

内皮细胞膜微粒与缺血性脑卒中的相关性研究进展

朱良琴,张惠婷,叶焯 综述 钟望涛,马晓璐 审校
广东医科大学附属第一医院神经内科,广东 湛江 524000

【摘要】 脑卒中是全球成年人致残的首要原因,其中缺血性脑卒中(IS)占脑卒中病例的80%以上。内皮细胞膜微粒(EMVs)是内皮细胞(ECs)活化或凋亡时从其表面释放的小囊泡。近年来多项研究发现EMVs在IS的发生发展过程中扮演着重要角色。本综述将阐述和总结EMVs生物学特性及其在IS临床诊疗中的潜在临床价值。

【关键词】 缺血性脑卒中;内皮细胞膜微粒;内皮细胞;生物学特性;生物学标志物;治疗

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2021)07-0904-05

Research progress on the relationship between endothelial microvesicles and ischemic stroke. ZHU Liang-qin, ZHANG Hui-ting, YE Ye, ZHONG Wang-tao, MA Xiao-tang. Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Stroke is the leading cause of adult disability in the world, and ischemic stroke (IS) accounts for more than 80% of stroke cases. Endothelial microvesicles (EMVs) are small vesicles released from the surface of endothelial cells (ECs) during activation or apoptosis. In recent years, many studies have found that EMVs play an important role in the development of ischemic stroke. This article will elaborate and summarize the biological characteristics of EMVs and their potential clinical value in the clinical diagnosis and treatment of ischemic stroke.

【Key words】 Ischemic stroke; Endothelial microvesicles (EMVs); Endothelial cells; Biological characteristics; Biological marker; Treatment

随着社会的进步,人类寿命的逐渐延长,脑血管疾病在人类疾病谱中占据着越来越高的比例。脑卒中作为脑血管疾病的最常见类型,包括缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)和出血性脑卒中,其中,IS占80%以上。IS具有高发病率、高致残率、高死亡率、高复发率等特点,随着社会老龄化的逐渐加重,其给家庭乃至整个社会都带来巨大的压力。IS是指各种脑血管病变所致脑部血流供应障碍,导致局部脑组织缺血、缺氧性坏死,而迅速出现相应神经功能缺损的一类临床综合征。其中,内皮细胞功能障碍、动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)、血栓形成等是IS的关键病理生理过程。细胞膜微粒(microvesicles, MVs)是指在细胞活化、损伤和/或凋亡过程中从质膜上脱落的亚微米颗粒;内皮细胞膜微粒(endothelial microvesicles, EMVs)是内皮细胞(endothelial cells, ECs)在活化和/或凋亡过程中从细胞膜上产生的一种囊泡结构。大量实验结果表明,EMVs在内皮细胞功能障碍、血栓形成、AS等IS的发生发展过程中发挥着重要作用,这预示着EMVs在IS的发生、发展及预后等过程中扮演着重要的角色。

1 MVs与EMVs

1.1 MVs生物学特性

1.1.1 MVs的形成 MVs是指在细胞活化、损伤和/或凋亡过程中从质膜上脱落的亚微米颗粒,静息状

态下细胞膜的特点是磷脂分布,外层是磷脂酰胆碱和鞘磷脂,内层是磷脂酰乙醇胺和磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)^[1]。这种不对称分布对生物膜功能至关重要,并受复杂的跨膜酶平衡的控制。在细胞活化、损伤和/或凋亡和随后胞浆中Ca²⁺浓度增加的过程中,质膜被修饰,磷脂不对称性受到损害,尤其是磷脂不对称性的丧失导致PS外化,并激活包括Calpain在内的胞浆酶,导致细胞骨架丝断裂。以上现象导致膜源性水泡形成增加,水泡产生的MVs被释放到循环血液中^[2]。

1.1.2 MVs的研究历史 早在20世纪中叶,人类血清就被怀疑含有亚细胞血小板样促凝血因子^[1]。1967年,具有促凝活性的血小板膜碎片在人血浆中被描述为“血小板尘”。这种“灰尘”由能够促进凝固的小气泡(直径<0.1 μm)组成。随后研究发现,ECs、血管平滑肌细胞、白细胞、淋巴细胞和红细胞的MVs在体外也有释放。在患者和健康人的血液中都发现了这些MV群体^[2]。

