

DOI: 10.13376/j.cblls/2022081

文章编号: 1004-0374(2022)06-0711-08

## 外泌体在血栓中的研究进展

罗吉, 周如丹, 赵学凌\*

(昆明医科大学第一附属医院骨科, 昆明 650032)

**摘要:** 外泌体是一种由细胞内吞再分泌的纳米级囊泡结构物质, 包含 microRNA、siRNA、蛋白质、脂质等成分。在不同的应激刺激条件下, 细胞通过分泌不同的外泌体参与机体组织细胞的生理、病理等过程。血栓是指心脏或血管内异常形成的血凝块。在血栓形成过程中, 多种来源的外泌体调节该过程。外泌体作为一种可能预测血栓的血液诊断标记物, 有着重要的研究意义。该文综述了在血栓形成中外泌体的研究现状, 总结了外泌体调控血栓的可能机制, 以期为今后血栓的诊断治疗和研究提供依据。

**关键词:** 外泌体; 血栓; microRNAs; 中性粒细胞胞外陷阱; 血小板

**中图分类号:** R619.2 **文献标志码:** A

## Research progress of exosomes in thrombosis

LUO Ji, ZHOU Ru-Dan, ZHAO Xue-Ling\*

(Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

**Abstract:** Exosomes are a kind of nanometer-sized vesicles, which are re-secreted after cells endocytosis. They contain microRNA, siRNA, protein, lipid and other components. In different stress-stimulated conditions, some cells are involved in physiological and pathological processes by secreting different exosomes. Thrombus is an abnormal blood clot formed in the heart or vessels. In the development of thrombosis, exosomes secreted by cells could regulate this pathological process, so exosomes may be used as the diagnostic markers to predict thrombosis, which is worthy of research. The research progress of exosomes in thrombosis and the possible mechanism of exosomes in regulating thrombosis are summarized here, to provide the basis for the diagnosis, treatment and research of thrombosis in the future.

**Key words:** exosomes; thrombosis; microRNAs; neutrophil extracellular traps (NETs); platelets

外泌体 (exosomes) 是一种由细胞分泌的磷脂双分子层囊泡, 其直径约为 30~100 nm。血小板、内皮细胞和平滑肌细胞等多种细胞都可分泌外泌体调控靶细胞。血栓是指血管中异常发生的血凝块, 可导致相应支配区域的组织、器官缺血梗塞, 若血栓脱落会导致卒中、肺栓塞等严重疾病, 威胁患者生命<sup>[1]</sup>。目前研究表明, 外泌体与血栓联系紧密, 多种细胞产生的外泌体参与调控血栓形成。本文就当今外泌体与血栓的研究做一综述。

### 1 外泌体的组成、功能和产生

#### 1.1 外泌体的组成及功能

外泌体是由质膜包裹的含多种成分 [microRNA、

小干扰 RNA (small interfering RNAs, siRNA)、活性蛋白等] 的小囊泡<sup>[2-3]</sup>, 与细胞外微囊泡 (ectosomes) 合称为细胞外小泡 (extracellular vesicles, EVs)<sup>[4]</sup>。外泌体的大小代表着不同的细胞来源<sup>[5]</sup>(表 1)。外泌体内包含 microRNA、siRNA、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 等物质, 广泛参与生长

收稿日期: 2021-10-13; 修回日期: 2021-12-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(81760030); 云南省科技厅昆明医科大学应用基础研究联合专项项目(202001A7070001-185); 云南省临床医学研究中心子课题(202102AA310088)

\*通信作者: E-mail: drzhao2015@163.com; Tel: 0871-65324888

发育、衰老退变、感染及免疫调节、肿瘤发生转移<sup>[5]</sup>等生理病理过程和细胞间通讯<sup>[6]</sup>。

### 1.2 外泌体的产生和分泌机制

外泌体的产生和分泌分为两个阶段(图1)。第一阶段,外泌体的产生:质膜两次内陷产生管腔内微囊泡(intraluminal vesicle, ILV)和细胞内多囊体(multivesicular bodies, MVB)。第一次内陷为细胞质膜的内陷,同时包裹细胞外的蛋白质等分子形成早期核内体(early endosome, ESE),之后ESE与高尔基体及内质网(endoplasmic reticulum, ER)融合,ESE逐渐成熟形成后期成熟核内体(later endosome, LSE),LSE进一步修饰重组质膜以及内容物。第二次内陷根据内容物不同而形成不同大小的管腔内微囊泡(ILV)<sup>[7]</sup>,ILV继续成熟形成细胞内多囊体(MVB),MVB中可能含有多个ILV,Rab家族蛋白

