

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2019.02.009

· 综述 ·

胞外囊泡与骨再生研究进展

魏诗敏¹, 汪媛婧¹, 黄雯¹, 屈依丽^{1,2}

1. 四川大学口腔疾病研究国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 四川 成都(610041); 2. 四川大学华西口腔医院种植科, 四川 成都(610041)

【摘要】 胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是一种由多种细胞分泌的, 内含核酸、蛋白质等的脂质双分子层。其可作为细胞与细胞间通讯物质传输的载体。而骨再生的相关研究中, 如何将再生信号传导于靶细胞从而达到预期的成骨目标, 已经成为了至关重要、有待攻破的重要研究课题之一。因此, 本文从骨免疫、成血管、成骨及矿化四个方面探讨间充质干细胞及成骨相关细胞来源的EVs在骨再生中的作用, 为基础及临床研究提供新思路。

【关键词】 胞外囊泡; 外泌体; 基质小泡; 间充质干细胞; 骨再生; 成血管; 矿化

【中图分类号】 R681.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2019)02-0110-05

【引用著录格式】 魏诗敏, 汪媛婧, 黄雯, 等. 胞外囊泡与骨再生研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(2): 110-114.

Research progress on extracellular vesicles and bone regeneration WEI Shimin¹, WANG Yuanjing¹, HUANG Wen¹, QU Yili^{1,2}. 1. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Implantology, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author: QU Yili, Email: qqyili@126.com, Tel: 0086-18684023783

【Abstract】 Extracellular vesicles (EVs) are lipid bilayers secreted by a variety of cells that contain nucleic acids, proteins, etc. They can be used as a carrier for cell-to-cell communication. In related research on bone regeneration, mechanisms for transmitting regeneration signals to target cells to achieve the desired goal of osteogenesis have become one of the most important and unsolved topics. Therefore, this review aims to explore the role of mesenchymal stem cells and EVs derived from osteoblasts in bone regeneration in four processes, immunity, angiogenesis, osteogenesis and mineralization, and to provide new ideas for basic and clinical research.

【Key words】 Extracellular vesicles; Exosomes; Matrix vesicles; Mesenchymal stem cell; Bone regeneration; Angiogenesis; Mineralization

在种植外科手术中, 牙槽骨骨量不足导致不理想的预后已成为函待解决的重要课题之一。经典观点认为, “自体骨”为骨缺损修复的金标准。然而, 该治疗方式对自身其他骨造成的损害是不容忽视的, 越来越多的学者寄期望于骨修复替代

品。随着口腔种植技术的发展, 生物材料已被广泛运用于骨组织修复术中, 而生物材料植入后因机体免疫而产生的异物反应极大地影响了预后。近年来, 具有多向分化的潜能的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs), 被认为是促进受损骨组织修复及再生一种极佳的治疗手段, 受到了业界的广泛关注。然而, 在临床试验的过程中, MSCs展现出的特性, 影响了治疗的预后。Fischer等将MSCs静脉注入后, 大部分MSCs都受困于肝、脾及肺中, 仅有少量的MSCs去往靶向组织^[1]。并且, Coyne等^[2]人将MSCs植入靶组织后引起了排异反应。这大大降低了预期的治疗效果, 成为了至

【收稿日期】 2018-05-13; **【修回日期】** 2018-06-10

【基金项目】 国家重点研发计划项目(2016YFA0201703/2016YFA0201700); 国家自然科学基金项目(81870801)

【作者简介】 魏诗敏, 医师, 学士, Email: 346362921@qq.com

【通信作者】 屈依丽, 副教授, 博士, Email: qqyili@126.com, Tel: 0086-18684023783

关重要却有待攻破的课题之一。近期研究发现,一种从MSCs中提取的胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)能直接参与骨组织的损伤修复^[3],规避了上述问题。本文以骨组织修复为出发点,从免疫、成血管、成骨、矿化四个方面,介绍胞外囊泡促进骨再生的可能性,为骨组织再生研究提供了新的思路。