1.1.3 MVs的生物学功能 MVs是一种纳米级的囊泡,能够在细胞间传递DNA、mRNAs、microRNAs、ncRNAs、蛋白质和脂类等^[3],可以保护RNA不被核酸酶降解,并能在血液和细胞外空间循环,代表了一种新的细胞间通讯形式。这些囊泡不仅是蜕膜,还能够将生物信息传递给靶细胞。因此,它们应该被认为是

通讯作者:钟望涛,主任医师,教授,E-mail:zhongwangtao512@aliyun.com

细胞间的信使,而不仅仅是细胞损伤或激活的生物标志物^[3]。EMVs已经被证明能介导多种病理生理过程,包括炎症、凝血、内皮细胞功能障碍、AS等^[4]。

1.2 EMVs的生物学特性

1.2.1 EMVs的形成

EMVs是ECs在活化和/或凋亡过程中从细胞膜上产生的一种复杂的囊泡结构,可反映ECs的状态^[5]。目前对EMVs形成的认识主要来源于对分离或培养的ECs的实验。事实上,EMVs产生的体内机制仍不清楚。多项实验表明,培养的ECs在经过各种长时间的刺激(主要是炎症刺激)激活后都可以释放EMVs^[6]。1999年,COMBES等^[7]首次报道了肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)刺激人脐内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)产生EMVs的过程。后续实验也证明多种刺激均可诱导ECs释放EMVs。WANG等^[8]发现,C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)可诱导HUVECs产生EMVs,这种作用至少部分与受损的四氢生物蝶呤依赖型NO产生有关。HUVECs中增强的EMVs生成被认为是促成与CRP相关血管损伤发病机制的新的潜在机制。BRODSKY等^[9]发现纤溶酶原激活物抑制剂-1具有剂量依赖性地促进EMVs形成的新作用,同时降低了磷脂的跨膜不对称性。FAURE等^[10]研究尿毒症毒素在体外诱导EMVs释放的能力,表明尿毒症毒素(草酸盐,吡啶酚硫酸盐,对甲酚和高半胱氨酸)可增加体外EMVs的释放。另外,炎症细胞因子^[11]、细菌脂多糖^[11]、活性氧^[11]、喜树碱^[12]、凝血酶^[13]也被证明能诱导EMVs的产生。

1.2.2 EMVs的生物学功能

目前认为,EMVs可作为内皮功能障碍的生物标志物,并反映ECs的状态。有研究发现,EMVs并不是随意释放入血的,是受机体内分泌和旁分泌作用分泌的,在生理条件下,血液中EMVs的浓度在临床上微不足道,在多种病理条件下(动脉内皮功能障碍相关的多种疾病),血液中EMVs的浓度会有所增加^[11-14]。例如,EMVs在动脉粥样硬化、急性冠状动脉综合征、肺动脉高压、心力衰竭、终末期肾功能衰竭、严重高血压、脑血管疾病、血小板减少性紫癜、代谢综合征等疾病中均有不同程度的升高^[11]。同时,越来越多的证据表明EMVs在细胞内信号传递中起着中介作用,因为它们能够将许多生物活性分子转移到受体细胞,这些生物活性分子主要包括生长因子、蛋白酶、黏附分子、DNA、microRNAs、ncRNAs等,调控多种受体细胞功能。由此可见,它们作为生物传送器在调节血管稳态中起着关键作用。