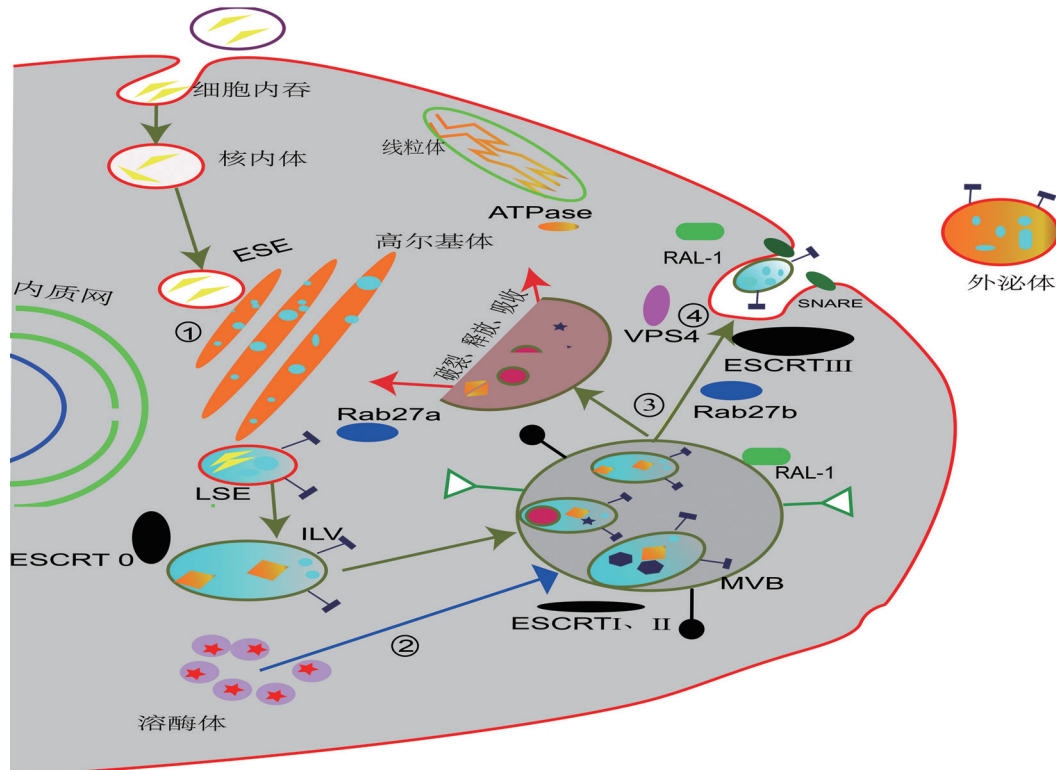
参与此封闭过程<sup>[8]</sup>。第二阶段,分泌阶段:分选出胞<sup>[9]</sup>。MVB与溶酶体结合进行降解,部分MVB会与细胞质膜再次融合向胞外释放以ILV为单位的囊泡,完成外泌体生成释放<sup>[5]</sup>。

## 2 血栓形成机制概述

血栓可大致分为动脉血栓和静脉血栓。动脉血栓在高剪应力血流下形成,当粥样斑块破裂或血管壁受到损害后<sup>[10]</sup>,血小板迅速形成初始血凝块进行止血,并通过与血管性血友病因子(von Willebrand factor, VWF)及胶原蛋白结合吸附血液中更多的小血小板黏附聚集。血管内皮细胞受损会激活内皮细胞,表达组织因子(tissue factor, TF)与凝血因子VII及VIIa形成复合体启动凝血途径,使得血凝块快速增长形成血栓。静脉血栓则是在较低的血流剪切力下,

表1 外泌体大小、标记物及常见来源

外泌体大小(nm)	标志物	来源(常见)
30~70	CD63	脑组织细胞、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞
70~100	CD9、CD81	血小板、胰腺细胞、肥大细胞、肝细胞



①ESE与高尔基体及内质网等融合再释放,使ESE携带特殊标志和内含物;②溶酶体作用于MVB,使其质膜破裂降解;③MVB裂解后,部分内容物被降解重吸收,另一部分内容物选择性移动到胞膜外释放;④VPS4蛋白质膜分裂,SNARE组合蛋白产生桥接蛋白,RAL-1蛋白参与质膜融合,外泌体分泌出胞。

