

# 外泌体在糖尿病视网膜病变的机制研究进展

王勤<sup>1</sup>, 曾凤<sup>1</sup>, 卢亚梅<sup>1</sup>, 庄菁<sup>2</sup>, 余克明<sup>2</sup>, 陈熹<sup>2</sup>, 周元清<sup>1</sup>, 刘桂池<sup>1</sup>

引用:王勤,曾凤,卢亚梅,等. 外泌体在糖尿病视网膜病变的机制研究进展. 国际眼科杂志 2023;23(10):1667-1670

作者单位:<sup>1</sup>(511518)中国广东省清远市,广州医科大学附属第六医院眼科;<sup>2</sup>(510623)中国广东省广州市,中山大学中山眼科中心

作者简介:王勤,广州医科大学在读硕士研究生,研究方向:眼底病。

通讯作者:曾凤,硕士,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向:眼底病. Happy2008zhuzhu@163.com

收稿日期:2022-12-30 修回日期:2023-08-21

## 摘要

外泌体是广泛存在于人体,由机体细胞产生并分泌的纳米级细胞外囊泡,能相对稳定地存在于各种生物组织和体液中,并携带特定的 miRNA、蛋白质、转录因子等多种信息分子,参与调控体内多种疾病的病理生理过程。近年来随着外泌体在各学科研究的不断深入,其在眼科学领域的研究也迅速开展,目前发现外泌体在糖尿病视网膜病变、年龄相关性黄斑变性、自身免疫性葡萄膜炎、角膜病及青光眼等多种疾病中发挥重要作用。随着生活水平的提高,全世界糖尿病视网膜病变致盲人数逐年增加,而糖尿病视网膜病变机制研究未明,近年许多研究发现外泌体在其中发挥着重要作用,本文对外泌体在糖尿病视网膜病变的发生、发展机制的最新研究进展进行综述。

关键词:外泌体;糖尿病视网膜病变;眼部疾病

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.10.13

## Research progress on the mechanism of exosomes in diabetic retinopathy

Qin Wang<sup>1</sup>, Feng Zeng<sup>1</sup>, Ya - Mei Lu<sup>1</sup>, Jing Zhuang<sup>2</sup>, Ke - Ming Yu<sup>2</sup>, Xi Chen<sup>2</sup>, Yuan - Qing Zhou<sup>1</sup>, Gui-Chi Liu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, the Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong Province, China; <sup>2</sup>Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat - sen University, Guangzhou 510623, Guangdong Province, China

Correspondence to: Feng Zeng, Department of Ophthalmology, the Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 511518, Guangdong Province, China. Happy2008zhuzhu@163.com

Received:2022-12-30 Accepted:2023-08-21

## Abstract

• Exosomes are nanoscale extracellular vesicles that are secreted by a variety of cells in the body. They carry

particular miRNA, protein molecules, transcription factors, and other information molecules, and they play a role in the pathophysiological regulation of a number of diseases in the body. Exosomes can persist steadily in biological tissues and bodily fluids. Exosomes have quickly advanced in ophthalmology in recent years due to the extensive studies of exosomes in a variety of fields, such as diabetic retinopathy, age - related macular degeneration, autoimmune uveitis, corneal disease, glaucoma, and other diseases. The number of people who are blind caused by diabetic retinopathy is rising as living standards rise. However, it is still unclear how diabetic retinopathy works. In recent years, many studies have found that exosomes play an important role in diabetic retinopathy. In this paper, the most recent developments in exosome studies as they relate to the pathogenesis and progression of diabetic retinopathy are reviewed.

• KEYWORDS: exosome; diabetic retinopathy; eye disease

Citation: Wang Q, Zeng F, Lu YM, et al. Research progress on the mechanism of exosomes in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(10):1667-1670

## 0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)主要由于长期高血糖状态导致视网膜微循环障碍,通过促炎因子、趋化因子等多种炎症介质,导致视网膜神经血管损伤、黄斑水肿等病理改变<sup>[1]</sup>,而视网膜局部缺血缺氧,可发展成增殖性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR),引发新生血管形成<sup>[2]</sup>,最终发展为牵拉性视网膜脱离,造成不可逆的视力损害。目前,有关DR的病理机制尚不完全明确。近年来的研究表明DR可能与炎症反应、细胞因子如细胞内黏附分子-1(ICAM-1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达、氧化应激及PKC、AKT/ERK、MAPK等多种信号传导途径的激活有关,外泌体可能参与其中的一些重要环节<sup>[3]</sup>。近年来,外泌体在肿瘤、心血管及神经系统中取得了显著研究成果,使外泌体的研究逐渐成为针对多种疾病的前沿热点研究,以下就外泌体来源、生物学功能及近年来发现的不同来源的外泌体如何参与DR的生理或病理过程,以及外泌体作为潜在治疗靶点,在DR保护方面的研究进展进行阐述。