2 EMVs与IS相关性

内皮细胞功能障碍、AS、血栓形成等都是IS的关键病理生理过程。与其他细胞源性MVVs一样,EMVs是一种巨大的生物效应器,影响心脑血管生理病理的

各个层面。它们可能通过促进内皮功能障碍和动脉壁炎症而引发动脉粥样硬化,也可能促进斑块的发展和破裂^[7]。因此,EMVs在IS的整个发生发展过程中扮演重要角色。

2.1 EMVs在IS发生发展过程中的作用

2.1.1 EMVs与内皮细胞功能的相关研究

研究发现,血脑屏障作为大脑的一种物理和生化屏障,可限制和调节血液与中枢神经系统之间的分子、离子和细胞的交换,这主要依赖于血脑屏障内皮细胞之间的紧密连接。IS的病理生理特征之一是血脑屏障的破坏,导致细胞旁通透性增加,从而导致血管性水肿,其明显促进了脑损伤的发展和随后的神经系统损伤^[15-16]。而且,内皮功能障碍和损害是IS的病理生理基础,在IS的发生发展中占据着重要作用。因此,维持一个完整的单层内皮细胞屏障对正常血管结构和功能至关重要,并且其可以通过释放促进抗凝、抑制炎症和诱导血管舒张的物质在体内发挥动脉粥样硬化保护作用^[11]。ECs在活化和/或凋亡过程中可释放EMVs,其可以反映ECs的功能状态^[11]。DENSMORE等^[17]在动物实验水平通过大鼠模型研究发现EMVs可损伤ECs介导的血管舒张功能,纤溶酶原激活物抑制剂-1刺激人ECs产生的EMVs能够损伤乙酰胆碱酯酶介导的主动脉内皮依赖性血管舒张功能并减少一氧化氮的产生,导致血管舒张功能障碍、血管僵硬。另外,GOOD等^[18]在动物水平发现EMVs抑制内皮型NO合酶,抑制阻力动脉的血管舒张。AMABILE等^[19]在临床水平研究发现循环中EMVs水平与终末期肾功能衰竭患者肱动脉血流介导的扩张幅度呈负相关;在体外,终末期肾功能衰竭患者的EMVs会削弱内皮依赖性舒张功能和环状鸟苷单磷酸的生成,EMVs与终末期肾功能衰竭中的内皮功能障碍和动脉功能障碍密切相关。另一方面,EMVs可能在急性血管应激(如败血症性休克)中对ECs具有血管保护作用。EMVs可作为促炎症产物的下游输送系统,在急性炎症条件下具有血管保护作用,但在慢性疾病中可能使血管功能不全持续存在。由此可见,EMVs并不是损伤的惰性标志物,其对血管ECs有利有弊,在不同的疾病状态下,其发挥的作用也有所不同^[5]。

2.1.2 EMVs与AS的相关研究

AS是一个慢性进行性炎症性过程,由早期和持续的内皮功能障碍促进和延续,也是IS的主要病理过程之一。AS主要涉及中型和大型动脉中的脂质蓄积、纤维化和炎症,是心脑血管疾病的主要原因^[20]。鉴于EMVs的生化成分、性质和生物学效应,其似乎在很大程度上参与了动脉粥样硬化的发生。首先,EMVs本身可以增强ECs对炎症的反应,有研究发现,p38丝裂原活化蛋白激酶能靶向促炎性内皮微粒的产生。在体外细胞实

验表明,EMVs的释放与促炎因子的释放有关,表明EMVs的释放与经典的炎症途径可能有密切的关系。此外,EMVs和ECs之间的相互作用通过增加ICAM信使RNA的表达以及靶细胞中可溶性ICAM的脱落而触发促炎症反应^[21]。内皮功能障碍是AS的始动环节。DENSMORE等^[17]在动物水平通过大鼠模型研究不仅发现前面提到的,EMVs还可以通过损伤ECs介导的血管舒张功能,从而导致血管舒张功能障碍、血管僵硬;还发现,EMVs还可使鼠肺毛细血管通透性显著增加,进而易于单核细胞迁移聚集于内皮下和低密度脂蛋白的沉积。不仅如此,多项研究表明,EMVs在AS的发生发展全过程中扮演着关键的一角,从内皮功能障碍、血管壁炎症、氧化应激和细胞凋亡到动脉粥样硬化进展和发展中的凝血和血栓形成^[20]。