图1 外泌体分泌机制

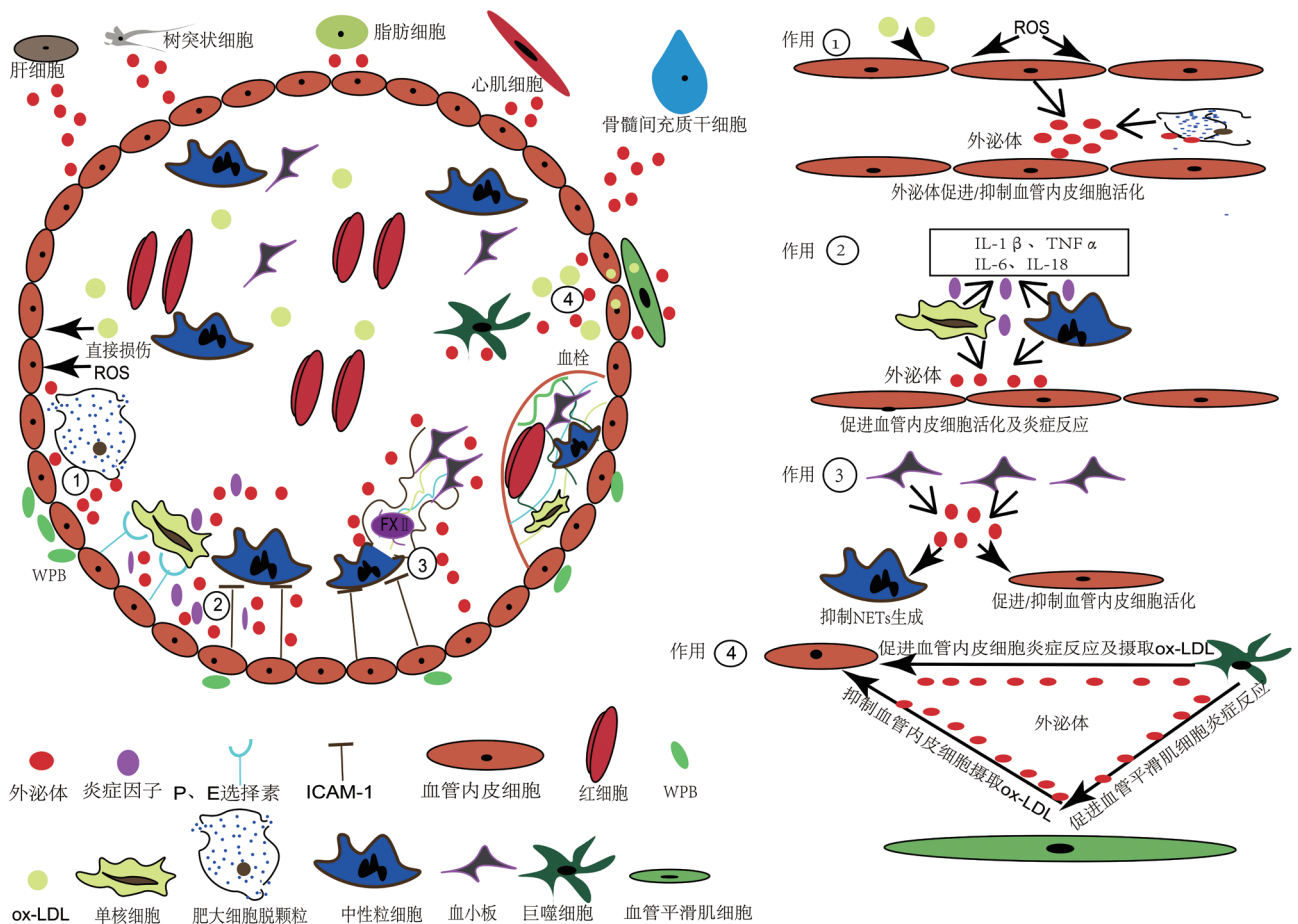
基本完好的血管内皮出现功能障碍,相关蛋白激活凝血级联反应,形成血栓。静脉血栓的形成分为三个阶段:(1)血流的淤滞造成微环境缺氧或部分因子直接刺激血管内皮细胞;(2)血管内皮细胞的激活及炎症、细胞因子的表达释放;(3)各类细胞的募集和凝血激活<sup>[11]</sup>。

### 3 外泌体与血栓形成

#### 3.1 外泌体与血管内皮细胞激活

在血流淤滞、活性氧(reactive oxygen species, ROS)等条件下,内皮细胞活化,表达E、P选择素以及细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)等<sup>[12]</sup>。在血栓形成过程中,多种来源的外泌体影响内皮细胞的激活(图2)。例如在脓毒症患者血液中的细菌毒素刺激下,血小板来源的外泌体携带烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶,产

生大量 ROS,促进血管内皮细胞凋亡<sup>[13]</sup>。CircHIPK3 可被外泌体从心肌细胞转运到心脏微血管内皮细胞促进 miR-29a 表达,抑制血管内皮细胞内 ROS 生成,保护内皮细胞免受氧化损伤,缓解内皮功能障碍<sup>[14]</sup>。NO (nitric oxide) 抑制 ROS 对内皮细胞的损伤,另一方面,NO 也可诱导 RNS (reactive nitrogen species) 的生成,促进内皮细胞凋亡,并激活血管内皮细胞中的 caspase3,促进肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的表达,产生炎症反应<sup>[15]</sup>。糖尿病小鼠肝脏来源的精氨酸酶 1 蛋白,以外泌体形式分泌并激活血管内皮细胞,抑制 NO 生成,严重损害内皮功能<sup>[16]</sup>。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)通过旁分泌机制分泌含 miRNA-126-3p 的外泌体,降低大鼠静脉内皮细胞中 VEGF 表达,抑制静脉内皮细胞激活<sup>[17]</sup>,并携带 miR-145 抑制人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)表达炎症介质,抑制炎症反应<sup>[18]</sup>。内皮



作用①: ROS等条件下,外泌体调控血管内皮细胞活化;作用②:外泌体调控血管内皮细胞活化及炎症反应;作用③:外泌体调控NETs形成及血管内皮细胞活化;作用④:动脉粥样硬化模型下,多种细胞来源外泌体的调控作用。

图2 外泌体调控血栓形成

祖细胞旁分泌含有血管紧张素转换酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2) 的外泌体, 抑制受损血管内皮细胞内线粒体崩解及 ROS 的生成<sup>[19]</sup>。此外, ROS 会直接刺激肥大细胞脱颗粒, 释放大量如 TNF- $\alpha$ 、组胺等促炎因子促进炎症反应<sup>[11]</sup>, 同时分泌外泌体促进血管内皮细胞大量释放纤溶酶原激活物抑制物 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), 使内皮细胞激活并促进凝血<sup>[20]</sup>。由此可见, 在血栓形成初期, 不同来源的外泌体可对内皮细胞进行调节, 影响血栓形成。

