样受体 3 (Toll-like receptor 3, TLR3) 信号通路可刺激人脑微血管内皮细胞释放含抗病毒因子 IFN- $\lambda$  等的外泌体, 抑制人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 在巨噬细胞中的复制, 恢复 HIV 感染后巨噬细胞的抗病毒能力<sup>[39]</sup>。

Ox-LDL 和高半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 可提高大鼠主动脉内皮细胞外泌体中的热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 的表达水平, 抑制脂多糖作用下单核细胞在内皮细胞上的黏附, 维持血管稳态<sup>[38]</sup>。

饥饿条件可能促进人内皮细胞 AS-M.5 和鼠脑内皮细胞 bEND.3 释放富癌胚抗原相关细胞黏附分子 1 (carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule-1, CEACAM1) 的胞外囊泡<sup>[57]</sup>, 而 CEACAM1 可以抑制 T 细胞的增殖和活化<sup>[58]</sup>。

### 3.10 纤维化和伤口愈合

2% 低氧条件下, 人微血管内皮细胞 HMEC-1

释放的外泌体中, 赖氨酰氧化酶样 2 (lysyl oxidase-like 2, LOXL2) 水平增加约 2 倍<sup>[36]</sup>, 增加赖氨酸氧化酶 (lysyl oxidase) 和胶原交联活性, 可能在纤维化和伤口愈合过程中起重要作用<sup>[41]</sup>。

毛细血管内皮尖端细胞 (endothelial tip cells) 释放富含 Dll4 的外泌体, 促进受体内皮细胞细胞迁移, 但是抑制细胞增殖和血管出芽形成 (sprout formation)<sup>[34]</sup>。

高糖条件下, 肾小球内皮细胞外泌体中 TGF- $\beta$ 1 水平增加, 通过 TGF- $\beta$ 1/Smad3 信号通路活化肾小球系膜细胞, 促进细胞增殖和细胞外纤黏蛋白、IV 型胶原的过表达, 参与糖尿病肾病肾脏纤维化。通心络可以抑制该富 TGF- $\beta$ 1 外泌体的释放及其相关功能<sup>[32]</sup>。

#### 4 血管内皮细胞外泌体作用的分子机制

外泌体对靶细胞功能的调节作用与其内容物息息相关。如血管内皮细胞外泌体通过向靶细胞递送内容物, 从而调控靶细胞的增殖、迁移、凋亡及血管生成与再内皮化等功能。

##### 4.1 调节细胞增殖、迁移和凋亡

EPCs 释放富含 miR-126 的外泌体, 可下调内皮细胞的 *SPRED1* 基因表达, 活化 RAF/细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1/2, ERK1/2) 信号通路, 促进血管内皮细胞的增殖、迁移和血管生成<sup>[19]</sup>。HUVECs 外泌体中的 miR-126, 靶向抑制非小细胞肺癌 A549 细胞的 *IRS1* 和 *VEGF* 基因的表达, 抑制癌细胞的增殖和成瘤<sup>[20]</sup>。高糖处理的肾小球内皮细胞可释放富含 TGF- $\beta$ 1 mRNA 的外泌体, 通过 TGF- $\beta$ 1/Smad3 信号通路促进肾小球系膜细胞的  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白表达、胞外基质蛋白过度表达增加和细胞增殖<sup>[33]</sup>。

miR-126 还可以抑制鼻窦肠型腺癌细胞的葡萄糖摄取和糖酵解, 恢复氧化磷酸化作用, 改变癌细胞能量代谢方式; 同时还可下调 *IRS1* 和 *VEGF* 的表达, 抑制 MAPK/ERK 信号通路, 抑制癌细胞增殖和迁移<sup>[21]</sup>。HUVEC 外泌体中 miR-503 可抑制 *CCND2* 和 *CCND3* 基因表达, 从而抑制乳腺癌细胞的增殖和浸润<sup>[3]</sup>。

缺血再灌注损伤后, 过氧化氢处理后的 RAPC 细胞释放低 miR-218、高 *Robo1* mRNA 水平的外泌体, 诱导过氧化氢损伤的内皮细胞迁移<sup>[31]</sup>。股动脉内皮细胞释放的外泌体, 通过促进神经细胞 SH-SY5Y 的 Bcl-2 表达, 抑制 Bax 和 caspase-3 的表达, 促进细胞增殖、迁移和侵袭, 保护细胞免受