1 骨愈合修复过程

骨愈合或骨折愈合是增殖性的生理过程。根据经缝合后创面对合是否严密分为一期愈合及二期愈合。一期愈合创缘整齐,而二期愈合组织缺损相对较大,也是骨愈合最常见的形式。其主要分为5个阶段:①炎症,②肉芽组织形成,③软骨形成,④层状骨形成,⑤重建^[4]。

骨折后,血细胞在损伤部位聚集,形成血块,被称为“血肿”。此时,来自外周血的巨噬细胞在损伤部位释放肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎性介质,并增加血管的通透性^[5]。炎症于24 h内到达峰值,并于7 d内终止。其中,TNF- α 介导MSCs分化为成骨细胞及软骨细胞,IL-1促进血管形成,IL-6促进成骨细胞及破骨细胞的分化。骨折后7~14 d,成纤维细胞增殖,小血管生长,肉芽组织形成^[4]。

骨折后7~9 d,临近骨折断端的骨膜细胞增殖并分化为软骨母细胞,形成透明软骨;骨折远端的骨膜细胞则分化为成骨细胞,形成编织骨。此两种结构不断生长直至接触。紧接着,编织骨及软骨逐渐被层状骨取代。在IL-1及TNF- α 的诱导下^[5],胶原基质逐渐矿化,微血管和成骨细胞穿透矿化基质,含有骨小梁结构的层状骨形成。

骨折后3~4周,重建过程开始。破骨细胞逐渐吸收骨小梁,形成一个吸收小坑。然后,成骨细胞在坑内分泌成形致密骨,使得钙磷盐不断沉积最终形成了羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)和Haversian系统。整个重建过程可能需要3至5年才能完成^[5]。近年来,如何使用分子手段在骨的修复再生中发挥作用,成为了有待攻破、至关重要的课题。

2 EVs的基本性质

EVs是一种可由大多数细胞分泌于细胞外间隙的囊泡样结构。其外部为脂质双分子层,内含

核酸、蛋白、脂质和信号分子等。大部分情况下, EVs将因其直径不同被大致分为三种类型:外泌体(30~250 nm)、微粒体(100~1 000 nm)及凋亡小体(1~5 μm)^[6]。并且,有一类直径为20~200 nm的EVs,又称为基质小泡(matrix vesicles, MVs),在硬组织、骨骼矿化中起重要作用。其中,外泌体来源于多胞体(multivesicular bodies, MVBs),微粒体直接由细胞膜胞吐形成,而凋亡小体则是在凋亡后期形成的^[7]。研究报道, EVs几近乎于能在所有的体液中被检测到,比如:唾液、血液、尿液、精液、胆汁、乳汁等^[6]。EVs的释放受到了很多因素的影响,比如:缺氧、氧化应激或钙离子浓度等^[8]。释放到胞外后, EVs在靠近释放点的细胞外隙中循环,或裂解释放其内含物,又或者是以远距分泌的形式漂流到较远的区域^[9]。

EVs通过3种方式与靶细胞沟通。第一种是直接和靶细胞的细胞膜融合;第二种是胞吞;第三种是与靶细胞膜上的受体配位后,将内含物输送到靶细胞膜内^[10]。现已有研究表明, EVs具有多种功能,其中包含:抑制免疫反应、促进血管生成、纤维化及钙化等^[11]。近期,许多科学家逐渐尝试将EVs运用于皮肤病^[12]、胰腺癌^[13]、肺癌的诊断和治疗^[14],以及载药^[15]等临床领域。并且,近期有报道显示EVs与骨代谢及骨损伤愈合有关^[16]。