当内皮细胞受到损伤 (如动脉粥样硬化斑块破裂) 时, 血小板聚集黏附形成局部微狭窄, 在受损部位聚集大量的凝血酶和纤维蛋白原等成分, 最终形成血栓。此时, 外泌体也通过调节内皮细胞, 促进血栓形成。ox-LDL 促进血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 分泌外泌体, 该外泌体携带 LncRNA Gas5, 促进包括 p53、caspase3 等促炎分子表达, 诱导斑块表面血管内皮细胞凋亡和动脉血栓形成<sup>[21]</sup>。此外, 外周微血管也分泌外泌体调控血栓的形成。Li 等<sup>[22]</sup>发现骨髓间充质干细胞以旁分泌形式分泌富含 miR-451-5p 的外泌体, 促进血管内皮细胞和血管平滑肌细胞大量分泌 PAI-1,

导致微循环中纤溶异常, 引发血栓形成。总之, 外泌体调控动脉血栓的机制复杂多样, 外泌体与血管内皮细胞功能失调引起的心血管疾病的发生也有密切关联。表 2 对外泌体与心血管疾病作一简单总结, 以期能为今后血栓的研究带来参考价值。

### 3.2 外泌体与炎症反应

在血栓形成初期, 血管内皮细胞表达黏附分子, 招募中性粒细胞、单核细胞等炎症细胞, 产生炎症, 炎症会放大促血栓效应并为血栓的再通、组织的修复做准备。来源于内皮细胞的外泌体携带 miR-630, 促进 ICAM-1 等黏附分子表达, 加速炎症细胞募集<sup>[39]</sup>。在炎症细胞募集的过程中, 中性粒细胞最先被募集, 表达 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等。此后, 中性粒细胞胞外陷阱 (neutrophil extracellular traps, NETs) 生成, 为血栓形成提供类似骨架的支撑体, 吸附 vWF、纤维蛋白等<sup>[11]</sup>。巨噬细胞通过外泌体携带的 miR-146a 促进中性粒细胞 NETs 生成, 加速斑块的形成及溃疡<sup>[36]</sup>。NETs 时, 释放的中性粒细胞胞外囊泡 (EVs) 富含多种物质, 其中凝血酶原蛋白-1、纤维蛋白原 A 和补体 C3 诱导血液凝集, 粒细胞防御素 1 诱导血液中的纤维蛋白原和凝血酶反应蛋白 1 结合于血小板表面, 加速血小板活化, 促进血栓形成<sup>[40]</sup>。

表2 血栓及相关疾病中外泌体的研究情况

来源	主要内容物	靶点	效应	调控细胞	疾病/模型	参考文献
血小板	NADPH氧化酶	ROS	激活	血管内皮细胞	脓毒血症	[13]
血小板	miR15b-5p/378-3p	Akt/mTOR	激活	中性粒细胞	血栓形成	[23]
血小板	miR-223	NF- $\kappa$ B/MAPK	抑制	血管内皮细胞	血栓形成	[24]
血小板	miR-126	VEGF	激活	血管内皮细胞	动脉粥样硬化	[25]
血小板	poly-ubiquitin	CD36	抑制	血小板/巨噬细胞	动脉粥样硬化	[26]
血管内皮细胞	miR-505	ROS	激活	中性粒细胞	动脉粥样硬化	[27]
血管内皮细胞	miR-155	NF- $\kappa$ B	抑制	巨噬细胞	动脉粥样硬化	[10]
血管内皮细胞	miR-142-3p	RAB11a	抑制	血管内皮细胞	移植排斥反应	[28]
血管内皮细胞	AC	NLRP3	抑制	血管内皮细胞	糖尿病血管病变	[29]
血管内皮细胞	MMP-14	VEGFR1	激活	血管内皮细胞	血管生成	[30]
血管内皮细胞	Notch3	mTOR	激活	血管平滑肌细胞	血管钙化	[31]
血管内皮细胞	miR-146	NF- $\kappa$ B/ERK	抑制	单核细胞	内皮细胞炎症	[32]
血液中分离	miR-25	KLF2	抑制	血管内皮细胞	动脉粥样硬化	[33]
VSMCs细胞	miR-155	ZO-1	激活	血管内皮细胞	动脉粥样硬化	[34]
间充质干细胞	miR133b-3p/451-5p	PAI-1	激活	血管内皮细胞	血栓形成	[22]
间充质干细胞	miR-145	NF- $\kappa$ B	抑制	血管内皮细胞	动脉粥样硬化	[18]
间充质干细胞	miR-132-3p	RASA1/ROS	抑制	脑血管内皮细胞	脑缺血后	[35]
巨噬细胞	miR-146a	ENOS	激活	中性粒细胞	脓毒血症	[36]
单核细胞	miR-222	ICAM-1	激活	血管内皮细胞	内皮细胞炎症	[37]
心肌细胞	CircHIPK3	ROS	抑制	血管内皮细胞	内皮细胞炎症	[14]
树突状细胞	TNF- $\alpha$	NF- $\kappa$ B	激活	血管内皮细胞	内皮细胞炎症	[38]