2.1.3 EMVs与促凝血方面的研究 有研究显示,凝血功能障碍,如促凝血方面的异常活跃可导致血液的高凝状态,其可局部或弥漫性发生,也可进一步导致IS的发生^[22]。凝血功能障碍在IS的病理生理中起重要作用。凝血酶作为凝血系统中的重要一员,已被多次证实其可诱导ECs释放EMVs。SIMONCINI等^[23]在细胞实验水平发现控制EMVs释放的新机制,即sTRAIL参与凝血酶诱导的EMVs释放,主要通过涉及一核因子激活的下游途径诱导的细胞间黏附分子-1核白介素8表达。另外,SAPET等^[24]发现凝血酶诱导EMVs生成还可通过Caspase-2激活Rho激酶ROCK-II而不依赖于细胞死亡的新途径。如上,凝血酶可以通过多种途径诱导EMVs的释放。而也有研究发现,EMVs又能在许多疾病中介导凝血酶的生成^[21]。主要是EMVs表面存在组织因子(tissue factor,TF)及PS,其中,PS能结合凝血因子并促进其活化,此外,TF的EMVs是外源性凝血途径的起始者,在体外和体内诱导TF依赖性凝血酶的形成^[25]。SABATIER等^[26]在体外实验发现,EMVs与单核细胞和血小板相互作用可诱导并加大TF依赖性促凝活性。LEROYER等^[27]及MALLAT等^[28]均在人动脉粥样硬化斑块中发现了促凝血EMVs。而且,MALLAT等^[29]也在急性冠状动脉综合征患者外周血中发现促凝血EMVs。EMVs在多种病理情况下表现出明显的促凝作用,在止血、血栓形成中起重要作用。

2.2 EMVs作为IS的生物学标志物潜能 临床上很多疾病,例如感染、糖尿病、急性心肌梗死、血脂异常等,都可以靠相应的血液生物标志物来诊断。但目前还没有相关的血液生物标志物可以用来诊断IS。因此,寻求IS相关血液生物标志物显得尤为有意义。EMVs携带内皮细胞成分和细胞表面抗原,可区别来源于白细胞、红细胞或血小板的MVs。此外,EMVs表型特征可受刺激类型的影响,不同的蛋白质

表达模式有助于区分刺激类型^[30]。SIMAK等^[31]发现,循环的EMVs某些表型可能与急性缺血性卒中(acute ischemic stroke, AIS)的严重程度、病变体积和预后有关,其实验结果显示CD105+CD41a-CD45-EMV [E(+)-EMV]、CD105+CD144+EMV [C(+)-EMV]、CD105+PS+CD41a-EMV [PS(+)-EMV]和CD105+CD54+CD45-EMV [I(+)-EMV]在中重度AIS患者中均有升高,其中,三种EMV表型[E(+)-EMV, PS(+)-EMV和I(+)-EMV]与脑病变量显著相关,其中I(+)-EMV相关性最强。另外,C(+)-EMV和E(+)-EMV与患者出院临床结局相关,这可能有利于AIS患者的预后评估。JUNG等^[30]临床研究发现近期发作的缺血性脑卒中与更高的CD62E+EMV水平密切相关。而且,CD62E+EMV水平与神经损伤指标(美国国立卫生研究院卒中量表评分即NIHSS评分和脑梗死体积)呈显著正相关,这提示CD62E+EMV水平与缺血坏死程度直接相关。同时还发现,在缺血性脑血管疾病相关危险因素组,颅内动脉狭窄患者的CD62E+EMV水平较高,而颅内动脉狭窄患者的CD31(+)/CD42b(-)和CD31(+)/AV(+)-EMV水平更高。CD62E+与CD31(+)/CD42b(-)或CD31(+)/AV(+)-EMV比值可协助判定颅内动脉狭窄程度。另外,不论中风亚型,急性期CD62E+EMV水平均升高,且随时间而降低,这些结果可能提示了激活的EMVs而不是凋亡的EMVs是诱导中风的主要因素。有实验表明,ECs在凋亡和激活过程中所释放EMVs也是不同表型的,这也提示对EMV表型特征的分析可提供有关内皮状态的临床有用信息。JIMENEZ等^[32]细胞实验发现在细胞凋亡中,EMV中的组成性标志物显著增加(CD31>CD105),Annexin V EC表面结合和膜联蛋白V+EMV也显著增加。相反,在细胞激活中,EMV中的诱导性标记均显著增加(CD62E>CD54>CD106)。LI等^[33]发现AIS患者的CD144(+)/CD41a(-)-EMV、CD31(+)/CD41a(-)-EMV、CD62E+EMV和Annexin V(+)/CD62E(+)-EMV的水平显著升高。值得注意的是,CD144(+)/CD41a(-)-EMV的水平与卒中严重程度密切相关,Annexin V(+)/CD62E(+)-EMV微粒与中风亚型之间存在轻度相关性。而且,值得一提的是,ZHANG等^[34]发现血浆EMVs和EMVs-miR-155的水平在IS的急性期和亚急性期显著增加,而在慢性期则保持不变,并且与梗死体积和NIHSS得分呈正相关,并与所定义的大动脉粥样硬化和心脏栓塞亚型相关。这表明血浆EMVs和EMVs-miR-155是IS有前途的生物标志物。以上相关实验研究提示,EMV不同表型及其携带的内容物都将有利于判断急性缺血性中风分型、严重程度及其预后等。此外,另一个值得关注的是,有研究发现,CD105(+)/CD144(+)-EMV计数在有出血转化的急性缺血性