缺血再灌注损伤<sup>[50]</sup>。缺氧状况下, ECFCs 分泌的外泌体可作用于内皮细胞, 抑制内皮细胞 PTEN 的表达, 促进 Akt 蛋白磷酸化, 增加紧密连接蛋白 ZO-1 的表达, 促进内皮细胞迁移<sup>[59]</sup>。淋巴内皮细胞分泌的外泌体和胞外囊泡可以促进表达 CX3CR1 (CX3C chemokine receptor 1) 的树突状细胞的方向性迁移<sup>[60]</sup>。脂多糖和缺氧条件下, PAEC 的外泌体可以作用于 PSMC, 促进 PSMC 的增殖, 抑制细胞凋亡<sup>[48]</sup>。

##### 4.2 调节血管生成与再内皮化

HMEC-1 分泌富含 miR-214 的外泌体, 可以通过下调内皮细胞的共济失调毛细血管扩张症突变基因 (ataxia telangiectasia mutated, ATM) 的表达, 增强内皮细胞的迁移能力, 促进血管生成<sup>[28]</sup>。

音猬因子 (sonic hedgehog, SHH) 是一种分泌型蛋白, 在生理条件下可调节内皮细胞生长, 促进细胞迁移和血管生成。EPC 分泌的带有 SHH 分子的外泌体通过内皮细胞 SHH 信号通路促进血管生成<sup>[61]</sup>。运动可刺激 EPC 释放富含 miR-126 的外泌体, 通过抑制 SPRED1/VEGF 信号通路, 抑制内皮细胞损伤, 促进血管生成<sup>[17]</sup>。

此外, 急性肢体缺血患者体内的循环促血管生成细胞 (proangiogenic cells, PACs) 可释放含 miR-15a/16 的外泌体抑制 AKT3 和 VEGF-A 的表达, 而携带 miR-15a/16 拮抗剂的健康 PACs 来源的外泌体可以提高缺血后血流恢复及免疫缺陷小鼠的肌小动脉密度<sup>[62]</sup>。

毛细血管内皮尖端细胞 (endothelial tip cells) 释放富含 Dll4 的外泌体, 上调受体内皮细胞 *Hey1* 和 *Hes1* 基因的表达, 激活 Notch 信号通路, 促进细胞迁移, 但是抑制细胞增殖, 抑制血管出芽形成<sup>[34]</sup>。

血管内皮细胞可释放 Ang2。同时抑制 Ang2 和 VEGF 可以更好地抗血管生成并抑制肿瘤生长<sup>[63]</sup>。内皮细胞可能通过外泌体的方式释放 Ang2, 这一过程受 PI3K/Akt/eNOS 信号通路的负调控和 Syndecan-4/Syntenin 通路的正调控<sup>[53]</sup>。

#### 5 总结与展望

血管内皮细胞外泌体含有 mRNA、miRNA 和蛋白质等多种内容物。在不同条件下, 血管内皮细胞外泌体及其内容物水平发生变化, 可影响靶细胞的增殖、凋亡和迁移能力, 调节血管生成以及再内皮化, 参与机体的免疫调节等, 在心血管疾病、缺血再灌注损伤和癌症等多种疾病的发生发展和转归

中起着重要作用。

正常血管内皮细胞来源的外泌体中不同成分可产生相似的生物学作用, 如 HUVEC 外泌体中 miR-503 和 miR-126 都可以抑制癌细胞的增殖<sup>[3,20-21]</sup>。不同来源血管内皮细胞外泌体的相同成分也可能拥有相似的生物学作用, 如 HLMVEC、HPAEC 和 MLEC 外泌体中 miR-126 均可抑制单核细胞来源的巨噬细胞的胞葬作用, 从而治疗慢性阻塞性肺疾病<sup>[16]</sup>。不同刺激条件诱导血管内皮细胞或 EPCs 释放的外泌体中的相同成分也可具有相似的生物学作用, 如 EPCs 在运动或脂多糖条件下释放的外泌体 miR-126 均可促进血管生成。现有文献还表明, 病理或生理条件下, 内皮细胞释放的外泌体均发挥保护或治疗的生物学作用, 如血管内皮细胞外泌体抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭, 抑制缺血性肾损伤时的血管内皮细胞凋亡<sup>[24]</sup>, 保护神经细胞免受 I/R 损伤<sup>[50]</sup>, 抑制恶性肿瘤生长<sup>[20]</sup> 和治疗缺血性心脏病<sup>[4]</sup> 等。但是, 正常或病理条件下, 血管内皮细胞功能维持或改变与外泌体的释放之间的内在关联, 及血管内皮细胞功能损伤为什么仅释放保护性的外泌体均值得进一步商榷。