注: 主要内容物: 细胞分泌外泌体中的主要内容物; 靶点: 外泌体内容物调控靶点, 包括基因位点、蛋白或者通路。

NETs 形成之后,血小板聚集并结合于生成的 NETs 上,激活 FX。血小板以促酶释放形式提高高迁移率族蛋白 1 (high mobility group protein, HMGB1) 表达并生成携带 miR-15b-5p 和 miR-378a-3p 的外泌体调控 PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase 1) 基因,上调 Akt/mTOR 通路诱导 NETs 形成,促进炎症反应<sup>[23]</sup>。此外,在血流自身高凝状态如肿瘤负荷中,不仅仅只是 TF 促凝,肿瘤来源的外泌体也可促进粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF) 的表达以此促进 NETs 的生成,并和肿瘤相关性血栓发生呈正相关性<sup>[41]</sup>。单核细胞在血栓形成中也被招募并形成小部分胞外陷阱。Dalvi 等<sup>[37]</sup>发现,干扰素刺激单核细胞后,单核细胞分泌的外泌体携带 miR-222,可诱导血管内皮细胞表达 ICAM-1 等黏附分子及 IL-1 $\beta$ 、IL-6,促进血管内皮细胞的炎症反应。将高糖或脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导单核细胞分泌的外泌体与人脐静脉内皮细胞共培养,发现 HUVECs 被激活并表达大量 ICAM-1<sup>[42]</sup>。Li 等<sup>[43]</sup>发现巨噬细胞来源的外泌体通过下调 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达,抑制炎症信号通路转导。注射该外泌体到小鼠体内,可激活 p-AKT 蛋白并导致基质蛋白金属酶 9 (matrix metalloproteinase, Mmp9) 表达下调,炎症反应被抑制。树突状细胞来源的外泌体携带 TNF- $\alpha$ , 上调 NF- $\kappa$ B 途径,促进血管内皮细胞炎症反应<sup>[38]</sup>。在高脂状态下,脂肪细胞产生的外泌体显著促进 TNF- $\alpha$ 、IL-6 分泌,诱导巨噬细胞 M1 表型转变, NF- $\kappa$ B 磷酸化增加,促进动脉粥样硬化下内皮细胞炎症反应<sup>[44]</sup>。因此,不同来源的外泌体可通过调控炎症以促进或抑制血栓的形成。

### 3.3 外泌体与血小板

相较于其他血液成分,血小板分泌外泌体的量是最多的,内容物种类也最为丰富<sup>[45]</sup>。研究发现,血小板分泌包括外泌体在内的细胞外小泡 (EVs),多与中性粒细胞及单核细胞等结合进行调控,而不与淋巴细胞相结合<sup>[46]</sup>。血小板不仅是血栓的组成部分,也通过分泌外泌体抑制血栓形成。Srikanthan 等<sup>[26]</sup>研究发现,在血栓形成之初,血小板分泌外泌体携带的泛素化蛋白 (poly-ubiquitin) 可泛素化降解巨噬细胞中 CD36 蛋白,抑制巨噬细胞的载脂过程,并通过泛素化血小板表面 CD36 蛋白抑制血小板自身的再活化和动脉血栓形成。在凝血酶刺激的血管内皮细胞炎症-血栓模型中,血小板来源的外泌体携带 miR-223 下调内皮细胞 NF- $\kappa$ B 和 MAPK

信号通路,从而抑制 ICAM-1 黏附分子表达,调节血栓-炎症反应<sup>[24]</sup>, ox-LDL 诱导血小板释放富含 miR-25-3p 的外泌体,下调血管内皮细胞 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、ADAM10 (A disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10) 表达,抑制炎症反应<sup>[47]</sup>。用凝血酶刺激血小板后,在血小板的外泌体中发现 miR-223、miR-339 和 miR-21 含量明显升高,抑制血管平滑肌细胞血小板衍生生长因子受体  $\beta$  (platelet-derived growth factor receptor-beta, PDGFR $\beta$ ) 表达<sup>[48]</sup>。同时,血小板的促凝活性也与血小板胞外体释放有关。研究发现,秋水仙碱可显著降低凝血酶活性,并通过抑制微管形成抑制血小板释放细胞外小泡<sup>[49]</sup>, tPA (tissue-type plasminogen activator) 促进血小板释放外泌体使内皮细胞通透性增加,血管内皮细胞表达 PAI-1、TF 蛋白水平升高,促进凝血及血栓形成<sup>[50]</sup>。

## 4 外泌体与血栓溶解

血栓溶解需要纤溶酶原激活纤溶酶,以及内皮细胞迁移增殖在血栓内形成再生血管。在此过程中,内皮祖细胞发挥着重要作用<sup>[51]</sup>。内皮祖细胞 (EPCs) 是血管内皮细胞前体细胞,又称成血管细胞。在血管损伤或趋化因子诱导下, EPCs 会从骨髓中趋化募集到受损部位进行修复<sup>[52]</sup>,来源于 EPCs 的外泌体的形态、大小、分布特征与人脐静脉内皮细胞相似,但 EPCs 来源的外泌体具有更高的生物活性<sup>[53]</sup>。EPCs 来源外泌体携带的 miR-21-5p 下调血小板反应蛋白 1 (thrombospondin 1, THBS1) 表达,抑制血小板对血管内皮修复的拮抗作用<sup>[51]</sup>。来源于人乳腺癌和肝癌细胞的外泌体富含 miR-21,通过介导 IL-6R (白细胞介素 6 受体) 抑制内皮祖细胞的增殖、迁移和侵袭,促进癌症患者静脉血栓形成,抑制血栓溶解<sup>[54]</sup>。内皮祖细胞来源的外泌体在血栓调控中的作用可能是今后研究的热点。