2.1 EVs的免疫调节功能

近期,很多学者将关注点放在了EVs在炎症方面的应用上。在炎症环境下,内皮细胞来源的EVs具有促进周细胞的成血管的能力^[17]。并且,内皮前体细胞在炎症环境下能产生更多的EVs。Deregibus等^[18]报道,无论是在体内实验还是在体外实验中,这些EVs能促使人脐静脉血内皮细胞和人微血管上皮细胞产生血管样结构。在脊柱损伤的大鼠模型中, MSCs来源的外泌体也展现到了这一特性:细胞凋亡减少、炎症反应减弱,但血管再生的能力增强^[19]。随着免疫学的发展,巨噬细胞被证明可调节炎症反应。Zhang等^[20]报道称MSCs来源的EVs具有促使单核细胞向M2型巨噬细胞分化的功能,人类胚胎干细胞(human embryonic stem cells, ESCs)来源的EVs则能通过增加抗炎因子IL-10的分泌得到同样的结果^[20]。并且,据Ismail等^[21]报道,巨噬细胞来源的EVs能通过miR-223来调节巨噬细胞自身的分化。而近期, M2型巨噬细胞在组织及骨再生的运用受到了广泛的认可^[22]。相反地,肿瘤来源的EVs被报道具有抑制巨噬细胞成熟

的能力^[23]。总而言之, EVs通过何种方式调控先天免疫和适应性免疫, 从而促进骨愈合再生, 在临床应用中具有极大的潜力。并且, 无论是同种还是异种的 EVs 排异反应都很弱^[24]。但是, 更多深层次的机制仍需进一步探索。

2.2 EVs在成血管中的作用

已有报道显示, 在骨再生过程中, 血管的生成起到了重要的作用, 并且能促进成骨^[25]。Bian等^[26]指出, 体内实验中, 骨髓间充质细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)来源的 EVs 具有加速血流恢复的功能。Lopatina等^[27]报道, 无论是在离体实验还是体内实验中, 都显示来自脂肪来源的间充质干细胞(adipose derived mesenchymal cells, AdSCs)的 EVs 具有促进人类微血管修复的功能。据 Xie 等^[28]报道, 加载 EVs 的支架, 在离体实验中, 具有加速血管再生的能力, 而在体内实验中具有促进骨再生的能力。并且, Liu 等^[29]报道了人诱导多能干细胞来源的外泌体能够通过 PI3/Akt 途径促进上皮细胞的成血管作用。Gangadaran 等^[30]进一步研究了其深层次机制, 发现经 MSCs 来源的 EVs 转染的小鼠 SVEC-4 内皮细胞其成血管基因的 mRNA 表达增高, 使得血管内皮生长因子受体增加, 从而激活下游的成血管途径。Narayanan 等^[31]在体内实验发现人骨髓基质细胞来源的外泌体促进血管生成, 促进钙化沉积, 交联 I 型胶原蛋白和骨连素, 从而促进骨再生。总之, MSCs 来源的 EVs 有望通过成血管作用间接促进骨再生。

2.3 EVs促进成骨的作用

首先, EVs 具有促进软骨生成的潜能。据 Zhang 等^[32]报道, 在软骨缺损的大鼠模型上, ESCs 来源的外泌体促进软骨生成。Vonk 等^[33]报道 BMSCs 来源的 EVs 能促进软骨关节炎软骨细胞生成蛋白多糖和 II 型胶原, 及人类软骨再生。其次, 成骨相关细胞来源的 EVs 具有促进成骨的潜能。成骨前体细胞来源的外泌体具有促进成骨细胞形成和活性的潜能^[34]。MC3T3 鼠成骨细胞来源的外泌体, 参与整合素通路、真核起始因子 2 通路、mTOR 通路等成骨信号通路, 并有诱导 MSCs 分化为成骨细胞的能力^[35]。并且, MSCs 来源的 EVs 有直接成骨潜能。Qin 等^[36]报: 离体实验中, BMSCs 来源的 EVs 能通过 miR-196a 促进成骨细胞的活动和分化, 并在大鼠颅骨缺损上确认了其成骨的能力。Lu 等^[37]报导, AdSCs 来源的外泌体包含 Wnt-