脑卒中患者中升高,这对于诊断脑梗死出血转化有莫大临床意义^[31]。

2.3 EMVs在IS中的治疗潜力 临床上,目前对于IS的治疗主要集中在超急性期再灌注治疗、急性期的病因和发病机制治疗、恢复期的功能训练及二级预防等。已有研究表明,当大脑的供血动脉严重狭窄或闭塞时,血流通过新生血管侧支循环的方式,改善受损脑组织中的缺血缺氧状态,有助于神经功能的恢复^[35]。因此,促进血管生成也是IS的有效治疗方法之一。大量实验研究结果表明,EMVs在促血管生成方面也有作用。LACROIX等^[36]发现EMVs可以通过表达尿激酶型纤溶酶原激活物及其受体诱导纤溶酶的生成,它可以对抗EMVs产生的凝血酶,在维持血管通畅、促进细胞迁移和血管生成方面发挥关键作用。另外,还有实验结果表明,EMVs与细胞外基质相互作用,并激活基质金属蛋白酶,参与细胞外基质降解和生长因子的释放,这些因子在组织重塑和血管生成中起关键作用^[37]。再者,组织缺血过程中产生的EMVs被认为能够促进ECs增殖和血管生成,微血管ECs释放的富含TF的EMVs可以通过促进缺血后新生血管和组织再灌注^[20,38]。然而,EMVs在血管生成中的作用仍存有争议。有细胞实验发现从HUVECs中分离出的高浓度EMVs可抑制血管生成,而低EMVs含量可促进毛细血管样结构的形成^[21]。基于目前研究,EMVs在炎症、凝血、血管生成等病理过程中的作用并不是定性的,在不同的内环境和疾病状态下,内皮细胞膜微粒的组分有所不同,一方面可促炎、促凝、损伤内皮细胞功能以促进疾病的进展,另一方面也可发挥抗炎、抗凝作用促进内皮细胞修复从而延缓疾病进展。因此,EMVs在不同病理状态下表现出来的作用可能是不一样甚至反方向的,其可能与EMVs分泌来源的细胞相关,因为不少研究指出EMVs可携带母细胞的生物学信息。总而言之,EMVs有促进血管生成改善血流等功能,同时具有免疫原性低、循环稳定性好、传递效率高、可穿过血脑屏障等优点,这些优点让EMVs在IS的治疗中具有极大潜力。

3 结语

总的来说,EMVs参与了IS的整个发生发展过程并在其中扮演着重要角色。在不同的病理生理情况下,EMVs的表型有所不同,其发挥的作用也不尽相同。有多项研究表明,某些表型的EMVs及其携带的内容物与IS的急慢性期、分型、病情严重程度及预后等有显著相关性,这表明EMVs有望成为IS的有效血液生物学标志物,为IS的临床诊疗提供新思维、新方法。但目前对于IS的具体发病机制、EMVs在IS病情发展过程中发挥作用的具体机制均未完全明确,如