## 5 外泌体与血栓诊断、治疗

生物凝血级联反应已被阐明,但凝血的各种分子机制仍在探索研究中。目前临床工作中常用 D-二聚体作为预测指标之一,但特异性较差<sup>[55]</sup>。外泌体存在于外周血液中并携带大量标志物。在胰腺癌早期诊断中,外泌体的作用已被证实<sup>[56]</sup>,磷脂酰肌醇蛋白聚糖 -1 (GPC1) 阳性的外泌体可作为潜在的血栓早期生物标志物之一。在凝血酶刺激血小板释放外泌体的模型中,外泌体富含大量 CXCL4、CXCL7 等趋化因子和 HMGB1 蛋白<sup>[57]</sup>。在同一模

型中, Tan 等<sup>[48]</sup>发现 miR-223、miR-339 和 miR-21 表达明显升高, 平滑肌细胞血小板衍生生长因子受体表达下降, 这一发现提示外泌体来源的 microRNAs 可能可作为生物标志物预测动脉粥样硬化后急性血栓的形成。Wen 等<sup>[58]</sup>用不稳定心绞痛/易损斑块粥样硬化(UA)患者血清中分离得到的富含 circRNA-0006896 的外泌体刺激 HUVECs 后发现 miRNA-1264、DNMT1 表达显著升高, JNK/STAT3 信号通路被激活, 血管内皮细胞增殖和迁移被促进。在急性冠脉综合征, 血清中携带 miR-208a 的外泌体可以促进急性冠状动脉综合征的血栓形成<sup>[59]</sup>。

外泌体可作为治疗手段。Hou 等<sup>[60]</sup>通过静电结合方式将负载自然因子的外泌体固定在聚多巴胺(PDA)涂层材料上, 发现其能抑制血小板表面内皮细胞黏附分子-1(CD31)表达, 减少附着于血管内皮细胞的促炎巨噬细胞(M1型), 预防支架植入后晚期血栓的形成和血管再狭窄。大量聚糖及糖修饰酶存在于外泌体表面并调节外泌体发生、运输等。有学者认为通过调节外泌体与糖缀合物结合改变外泌体形成中的分选过程, 可对部分疾病的发生、发展进行调节<sup>[61]</sup>。鉴于外泌体分选机制复杂, 外泌体作为诊断治疗方式的研究仍较少, 调控外泌体发生、运输过程和研制外泌体载体药物可能是今后研究的热点方向之一。

## 6 总结

通过外泌体进行的细胞间通讯、调控是当下动静脉血栓的研究热点。目前分离外泌体的方法有差速离心后通过纳米场和纳米级滤过膜进行分离<sup>[62]</sup>、通过 CD9、CD63、CD81 特异性标记物进行流式分选<sup>[63]</sup>、单细胞外泌体电子投射荧光显微镜的直接观测计算<sup>[64]</sup>及不对称流场-流动分级法鉴别纳米级微粒和囊泡<sup>[65]</sup>等。血栓形成过程中外泌体的调控机制复杂多样, 与多种细胞和细胞产物密切相关<sup>[42]</sup>, 外泌体的研究对探明血栓的病理机制及寻找更好的治疗方法也有着重要作用。笔者认为, 目前的研究中尚未解决的问题和今后的研究方向有如下几条: (1) 外泌体的发生过程未完全阐释; (2) 血栓的形成是一个连续的过程, 多种细胞和细胞产物都可分泌外泌体, 如何区分和筛选不同来源的外泌体; (3) 外泌体存在于外周血液中, 外泌体能否成为疾病的特异性诊断标志物; (4) 研发可调节外泌体的分泌、携带的内容物的药物用于临床治疗。综上所述, 本文对外泌体与血栓做一总结, 以期为今后血栓和外

泌体的研究提供借鉴。

## [参 考 文 献]

- [1] Stubbs MJ, Mouyis M, Thomas M. Deep vein thrombosis. *BMJ*, 2018, 360: K351
- [2] Wu Q, Yuan X, Li B, et al. Integrated exosomal miRNA and transcriptome analysis of brain microvascular endothelial cells in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 2020, 43: 90-8
- [3] Obata Y, Kita S, Koyama Y, et al. Adiponectin/T-cadherin system enhances exosome biogenesis and decreases cellular ceramides by exosomal release. *JCI Insight*, 2018, 3: 1-18
- [4] 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
- [5] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, 367: eaau6977
- [6] Lakshmi S, Hughes TA, Priya S. Exosomes and exosomal RNAs in breast cancer: a status update. *Eur J Cancer*, 2021, 144: 252-68
- [7] Cocucci E, Meldolesi J. Ectosomes and exosomes: shedding the confusion between extracellular vesicles. *Trends Cell Biol*, 2015, 25: 364-72
- [8] Ostrowski M, Carmo NB, Krumeich S, et al. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 19-30; sup pp 1-13
- [9] Hessvik NP, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 193-208
- [10] 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
- [11] Budnik I, Brill A. Immune factors in deep vein thrombosis initiation. *Trends Immunol*, 2018, 39: 610-23
- [12] Cho RL, Yang CC, Lee IT, et al. Lipopolysaccharide induces ICAM-1 expression via a c-Src/NADPH oxidase/ROS-dependent NF- $\kappa$ B pathway in human pulmonary alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310: L639-57
- [13] 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. *Crit Care Med*, 2004, 32: 818-25
- [14] Wang Y, Zhao R, Liu W, et al. Exosomal circHIPK3 released from hypoxia-pretreated cardiomyocytes regulates oxidative damage in cardiac microvascular endothelial cells via the miR-29a/IGF-1 pathway. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7954657
- [15] 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. *Crit*