### 1 外泌体来源和功能及提取方法

1.1 外泌体的来源 1987年Johnstone等<sup>[4]</sup>在对绵羊网织红细胞进行离心时获得了具有活性的囊泡,并首次将其命

名为外泌体。随着对外泌体的不断研究,发现外泌体是由细胞产生并分泌的细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)。外泌体可有多种细胞来源,几乎所有的细胞均可分泌,目前研究表明间充质干细胞、肿瘤细胞、巨噬细胞、树突状细胞、肥大细胞、内皮细胞等多种细胞均有外泌体分泌功能<sup>[5]</sup>。大多数外泌体直径约30~150nm,可携带蛋白质、核酸、脂类及多种代谢产物。由于其独特的脂质双分子结构,使其能广泛存在于血浆、唾液、房水、淋巴液、玻璃体液等各种体液中。

**1.2 外泌体的形成过程** 外泌体由细胞内吞、出芽作用而形成,首先形成腔内囊泡(intraluminal vesicles, ILVs),进一步加工修饰转变为多泡体(multivesicular bodies, MVBs)。当MVBs通过多种机制最终与细胞膜相融时,ILVs从细胞内被释放,形成外泌体<sup>[6]</sup>。MVBs可通过转运所需的内体分选复合物(the endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)依赖途径和ESCRT非依赖途径两种不同的途径形成,具体过程可分为起始、内吞、多泡体形成及分泌4个阶段<sup>[7]</sup>。ESCRT途径依靠ESCRT 0~III、分选蛋白4(Vps4)和组成型热休克蛋白Hsp-70等共同构成的复合物发挥作用<sup>[8]</sup>,主要通过对泛素化蛋白的进行分选,维持ILVs内容物的特异性,但目前对ESCRT内分子间如何协同作用并将特定的内容物转运至ILVs中的机制仍不明确<sup>[9]</sup>。ESCRT非依赖途径在组装形成MVBs时,主要由神经酰胺对其内容物进行筛选,促进特定的蛋白质、脂质及RNA进入ILVs,同时促进外泌体的释放<sup>[10]</sup>。

**1.3 外泌体的生物学功能** 外泌体可携带多种蛋白质、脂质、核酸及代谢产物等多种生物信息分子,这使得外泌体具有多种功能。外泌体可通过释放特定的蛋白质而激活体内的信号传导通路,调节下游细胞的功能<sup>[11]</sup>。外泌体还可以携带活性信使RNA(mRNA)、miRNA,调节靶细胞的基因表达<sup>[12]</sup>。因此外泌体可参与机体的多种病理、生理过程,An等<sup>[13]</sup>研究表明外泌体参与机体的免疫反应和炎症反应,具有促进新生血管形成,参与细胞增殖和分化调节等功能。目前已经发现外泌体在代谢、肿瘤、心血管及神经退行性病变等多种疾病方面具有其独特的诊断和治疗价值<sup>[14]</sup>。

**1.4 外泌体的提取方法** 外泌体存在于多种体液,如血液、房水、唾液及相关培养基的上清液中,恰当的提取方法能最大限度的保证外泌体提取的纯度及质量。目前有效地分离提取外泌体的方法包括超速离心、密度梯度离心、聚合物沉淀、超滤、免疫亲和捕获、尺寸排阻色谱法等,其中传统的超速离心法是目前分离外泌体的金标准<sup>[15]</sup>,超速离心法具有简单易操作、低成本、适合大批量提取的特点。但在一定的离心力下,传统的超速离心并不能将外泌体微泡和其他蛋白质、脂质等分离<sup>[16]</sup>,并可能对外泌体造成机械性损伤。密度梯度离心在一定程度上弥补了传统超速离心纯度低的缺点,但其产率相对较低。尺寸排阻法是根据不同囊泡的直径大小不同,对其进行梯度洗脱,该方法最大特点是能保持外泌体的自然生物活性<sup>[17]</sup>。免疫亲和捕获法是依靠体内的特异性抗原抗体反应对外泌体

表面的标志物进行捕获分离的方法,该方法存在的主要问题是不能很好地保持外泌体的天然活性状态<sup>[18]</sup>。因此,尽管有很多的方法能分离提取外泌体,但目前外泌体的制备仍然没有标准化,根据不同的研究样本及应用环境,需要采取不同的提取方法,以保证实验数据的准确性。