3a 蛋白, 增强了人类初代成骨细胞的增殖能力和成骨分化能力。其中的 Wnt 蛋白被报道与骨再生和骨环境的稳态具有密不可分的关系^[38]。并且, Li 等^[39]将加载 AdSCs 来源的外泌体的植入体支架植入小鼠颅骨缺损模型中, 在显微 CT 下观察到了成骨的效果。

2.4 EVs的矿化功能

特殊类型的 EVs 具有矿化的潜能。软骨细胞、成骨细胞、破骨细胞和腱细胞能分泌基质小泡。在口腔医学领域, 成釉细胞也被报道在釉质形成过程中分泌 MVs 传递相关调节蛋白去调节釉柱的生长方向^[40]。传统观念认为, 钙化血管细胞在体外培养时具有成骨分化及摄取周围钙离子从而矿化的能力, 而单核巨噬细胞在与其共培养时可增强其这一矿化能力^[41]。近期, New 等^[42]使用透射电镜观察动脉粥样硬化斑块并使用免疫染色巨噬细胞后进行延时摄影, 观察到其内的巨噬细胞内存在富含钙化微粒及致密羟基磷灰石晶体的 MVs。钙和磷通过膜联蛋白或钠依赖的无机磷转运体, 转运进入基质小泡内, 产生最初的无定型磷酸钙, 随着无定型磷酸钙的不断积累, 包膜破裂。不仅如此, 动脉粥样硬化的斑块中巨噬细胞的 MVs 中的 miR-146a, 可传递给其他巨噬细胞, 从而靶向其 IGF2BP1 和 HuR 基因, 这可能使巨噬细胞在斑块中不断聚集, 产生了更多的 MVs 矿化, 使得斑块的体积不断增大^[43]。

水能载舟亦能覆舟, 反之亦然。学者们认为, 促进相关细胞分泌包含矿物成分的 MVs 有望在骨损伤修复中促进成骨。最常用来促进 MVs 矿化的方法是用氧化的低密度脂蛋白刺激^[43]。之前的研究表明, 血管平滑肌细胞的胞外钙盐增加可诱导磷酸酰丝氨酸暴露于 MVs 表面, 提供羟基磷灰石成核位点从而促进 MVs 的矿化^[44]。对 MVs 来说, 细胞因子具有两面性。其中 TNF- α 和血小板衍生因子能促进血管平滑肌 MVs 的钙化, 而 TGF- β 、IL-6、IL-10 则减弱其的矿化能力^[45]。据 Chen 等^[46]报道, 高迁移率族蛋白 1 能通过激活 RAGE/p38/nS-Mase2 途径促进小鼠巨噬细胞 MVs 的分泌。New 等^[42]发现, MVs 上带有 PS-S100A9-Anx5 复合体为矿化物的成核位点, 具有促进矿化的作用, 并且, 增加 S100A9 也能起到这样的功效。因此, MVs 表面的一些蛋白可以作为钙磷沉积的位点, 从而使 MVs 成为矿物质的载体, 有望在今后的临床骨损伤修复中应用。

3 总结与展望

综上所述, EVs在骨组织修复与再生中起到了重要的作用。MSCs及其他细胞来源的EVs,能通过其包含的miRNA和蛋白来调节炎症因子及一系列信号通路调节骨免疫及骨代谢,最终达到成血管及成骨的目的。此外,近期也有报道显示EVs能直接参与矿化,有望在日后的临床中使用。但是具体的机制还不甚了解,仍需进一步探索。