- Care, 2007, 11: R107
- [16] Zhang H, Liu J, Qu D, et al. Serum exosomes mediate delivery of arginase 1 as a novel mechanism for endothelial dysfunction in diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: E6927-36
- [17] Yu M, Liu W, Li J, et al. Exosomes derived from atorvastatin-pretreated MSC accelerate diabetic wound repair by enhancing angiogenesis via AKT/eNOS pathway. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 350
- [18] Yang W, Yin R, Zhu X, et al. Mesenchymal stem-cell-derived exosomal miR-145 inhibits atherosclerosis by targeting JAM-A. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 23: 119-31
- [19] Wang J, Chen S, Bihl J. Exosome-mediated transfer of ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) from endothelial progenitor cells promotes survival and function of endothelial cell. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 4213541
- [20] Al-Nedawi K, Szemraj J, Cierniewski CS. Mast cell-derived exosomes activate endothelial cells to secrete plasminogen activator inhibitor type 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 1744-9
- [21] Chen L, Yang W, Guo Y, et al. Exosomal lncRNA GAS5 regulates the apoptosis of macrophages and vascular endothelial cells in atherosclerosis. *PLoS One*, 2017, 12: e0185406
- [22] Li L, Wang Y, Yu X, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes promote plasminogen activator inhibitor 1 expression in vascular cells in the local microenvironment during rabbit osteonecrosis of the femoral head. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 480
- [23] Jiao Y, Li W, Wang W, et al. Platelet-derived exosomes promote neutrophil extracellular trap formation during septic shock. *Crit Care*, 2020, 24: 380
- [24] Li J, Tan M, Xiang Q, et al. Thrombin-activated platelet-derived exosomes regulate endothelial cell expression of ICAM-1 via microRNA-223 during the thrombosis-inflammation response. *Thromb Res*, 2017, 154: 96-105
- [25] Sun Y, Liu XL, Zhang D, et al. Platelet-derived exosomes affect the proliferation and migration of human umbilical vein endothelial cells via miR-126. *Curr Vasc Pharmacol*, 2019, 17: 379-87
- [26] Srikanthan S, Li W, Silverstein RL, et al. Exosome polyubiquitin inhibits platelet activation, downregulates CD36 and inhibits pro-atherothrombotic cellular functions. *J Thromb Haemost*, 2014, 12: 1906-17
- [27] Chen L, Hu L, Li Q, et al. Exosome-encapsulated miR-505 from ox-LDL-treated vascular endothelial cells aggravates atherosclerosis by inducing NET formation. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51: 1233-41
- [28] Sukma Dewi I, Celik S, Karlsson A, et al. Exosomal miR-142-3p is increased during cardiac allograft rejection and augments vascular permeability through down-regulation of endothelial RAB11FIP2 expression. *Cardiovasc Res*, 2017, 113: 440-52
- [29] Yuan X, Bhat OM, Lohner H, et al. Endothelial acid ceramidase in exosome-mediated release of NLRP3 inflammasome products during hyperglycemia: evidence from endothelium-specific deletion of Asah1 gene. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2019, 1864: 158532
- [30] Han KY, Chang JH, Azar DT. MMP14-containing exosomes cleave VEGFR1 and promote VEGFA-induced migration and proliferation of vascular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60: 2321-9
- [31] Lin X, Li S, Wang YJ, et al. Exosomal Notch3 from high glucose-stimulated endothelial cells regulates vascular smooth muscle cells calcification/aging. *Life Sci*, 2019, 232: 116582
- [32] Cheng HS, Sivachandran N, Lau A, et al. MicroRNA-146 represses endothelial activation by inhibiting pro-inflammatory pathways. *EMBO Mol Med*, 2013, 5: 1017-34
- [33] Li N, Liu SF, Dong K, et al. Exosome-transmitted miR-25 induced by *H. pylori* promotes vascular endothelial cell injury by targeting KLF2. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 366
- [34] Zheng B, Yin WN, Suzuki T, et al. Exosome-mediated miR-155 transfer from smooth muscle cells to endothelial cells induces endothelial injury and promotes atherosclerosis. *Mol Ther*, 2017, 25: 1279-94
- [35] Pan Q, Kuang X, Cai S, et al. miR-132-3p priming enhances the effects of mesenchymal stromal cell-derived exosomes on ameliorating brain ischemic injury. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 260
- [36] Zhang YG, Song Y, Guo XL, et al. Exosomes derived from oxLDL-stimulated macrophages induce neutrophil extracellular traps to drive atherosclerosis. *Cell Cycle*, 2019, 18: 2674-84
- [37] Dalvi P, Sun B, Tang N, et al. Immune activated monocyte exosomes alter microRNAs in brain endothelial cells and initiate an inflammatory response through the TLR4/MyD88 pathway. *Sci Rep*, 2017, 7: 9954
- [38] Gao W, Liu H, Yuan J, et al. Exosomes derived from mature dendritic cells increase endothelial inflammation and atherosclerosis via membrane TNF- $\alpha$  mediated NF- $\kappa$ B pathway. *J Cell Mol Med*, 2016, 20: 2318-27
- [39] Khalyfa A, Kheirandish-Gozal 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
- [40] Blanch-Ruiz MA, Ortega-Luna R, Martínez-Cuesta M, et al. The neutrophil secretome as a crucial link between inflammation and thrombosis. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 4170
- [41] Leal AC, Mizurini DM, Gomes T, et al. Tumor-derived exosomes induce the formation of neutrophil extracellular traps: implications for the establishment of cancer-associated thrombosis. *Sci Rep*, 2017, 7: 6438
- [42] Saez T, de Vos P, Kuipers J, et al. Exosomes derived from monocytes and from endothelial cells mediate monocyte and endothelial cell activation under high D-glucose conditions. *Immunobiology*, 2019, 224: 325-33
- [43] Li M, Wang T, Tian H, et al. Macrophage-derived exosomes accelerate wound healing through their anti-