EPC 外泌体和 EPC 细胞一样具有多种保护作用。EPC 释放的外泌体中 miR-126 和 miR-375 等都可通过活化 PI3K/AKT 信号通路促进血管生成<sup>[4,22,47]</sup>。EPC 外泌体还可用于治疗深静脉血栓<sup>[22]</sup> 和缺血性肾损伤<sup>[27]</sup>。EPC 外泌体或许较 EPC 能起到更好的治疗效果。

此外, 有文献虽然报道了内皮细胞外泌体的生物学功能, 但是并没有探究具体的内容物。如人脑微血管内皮细胞可增强小细胞肺癌活性<sup>[51]</sup>。HUVECs 释放的外泌体可促进神经细胞 SH-SY5Y 的增殖和迁移, 促进缺血再灌注损伤修复<sup>[50]</sup>。脂多糖和缺氧条件下, PAEC 释放外泌体促进 PSMC 的增殖, 抑制细胞凋亡, 调控肺动脉高压<sup>[48]</sup>。姜黄素可促进小鼠脑内皮细胞释放外泌体, 在高半胱氨酸损伤的内皮细胞中可降低基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases-9, MMP-9) 的活性, 增加连接蛋白、黏附连接蛋白的表达, 改善高半胱氨酸血症时内皮细胞功能障碍<sup>[64]</sup>。

内皮细胞还分泌一些外泌体样囊泡。如 8-溴环一磷酸腺苷 (8-bromo-cyclic AMP) 可诱导 HUVECs 释放含 I 型肿瘤坏死因子受体 (type I tumor necrosis factor receptor, TNFR1) 的外泌体样囊泡, 该囊泡的释放依赖于 PKA (protein kinase A) 信号通路, 并

受布雷菲德菌素 A 抑制的鸟嘌呤核苷酸交换蛋白 2 (brefeldin A-inhibited guanine nucleotide exchange protein 2, BIG2) 调控<sup>[65-66]</sup>。血清饥饿诱导内皮细胞凋亡, 并释放含有丰富的肿瘤易感基因 101 (tumor susceptibility gene 101) 和翻译控制肿瘤蛋白 (translationally controlled tumor protein, TCTP) 的胞外囊泡, 这些囊泡的生成与 caspase-3 相关, 它可以诱导 ERK1/2 依赖的血管平滑肌细胞抗凋亡表型<sup>[67]</sup>。这些胞外囊泡生成释放的分子机制对于外泌体生成释放机制研究具有重要的参考价值。

总之, 血管内皮来源的外泌体功能及其分子机制的研究尚处于起步阶段, 相关机制研究需要深入。研究者可重点关注以下问题: 在病理生理条件下, 外泌体中有效或关键分子如何变化, 各有效分子之间如何交互作用, 有效分子如何包裹入外泌体, 外泌体如何生成和释放, 外泌体定向运输如何调控, 靶细胞又如何募集和活化外泌体。此外, 有效分子在细胞和外泌体两个不同时空定位和分布的情况下, 功能是否存在差异等问题也尚不清楚, 这都是未来可向深度发展的方向。随着研究的深入, 血管内皮细胞更多的内容物将被发现, 血管内容物的生物学功能将被明确, 血管内皮细胞外泌体的生成和释放及其内容物包装和释放的分子机制将被阐明, 这将为心血管疾病的诊断和治疗提供新的靶点, 同时为外泌体用于相关疾病的治疗提供理论依据。

### [参 考 文 献]

- [1] Gurunathan S, Kang MH, Jeyaraj M, et al. Review of the isolation, characterization, biological function, and multifarious therapeutic approaches of exosomes. *Cells*, 2019, 8: E307
- [2] Barile L, Moccetti T, Marban E, et al. Roles of exosomes in cardioprotection. *Eur Heart J*, 2017, 38: 1372-9
- [3] Bovy N, Blomme B, Freres P, et al. Endothelial exosomes contribute to the antitumor response during breast cancer neoadjuvant chemotherapy via microRNA transfer. *Oncotarget*, 2015, 6: 10253-66
- [4] Yue Y, Garikipati VNS, Verma SK, et al. Interleukin-10 deficiency impairs reparative properties of bone marrow-derived endothelial progenitor cell exosomes. *Tissue Eng Part A*, 2017, 23: 1241-50
- [5] Thery C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the international society for extracellular vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7: 1535750