何将其充分应用于IS的临床诊疗中还有待于今后的进一步研究。另外,EMVs在IS治疗中的潜力也仍需后续更多的实验研究去探索及证明。

参考文献

- [1] CHIRONI GN, BOULANGER CM, ALAIN SIMON A, et al. Endothelial microparticles in diseases [J]. *Cell & Tissue Research*, 2009, 335(1): 143-151.
- [2] PUDDU P, PUDDU GM, CRAVERO E, et al. The involvement of circulating microparticles in inflammation, coagulation and cardiovascular diseases [J]. *Can J Cardiol*, 2010, 26(4): 140-145.
- [3] LAI CP, BREAKFIELD XO. Role of exosomes/micovesicles in the nervous system and use in emerging therapies [J]. *Front Physiol*, 2012, 3: 228.
- [4] SABATIER F, LACROIX R, LEROYER AS, et al. Cell-derived microparticles: key players at the crossroad between inflammation and thrombosis [J]. *Transfus Clin Biol*, 2011, 18(2): 62-69.
- [5] PARKER B, AL-HUSAIN A, PEMBERTON P, et al. Suppression of inflammation reduces endothelial microparticles in active systemic lupus erythematosus [J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(6): 1144-1150.
- [6] LEROYER AS, ANFOSSO F, LACROIX R, et al. Endothelial-derived microparticles: Biological conveyors at the crossroad of inflammation, thrombosis and angiogenesis [J]. *Thromb Haemost*, 2010, 104(3): 456-463.
- [7] COMBES V, SIMON AC, GRAU GE, et al. *In vitro* generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(1): 93-102.
- [8] WANG JM, WANG Y, HUANG JY, et al. C-reactive protein-induced endothelial microparticle generation in HUVECs is related to BH4-dependent NO formation [J]. *J Vasc Res*, 2007, 44(3): 241-248.
- [9] BRODSKY SV, MALINOWSKI K, GOLIGHTLY M, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 promotes formation of endothelial microparticles with procoagulant potential [J]. *Circulation*, 2002, 106(18): 2372-2378.
- [10] FAURE V, DOU L, SABATIER F, et al. Elevation of circulating endothelial microparticles in patients with chronic renal failure [J]. *J Thromb Haemost*, 2006, 4(3): 566-573.
- [11] SZOTOWSKI B, ANTONIAK S, GOLDIN-LANG P, et al. Antioxidative treatment inhibits the release of thrombogenic tissue factor from irradiation- and cytokine-induced endothelial cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 73(4): 806-812.
- [12] SIMÁK J, HOLADA K, VOSTAL JG. Release of annexin V-binding membrane microparticles from cultured human umbilical vein endothelial cells after treatment with camptothecin [J]. *BMC Cell Biol*, 2002, 3(1): 11.
- [13] SAPET C, SIMONCINI S, LORIOD B, et al. Thrombin-induced endothelial microparticle generation: identification of a novel pathway involving ROCK-II activation by caspase-2 [J]. *Blood*, 2006, 108(6): 1868-1876.
- [14] SIERKO E, SOKÓŁ M, WOJTUKIEWICZ MZ. Endothelial microparticles (EMP) in physiology and pathology [J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2015, 69: 925-932.
- [15] ABDULLAHI W, TRIPATHI D, RONALDSON PT. Blood-brain barrier dysfunction in ischemic stroke: targeting tight junctions and transporters for vascular protection [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*,