- inflammation effects in a diabetic rat model. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47: 3793-803
- [44] Xie Z, Wang X, Liu X, et al. Adipose-derived exosomes exert proatherogenic effects by regulating macrophage foam cell formation and polarization. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7: e007442
- [45] Aatonen M, Valkonen S, Böing A, et al. Isolation of platelet-derived extracellular vesicles. *Methods Mol Biol*, 2017, 1545: 177-88
- [46] Weiss R, Groger M, Rauscher S, et al. Differential interaction of platelet-derived extracellular vesicles with leukocyte subsets in human whole blood. *Sci Rep*, 2018, 8: 6598
- [47] Yao Y, Sun W, Sun Q, et al. Platelet-derived exosomal microRNA-25-3p inhibits coronary vascular endothelial cell inflammation through Adam10 via the NF- $\kappa$ B signaling pathway in ApoE(-/-) mice. *Front Immunol*, 2019, 10: 2205
- [48] Tan M, Yan HB, Li JN, et al. Thrombin stimulated platelet-derived exosomes inhibit platelet-derived growth factor receptor- $\beta$  expression in vascular smooth muscle cells. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38: 2348-65
- [49] Chen V, Curnow J, Pennings G, et al. Procoagulant effects of low-level platelet activation and its inhibition by colchicine. *Thromb Haemost*, 2018, 47: 723-33
- [50] Wang C, Huang R, Li C, et al. Vepoloxamer enhances fibrinolysis of tPA (tissue-type plasminogen activator) on acute ischemic stroke. *Stroke*, 2019, 50: 3600-8
- [51] Hu H, Wang B, Jiang C, et al. Endothelial progenitor cell-derived exosomes facilitate vascular endothelial cell repair through shuttling miR-21-5p to modulate Thrombospondin-1 expression. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133: 1629-44
- [52] Xu J, Bai S, Cao Y, et al. miRNA-221-3p in endothelial progenitor cell-derived exosomes accelerates skin wound healing in diabetic mice. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13: 1259-70
- [53] Hu H, Jiang C, Li R, et al. Comparison of endothelial cell- and endothelial progenitor cell-derived exosomes in promoting vascular endothelial cell repair. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12: 2793-800
- [54] Wang W, Yuan X, Xu A, et al. Human cancer cells suppress behaviors of endothelial progenitor cells through miR-21 targeting IL6R. *Microvasc Res*, 2018, 120: 21-8
- [55] Amiral J. Measurement of blood activation markers applied to the early diagnosis of cardiovascular alterations. *Expert Rev Mol Diagn*, 2020, 20: 85-98
- [56] van der Pol E, Boing AN, Gool EL, et al. Recent developments in the nomenclature, presence, isolation, detection and clinical impact of extracellular vesicles. *J Thromb Haemost*, 2016, 14: 48-56
- [57] Zarà M, Guidetti GF, Camera M, et al. Biology and role of extracellular vesicles (EVs) in the pathogenesis of thrombosis. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 2840
- [58] Wen Y, Chun Y, Lian ZQ, et al. circRNA-0006896-miR1264-DNMT1 axis plays an important role in carotid plaque destabilization by regulating the behavior of endothelial cells in atherosclerosis. *Mol Med Rep*, 2021, 23: 311
- [59] Bi S, Wang C, Jin Y, et al. Correlation between serum exosome derived miR-208a and acute coronary syndrome. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 4275-80
- [60] Hou YC, Li JA, Zhu SJ, et al. Tailoring of cardiovascular stent material surface by immobilizing exosomes for better pro-endothelialization function. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 189: 110831
- [61] Harada Y, Ohkawa Y, Maeda K, et al. Extracellular vesicles and glycosylation. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1325: 137-49
- [62] Chiu YJ, Cai W, Shih YR, et al. A single-cell assay for time lapse studies of exosome secretion and cell behaviors. *Small*, 2016, 12: 3658-66
- [63] De Freitas RCC, Bortolin RH, Lopes MB, et al. Modulation of miR-26a-5p and miR-15b-5p exosomal expression associated with clopidogrel-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 906
- [64] Chevillet JR, Kang Q, Ruf IK, et al. Quantitative and stoichiometric analysis of the microRNA content of exosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 14888-93
- [65] Zhang H, Freitas D, Kim HS, et al. Identification of distinct nanoparticles and subsets of extracellular vesicles by asymmetric flow field-flow fractionation. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 332-43