参考文献

- [1] Fischer UM, Harting MT, Jimenez F, et al. Pulmonary passage is a major obstacle for intravenous stem cell delivery: the pulmonary first-pass effect[J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(5): 683-692.
- [2] Coyne TM, Marcus AJ, Reynolds K, et al. Disparate host response and donor survival after the transplantation of mesenchymal or neuroectodermal cells to the intact rodent brain[J]. *Transplantation*, 2007, 84(11): 1507-1516.
- [3] Yue Y, Garikipati VNS, Verma SK, et al. Interleukin-10 deficiency impairs reparative properties of bone marrow-derived endothelial progenitor cell exosomes[J]. *Tissue Eng Part A*, 2017, 23(21/22): 1241-1250.
- [4] Mahamutha Afshana M, Priya J. Healing mechanism in bone fracture[J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2015, 7(7): 441-442.
- [5] Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing[J]. *Injury*, 2011, 42(6): 551-555.
- [6] Rilla K, Mustonen AM, Arasu UT, et al. Extracellular vesicles are integral and functional components of the extracellular matrix[J]. *Matrix Biol*, 2017. doi: 10.1016/j.matbio.2017.10.003.
- [7] Lai RC, Yeo RW, Tan KH, et al. Exosomes for drug delivery - a novel application for the mesenchymal stem cell[J]. *Biotechnol Adv*, 2013, 31(5): 543-551.
- [8] Hugel B, Martínez MC, Kunzelmann C, et al. Membrane microparticles: two sides of the coin[J]. *Physiology (Bethesda)*, 2005, 20: 22-27.
- [9] Turturici G, Tinnirello R, Sconzo G, et al. Extracellular membrane vesicles as a mechanism of cell-to-cell communication: advantages and disadvantages[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, 306(7): C621-C633.
- [10] Tkach M, Théry C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go[J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1226-1232.
- [11] Liu M, Sun Y, Zhang Q. Emerging role of extracellular vesicles in bone remodeling[J]. *J Dent Res*, 2018, 97(8): 859-868.
- [12] McBride JD, Rodriguez - Menocal L, Badiavas EV. Extracellular vesicles as biomarkers and therapeutics in dermatology: a focus on exosomes[J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(8): 1622-1629.
- [13] Ko J, Bhagwat N, Yee SS, et al. Combining machine learning and nanofluidic technology to diagnose pancreatic cancer using exosomes[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 11182-11193.
- [14] Zhou L, Lv T, Zhang Q, et al. The biology, function and clinical implications of exosomes in lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017, 407: 84-92.
- [15] Wang J, Yeung BZ, Cui M, et al. Exosome is a mechanism of inter-cellular drug transfer: application of quantitative pharmacology[J]. *J Control Release*, 2017, 268: 147-158.
- [16] Malda J, Boere J, Van De Lest CH, et al. Extracellular vesicles — new tool for joint repair and regeneration[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(4): 243-249.
- [17] Robbins PD, Dorronsoro A, Booker CN. Regulation of chronic inflammatory and immune processes by extracellular vesicles[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4): 1173-1180.
- [18] Deregibus MC, Cantaluppi V, Calogero R, et al. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA[J]. *Blood*, 2007, 110(7): 2440-2448.
- [19] Huang JH, Yin XM, Xu Y, et al. Systemic administration of exosomes released from mesenchymal stromal cells attenuates apoptosis, inflammation, and promotes angiogenesis after spinal cord injury in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2017, 34(24): 3388-3396.
- [20] Zhang B, Yin Y, Lai RC, et al. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes[J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(11): 1233-1244.
- [21] Ismail N, Wang Y, Dakhlallah D, et al. Macrophage microvesicles induce macrophage differentiation and miR-223 transfer[J]. *Blood*, 2013, 121(6): 984-995.
- [22] Chu CY, Deng J, Sun XC, et al. Collagen membrane and immune response in guided bone regeneration: recent progress and perspectives[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2017, 23(5): 421-435.
- [23] Yu S, Liu C, Su K, et al. Tumor exosomes inhibit differentiation of bone marrow dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2007, 178(11): 6867-6875.
- [24] Arslan F, Lai RC, Smeets MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Stem Cell Res*, 2013, 10(3): 301-312.
- [25] Hankenson KD, Dishowitz M, Gray C, et al. Angiogenesis in bone regeneration[J]. *Injury*, 2011, 42(6): 556-561.
- [26] Bian SY, Zhang LP, Duan LF, et al. Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model[J]. *J Mol Med-JMM*, 2014, 92(4): 387-397.
- [27] Lopatina T, Bruno S, Tetta C, et al. Platelet-derived growth factor regulates the secretion of extracellular vesicles by adipose mesenchymal stem cells and enhances their angiogenic potential[J]. *Cell Commu Signal*, 2014, 12(1): 26.
- [28] Xie H, Wang Z, Zhang L, et al. Extracellular vesicle-functionalized decalcified bone matrix scaffolds with enhanced pro-angiogenic and pro-bone regeneration activities[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45622.
- [29] Liu XL, Li Q, Niu X, et al. Exosomes secreted from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells pre-