## 2 外泌体与 DR

**2.1 血循环源性外泌体参与 DR 多种病理过程** 血循环源性外泌体可作为DR的新型生物标志物,相较于眼内容物等生物标本,如玻璃体及房水等,血浆及血清等体液成分获取更简单、患者更容易接受、且获取的标本量更大,使得外泌体的分离提取更简便。Mazzeo等<sup>[19]</sup>通过微阵列分析DR患者中miRNA的差异表达,并采用定量PCR法明确了miR-150-5p、miR-21-3p和miR-30b-5p的表达升高。进一步研究表明,miR-150-5p可调节VEGF表达<sup>[20]</sup>,miR-30b-5p可介导间隙连接蛋白GJA1下调促进新生血管形成和内皮细胞迁移<sup>[21]</sup>。因此携带miRNA的外泌体可以作为DR的潜在生物标志物。

与非糖尿病患者相比,糖尿病患者IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )水平升高,表明炎症与DR相关<sup>[22]</sup>。Huang等<sup>[23]</sup>研究表明糖尿病血浆外泌体可激活经典的补体级联反应,刺激机体趋化因子和促炎细胞因子上调,造成血管损伤。S100A8是单核细胞和中性粒细胞分泌的促炎蛋白,于荣国等<sup>[24]</sup>研究发现DR患者的外泌体和玻璃体中S100A8表达明显增高,可作为潜在的抗炎治疗靶点。同时,高糖状态可激活单核细胞,通过外泌体中的ICAM-1,进一步激活内皮细胞,加重血管炎症<sup>[25]</sup>。由此可见,外泌体通过参与运输炎症因子、激活内皮细胞等,在DR中发挥重要作用。

PDR是指在视网膜缺血的基础上引发新生血管形成,新生血管反复出血可造成玻璃体体积血及牵拉性视网膜脱离<sup>[26]</sup>,导致视力不可逆丧失。新生血管形成与多种细胞因子表达及信号通路的激活有关,Tokarz等<sup>[27]</sup>对糖尿病患者细胞外囊泡中细胞因子及炎症因子水平进行分析,结果显示血管内皮生长因子可溶性受体2(VEGFR-2)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血管抑制素、组织抑制剂等分泌明显增加,这表明外泌体可作为信息传递者参与视网膜新生血管的形成。外泌体对新生血管的影响主要取决于外泌体中的成分,Li等<sup>[28]</sup>通过高通量测序及PCR检测发现PDR患者血清外泌体中circRNA、miRNA及mRNA表达均存在差异,进一步研究发现血清外泌体建立了一个circRNA-miRNA-mRNA ceRNA网,circRNA可通过miRNA反应元件与miRNAs竞争性结合,抑制miRNA对其靶向mRNA的负性调控,称为竞争性内源性RNA(ceRNA),而mRNA可通过PI3K-Akt、MAPK、Wnt等信号通路对新生血管产生影响。Liu等<sup>[29]</sup>在糖尿病小鼠周细胞中发现环状RNA-cPWWP2A高表达,并通过增强miR-579及其靶基因(包括紧密连接蛋白、血管生成素1、沉默信息调节因子1)表达,上调视网膜血管内皮细胞的增殖、成管能力,cPWWP2A或miR-579表达的干预可能成为治疗DR新的思路。而Moisseiev等<sup>[30]</sup>研究发现缺氧条件下骨髓间充质干细胞来源的外泌体能有效抑制缺氧

导致的视网膜新生血管形成,对视网膜其保护作用。

**2.2 视网膜色素上皮细胞源性外泌体与氧化应激** 视网膜色素上皮细胞是介于脉络膜和视网膜间的单层上皮细胞,极易受到氧化应激,尤其是活性氧(ROS)的影响。ROS是指含氧的反应性活性化学物质,包括过氧化物和超氧化物等,当视网膜色素上皮细胞受到过量ROS刺激时,将会导致细胞发生特异性改变:包括视网膜局部炎症、细胞自噬以及VEGF过度产生等,并释放更多含有VEGFR2的外泌体<sup>[31]</sup>,VEGFR2可进一步通过磷脂酶-C $\gamma$ -蛋白激酶-C途径激活MAP激酶介导新生血管的迁移与形成<sup>[32]</sup>。张惟等<sup>[33]</sup>研究表明在氧化应激条件下,人视网膜色素上皮细胞(ARPE-19)外泌体可上调VEGF-A表达,同时下调丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt),VEGF-A是血管生成的主要调节剂,可与内皮细胞囊泡结合,增加血管通透性,促进新生血管形成;Akt作为RPE细胞的保护因子,可诱导下游效应子FKHR和GSK-3 $\beta$ 的磷酸化,其降低可导致细胞损伤。而抑制氧化应激对RPE可起保护作用,Maisto等<sup>[34]</sup>实验显示黑色素受体5激动剂PG-901可减少视网膜色素上皮ROS的产生及VEGF的释放,提高高糖条件下视网膜色素上皮的存活率,并可减少新生血管的形成,抑制DR进展。