- [6] Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell*, 2016, 164: 1226-32
- [7] Raiborg C, Stenmark H. The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature*, 2009, 458: 445-52
- [8] Nabhan JF, Hu R, Oh RS, et al. Formation and release of arrestin domain-containing protein 1-mediated microvesicles (ARMMs) at plasma membrane by recruitment of TSG101 protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 4146-51
- [9] Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*, 2008, 319: 1244-7
- [10] Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*, 1996, 183: 1161-72
- [11] Kuruppu S, Rajapakse NW, Minond D, et al. Production of soluble neprilysin by endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 446: 423-7
- [12] Charoenviriyakul C, Takahashi Y, Morishita M, et al. Cell type-specific and common characteristics of exosomes derived from mouse cell lines: yield, physicochemical properties, and pharmacokinetics. *Eur J Pharm Sci*, 2017, 96: 316-22
- [13] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997, 275: 964-7
- [14] Blann AD, Balakrishnan B, Shantsila E, et al. Endothelial progenitor cells and circulating endothelial cells in early prostate cancer: a comparison with plasma vascular markers. *Prostate*, 2011, 71: 1047-53
- [15] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, et al. MiR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell*, 2008, 15: 272-84
- [16] Serban KA, Rezaie S, Petrusca DN, et al. Structural and functional characterization of endothelial microparticles released by cigarette smoke. *Sci Rep*, 2016, 6: 31596
- [17] Ma C, Wang J, Liu H, et al. Moderate exercise enhances endothelial progenitor cell exosomes release and function. *Med Sci Sports Exerc*, 2018, 50: 2024-32
- [18] Chen F, Du Y, Esposito E, et al. Effects of focal cerebral ischemia on exosomal versus serum miR126. *Transl Stroke Res*, 2015, 6: 478-84
- [19] Wu X, Liu Z, Hu L, et al. Exosomes derived from endothelial progenitor cells ameliorate acute lung injury by transferring miR-126. *Exp Cell Res*, 2018, 370: 13-23
- [20] Grimolizzi F, Monaco F, Leoni F, et al. Exosomal miR-126 as a circulating biomarker in non-small-cell lung cancer regulating cancer progression. *Sci Rep*, 2017, 7: 15277
- [21] Tomasetti M, Re M, Monaco F, et al. MiR-126 in intestinal-type sinonasal adenocarcinomas: exosomal transfer of miR-126 promotes anti-tumour responses. *BMC Cancer*, 2018, 18: 896
- [22] Sun J, Zhang Z, Ma T, et al. Endothelial progenitor cell-derived exosomes, loaded with miR-126, promoted deep vein thrombosis resolution and recanalization. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9: 223
- [23] Liu W, Zhang H, Mai J, et al. Distinct anti-fibrotic effects of exosomes derived from endothelial colony-forming cells cultured under normoxia and hypoxia. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 6187-99
- [24] Vinas JL, Burger D, Zimpelmann J, et al. Transfer of microRNA-486-5p from human endothelial colony forming cell-derived exosomes reduces ischemic kidney injury. *Kidney Int*, 2016, 90: 1238-50
- [25] Halkein J, Tabruyn SP, Ricke-hoch M, et al. MicroRNA-146a is a therapeutic target and biomarker for peripartum cardiomyopathy. *J Clin Invest*, 2013, 123: 2143-54
- [26] Hergenreider E, Heydt S, Treguer K, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 249-56
- [27] Ma X, Wang J, Li J, et al. Loading miR-210 in endothelial progenitor cells derived exosomes boosts their beneficial effects on hypoxia/reoxygenation-injured human endothelial cells via protecting mitochondrial function. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46: 664-75
- [28] Van Balkom BW, De Jong OG, Smits M, et al. Endothelial cells require miR-214 to secrete exosomes that suppress senescence and induce angiogenesis in human and mouse endothelial cells. *Blood*, 2013, 121: 3997-4006, s1-15
- [29] Goodwin AJ, Guo C, Cook JA, et al. Plasma levels of microRNA are altered with the development of shock in human sepsis: an observational study. *Crit Care*, 2015, 19: 440
- [30] Khalyfa A, Kheirandish-Goza L, Khalyfa AA, et al. Circulating plasma extracellular microvesicle microRNA cargo and endothelial dysfunction in children with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194: 1116-26
- [31] Pang P, Abbott M, Chang SL, et al. Human vascular progenitor cells derived from renal arteries are endothelial-like and assist in the repair of injured renal capillary networks. *Kidney Int*, 2017, 91: 129-43
- [32] Wu XM, Gao YB, Xu LP, et al. Tongxinluo inhibits renal fibrosis in diabetic nephropathy: involvement of the suppression of intercellular transfer of TGF- $\beta$ 1-containing exosomes from GECs to GMCs. *Am J Chin Med*, 2017, 45: 1075-92
- [33] Wu XM, Gao YB, Cui FQ, et al. Exosomes from high glucose-treated glomerular endothelial cells activate mesangial cells to promote renal fibrosis. *Biol Open*, 2016, 5: 484-91
- [34] Sharghi-Namini S, Tan E, Ong LL, et al. DLL4-containing exosomes induce capillary sprout retraction in a 3D