- vent osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis [J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(2): 232-244.
- [30] Gangadaran P, Rajendran RL, Lee HW, et al. Extracellular vesicles from mesenchymal stem cells activates VEGF receptors and accelerates recovery of hindlimb ischemia[J]. *J Control Release*, 2017, 264: 112-126.
- [31] Narayanan R, Huang CC, Ravindran S. Hijacking the cellular mail: exosome mediated differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells Int*, 2016: 3808674.
- [32] Zhang S, Chu WC, Lai RC, et al. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(12): 2135-2140.
- [33] Vonk LA, Van Dooremalen SFJ, Liv N, et al. Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles promote human cartilage regeneration in vitro[J]. *Theranostics*, 2018, 8(4): 906-920.
- [34] Xie Y, Chen Y, Zhang L, et al. The roles of bone-derived exosomes and exosomal microRNAs in regulating bone remodelling [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(5): 1033-1041.
- [35] Ge M, Ke R, Cai T, et al. Identification and proteomic analysis of osteoblast-derived exosomes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467(1): 27-32.
- [36] Qin YH, Wang L, Gao ZL, et al. Bone marrow stromal/stem cell-derived extracellular vesicles regulate osteoblast activity and differentiation in vitro and promote bone regeneration in vivo[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21961.
- [37] Lu Z, Chen Y, Dunstan C, et al. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor- α preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration[J]. *Tissue Eng Part A*, 2017, 23(21/22): 1212-1220.
- [38] Zhong Z, Ethen NJ, Williams BO. WNT signaling in bone development and homeostasis[J]. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2014, 3(6): 489-500.
- [39] Li W, Liu Y, Zhang P, et al. Tissue-engineered bone immobilized with human adipose stem cells-derived exosomes promotes bone regeneration[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(6): 5240-5254.
- [40] Nurbaeva MK, Eckstein M, Feske S, et al. Ca^{2+} transport and signalling in enamel cells[J]. *J Physiol*, 2017, 595(10): 3015-3039.
- [41] Tintut Y, Patel J, Territo M, et al. Monocyte/macrophage regulation of vascular calcification in vitro[J]. *Circulation*, 2002, 105(5): 650-655.
- [42] New SE, Goettsch C, Aikawa MA, et al. Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques[J]. *Circ Res*, 2013, 113(1): 72-77.
- [43] Nguyen MA, Karunakaran D, Geoffrion M, et al. Extracellular vesicles secreted by atherogenic macrophages transfer microRNA to inhibit cell migration[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(1): 49-63.
- [44] Kapustin AN, Davies JD, Reynolds JL, et al. Calcium regulates key components of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles to enhance mineralization[J]. *Circ Res*, 2011, 109(1): E1-U41.
- [45] 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): 1312-1323.
- [46] Chen Q, Bei JJ, Liu C, et al. HMGB1 induces secretion of matrix vesicles by macrophages to enhance ectopic mineralization[J]. *Plos One*, 2016, 11(5): e0156686.

(编辑 罗燕鸿, 曾曙光)