- 2018, 315(3): C343-C356.
- [16] YANG C, HAWKINS KE, DORÉ S, et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316(2): C135-C153.
- [17] DENSMORE JC, SIGNORINO PR, OU J, et al. Endothelium-derived microparticles induce endothelial dysfunction and acute lung injury [J]. *Shock*, 2006, 26(5): 464-471.
- [18] GOOD ME, MUSANTE L, SALVIA SL, et al. Circulating extracellular vesicles in normotension restrain vasodilation in resistance arteries [J]. *Hypertension*, 2020, 75(1): 218-228.
- [19] AMABILE N, GUÉRIN AP, LEROYER A, et al. Circulating endothelial microparticles are associated with vascular dysfunction in patients with end-stage renal failure [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(11): 3381-3388.
- [20] BADIMON L, SUADES R, ARDERIU G, et al. Microvesicles in atherosclerosis and angiogenesis: from bench to bedside and reverse[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2017, 4: 77.
- [21] DENG F, WANG S, ZHANG LQ. Wang and L. Zhang, Endothelial microparticles act as novel diagnostic and therapeutic biomarkers of circulatory hypoxia-related diseases: a literature review [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(9): 1698-1710.
- [22] WADDY SP. Disorders of coagulation in stroke [J]. *Semin Neurol*, 2006, 26(1): 57-64.
- [23] SIMONCINI S, NJOCK MS, STÉPHANE ROBERT S, et al. TRAIL/Apo2L mediates the release of procoagulant endothelial microparticles induced by thrombin in vitro: a potential mechanism linking inflammation and coagulation [J]. *Circ Res*, 2009, 104(8): 943-951.
- [24] SAPET C, SIMONCINI S, LORIOD B, et al. Thrombin-induced endothelial microparticle generation: identification of a novel pathway involving ROCK- II activation by caspase-2 [J]. *Blood*, 2006, 108(6): 1868-1876.
- [25] COMBES V, SIMON AC, GRAU GE, et al., In vitro generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(1): 93-102.
- [26] SABATIER F, ROUX V, ANFOSSO F, et al. Interaction of endothelial microparticles with monocytic cells *in vitro* induces tissue factor-dependent procoagulant activity [J]. *Blood*, 2002, 99(11): 3962-3970.
- [27] LEROYER AS, ISOBE H, LESÈCHE G, et al. Cellular origins and thrombogenic activity of microparticles isolated from human atherosclerotic plaques [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(7): 772-777.
- [28] MALLAT Z, HUGEL B, OHAN J, et al. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: a role for apoptosis in plaque thrombogenicity [J]. *Circulation*, 1999, 99(3): 348-353.
- [29] 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. *Circulation*, 2000, 101(8): 841-843.
- [30] JUNG KH, CHU K, LEE ST, et al. Circulating endothelial microparticles as a marker of cerebrovascular disease [J]. *Ann Neurol*, 2009, 66(2): 191-199.
- [31] SIMAK J, GELDERMAN MP, YU H, et al. Circulating endothelial microparticles in acute ischemic stroke: a link to severity, lesion volume and outcome [J]. *J Thromb Haemost*, 2006, 4(6): 1296-1302.
- [32] JIMENEZ JJ, JY W, MAURO LM, et al. Endothelial cells release phenotypically and quantitatively distinct microparticles in activation and apoptosis [J]. *Thromb Res*, 2003, 109(4): 175-180.
- [33] LI P, QIN C. Elevated circulating VE-cadherin+CD144+endothelial microparticles in ischemic cerebrovascular disease [J]. *Thromb Res*, 2015, 135(2): 375-381.
- [34] ZHANG HT, CHEN GH, QIU WJ, et al. Plasma endothelial microvesicles and their carrying miRNA-155 serve as biomarkers for ischemic stroke [J]. *J Neurosci Res*, 2020.doi:10.1002/jnr.24696
- [35] LIU J, WANG Y, AKAMATSU Y, et al. Vascular remodeling after ischemic stroke: mechanisms and therapeutic potentials [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 138-156.
- [36] LACROIX R, SABATIER F, MIALHE A, et al. Activation of plasminogen into plasmin at the surface of endothelial microparticles: a mechanism that modulates angiogenic properties of endothelial progenitor cells in vitro [J]. *Blood*, 2007, 110(7): 2432-2439.
- [37] LOZITO TP, TUAN RS. Endothelial cell microparticles act as centers of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activation and vascular matrix remodeling [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(2): 534-549.
- [38] LEROYER AS, RAUTOU PE, SILVESTRE JS, et al. CD40 ligand+ microparticles from human atherosclerotic plaques stimulate endothelial proliferation and angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(16): 1302-1311.

(收稿日期:2020-10-08)