- microenvironment. *Sci Rep*, 2014, 4: 4031
- [35] Li S, Zhan JK, Wang YJ, et al. Exosomes from hyperglycemia-stimulated vascular endothelial cells contain versican that regulate calcification/senescence in vascular smooth muscle cells. *Cell Biosci*, 2019, 9: 1
- [36] De Jong OG, Verhaar MC, Chen Y, et al. Cellular stress conditions are reflected in the protein and RNA content of endothelial cell-derived exosomes. *J Extracell Vesicles*, 2012, 1: 1
- [37] Walker JD, Maier CL, Pober JS. Cytomegalovirus-infected human endothelial cells can stimulate allogeneic CD4<sup>+</sup> memory T cells by releasing antigenic exosomes. *J Immunol*, 2009, 182: 1548-59
- [38] Zhan R, Leng X, Liu X, et al. Heat shock protein 70 is secreted from endothelial cells by a non-classical pathway involving exosomes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387: 229-33
- [39] Sun L, Wang X, Zhou Y, et al. Exosomes contribute to the transmission of anti-HIV activity from TLR3-activated brain microvascular endothelial cells to macrophages. *Antiviral Res*, 2016, 134: 167-71
- [40] Zhou Y, Li P, Goodwin AJ, et al. Exosomes from endothelial progenitor cells improve the outcome of a murine model of sepsis. *Mol Ther*, 2018, 26: 1375-84
- [41] De Jong OG, Van Balkom BW, Gremmels H, et al. Exosomes from hypoxic endothelial cells have increased collagen crosslinking activity through up-regulation of lysyl oxidase-like 2. *J Cell Mol Med*, 2016, 20: 342-50
- [42] Huang C, Han J, Wu Y, et al. Exosomal MALAT1 derived from oxidized low-density lipoprotein-treated endothelial cells promotes M2 macrophage polarization. *Mol Med Rep*, 2018, 18: 509-15
- [43] Boon RA, Horrevoets AJ. Key transcriptional regulators of the vasoprotective effects of shear stress. *Hamostaseologie*, 2009, 29: 39-40, 1-3
- [44] Cordes KR, Sheehy NT, White MP, et al. MiR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. *Nature*, 2009, 460: 705-10
- [45] Xin M, Small EM, Sutherland LB, et al. MicroRNAs miR-143 and miR-145 modulate cytoskeletal dynamics and responsiveness of smooth muscle cells to injury. *Genes Dev*, 2009, 23: 2166-78
- [46] He S, Wu C, Xiao J, et al. Endothelial extracellular vesicles modulate the macrophage phenotype: potential implications in atherosclerosis. *Scand J Immunol*, 2018, 87: e12648
- [47] Meng Q, Wang W, Yu X, et al. Upregulation of microRNA-126 contributes to endothelial progenitor cell function in deep vein thrombosis via its target PIK3R2. *J Cell Biochem*, 2015, 116: 1613-23
- [48] Zhao L, Luo H, Li X, et al. Exosomes derived from human pulmonary artery endothelial cells shift the balance between proliferation and apoptosis of smooth muscle cells. *Cardiology*, 2017, 137: 43-53
- [49] Ke X, Yang D, Liang J, et al. Human endothelial progenitor cell-derived exosomes increase proliferation and angiogenesis in cardiac fibroblasts by promoting the mesenchymal-endothelial transition and reducing high mobility group box 1 protein B1 expression. *DNA Cell Biol*, 2017, 36: 1018-28
- [50] Xiao B, Chai Y, Lv S, et al. Endothelial cell-derived exosomes protect SH-SY5Y nerve cells against ischemia/reperfusion injury. *Int J Mol Med*, 2017, 40: 1201-9
- [51] Xu ZH, Miao ZW, Jiang QZ, et al. Brain microvascular endothelial cell exosome-mediated S100A16 up-regulation confers small-cell lung cancer cell survival in brain. *FASEB J*, 2019, 33: 1742-57
- [52] Yang T, Fogarty B, Laforge B, et al. Delivery of small interfering RNA to inhibit vascular endothelial growth factor in zebrafish using natural brain endothelia cell-secreted exosome nanovesicles for the treatment of brain cancer. *AAPS J*, 2017, 19: 475-86
- [53] Ju R, Zhuang ZW, Zhang J, et al. Angiopoietin-2 secretion by endothelial cell exosomes: regulation by the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt/endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and syndecan-4/syntenin pathways. *J Biol Chem*, 2014, 289: 510-9
- [54] Song J, Chen X, Wang M, et al. Cardiac endothelial cell-derived exosomes induce specific regulatory B cells. *Sci Rep*, 2014, 4: 7583
- [55] Klenerman P, Ramamurthy N. Liver sinusoidal endothelial cells: an antiviral "defendothelium". *Gastroenterology*, 2015, 148: 288-91
- [56] Giugliano S, Kriss M, Golden-Mason L, et al. Hepatitis C virus infection induces autocrine interferon signaling by human liver endothelial cells and release of exosomes, which inhibits viral replication. *Gastroenterology*, 2015, 148: 392-402.e13
- [57] Muturi HT, Dreesen JD, Nilewski E, et al. Tumor and endothelial cell-derived microvesicles carry distinct CEACAMs and influence T-cell behavior. *PLoS One*, 2013, 8: e74654
- [58] Gray-Owen SD, Blumberg RS. CEACAM1: contact-dependent control of immunity. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6: 433-46
- [59] Gao W, Li F, Liu L, et al. Endothelial colony-forming cell-derived exosomes restore blood-brain barrier continuity in mice subjected to traumatic brain injury. *Exp Neurol*, 2018, 307: 99-108
- [60] Brown M, Johnson LA, Leone DA, et al. Lymphatic exosomes promote dendritic cell migration along guidance cues. *J Cell Biol*, 2018, 217: 2205-21
- [61] Salybekov AA, Salybekova AK, Pola R, et al. Sonic hedgehog signaling pathway in endothelial progenitor cell biology for vascular medicine. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3040

- [62] Spinetti G, Fortunato O, Caporali A, et al. MicroRNA-15a and microRNA-16 impair human circulating proangiogenic cell functions and are increased in the proangiogenic cells and serum of patients with critical limb ischemia. *Circ Res*, 2013, 112: 335-46
- [63] Gerald D, Chintharlapalli S, Augustin HG, et al. Angiopoietin-2: an attractive target for improved antiangiogenic tumor therapy. *Cancer Res*, 2013, 73: 1649-57
- [64] Kalani A, Kamat PK, Chaturvedi P, et al. Curcumin-primed exosomes mitigate endothelial cell dysfunction during hyperhomocysteinemia. *Life Sci*, 2014, 107: 1-7
- [65] Islam A, Shen X, Hiroi T, et al. The brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein, BIG2, regulates the constitutive release of TNFR1 exosome-like vesicles. *J Biol Chem*, 2007, 282: 9591-9
- [66] Islam A, Jones H, Hiroi T, et al. cAMP-dependent protein kinase A (PKA) signaling induces TNFR1 exosome-like vesicle release via anchoring of PKA regulatory subunit RIIbeta to BIG2. *J Biol Chem*, 2008, 283: 25364-71
- [67] Sirois I, Raymond MA, Brassard N, et al. Caspase-3-dependent export of TCTP: a novel pathway for antiapoptotic intercellular communication. *Cell Death Differ*, 2011, 18: 549-62