**2.3 Müller细胞来源的外泌体与DR** Müller细胞作为特化的神经胶质细胞,在维持血视网膜屏障和神经元功能方面发挥重要的作用。Proia等<sup>[35]</sup>研究发现神经胶质细胞可分泌含有成纤维细胞生长因子-2和血管内皮生长因子的细胞外囊泡。Liu等<sup>[36]</sup>探索了人Müller细胞来源的外泌体miR-9-3p的功能,发现miR-9-3p可限制DR中的1-磷酸鞘氨醇(S1P1),而S1P1可抑制AKT/ERK信号通路对VEGF-A诱导的VEGFR2磷酸化的影响,S1P1的限制影响了VEGFR2的活性,促进新生血管形成。Inada等<sup>[37]</sup>研究表明在缺氧条件下,小胶质细胞被激活,释放促炎细胞因子如IL-1 $\beta$ ,促进Müller细胞产生VEGF,导致血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)功能破坏。同时其他来源的外泌体亦可对Müller细胞产生影响,富含血小板血浆的外泌体可以刺激PI3K-Akt信号通路和Yes相关蛋白表达,改善视网膜纤连蛋白及结缔组织生长因子的表达,促进Müller细胞增殖并增加其纤维化活性,进而对BRB的紧密性产生破坏作用,加重DR进展<sup>[38]</sup>。同时胰腺 $\beta$ 细胞分泌的含miR-15a外泌体可以激活Akt3通路导致氧化应激,造成Müller细胞凋亡<sup>[39]</sup>。

**2.4 外泌体对DR的保护作用** 外泌体相比于细胞性质更加稳定更易于贮存,外泌体独特的稳定性及脂质双分子结构使通过外泌体给药成为可能,近年来外泌体在各种疾病中的治疗作用也得到深入研究。视网膜缺血是视力受损和丧失的主要原因,也是DR晚期的主要表现。Mathew等<sup>[40]</sup>通过模拟体外缺血条件和体内视网膜缺血研究表明,间充质干细胞来源的外泌体可被视网膜R28细胞以剂量及饱和度依赖的方式内吞,可通过降低神经炎症反应及减少神经细胞的凋亡对视神经起保护作用。而人脐带间充质干细胞来源的外泌体miR-17-3p通过靶向信号转导和转录激活因子1(STAT1)改善DR小鼠的炎症反应和

氧化损伤,并抑制视网膜细胞的凋亡<sup>[41]</sup>。Li等<sup>[42]</sup>进一步动物实验证明骨髓间充质干细胞诱导的外泌体miR-486-3p可经由Toll样受体4(TLR4)/NF- $\kappa$ B轴抑制氧化应激、炎症和细胞凋亡,并促进Müller细胞增殖,对DR小鼠起保护作用。

### 3 总结

随着外泌体的分离、纯化及检测技术不断进步,使得大量各种细胞来源的外泌体被深入研究。外泌体在越来越多的疾病诊断及治疗中有了突破性的进展,而其在眼部疾病,特别是DR中的研究也在不断深入。血循环源性外泌体可作为DR的新型生物标志物在DR的早期诊断中起重要作用;同时,外泌体也可通过炎症刺激、新生血管形成、氧化应激等机制加速DR的发展,外泌体亦可对DR的发生、发展起保护作用。尽管目前已经有大量的研究证实了DR的发生和发展中外泌体起至关重要的作用,但其潜在的机制目前仍不十分清楚,需要进一步的科学研究。

### 参考文献

- 1 陈加玉,滕岩,杨明明.炎症调控因子在糖尿病视网膜病变新生血管形成中的作用.国际眼科杂志 2021;21(8):1390-1393
- 2 Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments. *Int J Mol Sci* 2018;19(6):1816
- 3 邱莎,王天铭,逢冰,等.糖尿病视网膜病变发病机制及治疗的研究进展.医学综述 2021;27(21):4285-4291
- 4 Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem* 1987;262(19):9412-9420
- 5 李双双,杜春阳,袁媛,等.不同细胞来源的外泌体的特点和功能.国际药学研究杂志 2019;46(6):411-417
- 6 Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2014;30:255-289
- 7 Vietri M, Radulovic M, Stenmark H. The many functions of ESCRTs. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020;21(1):25-42
- 8 Juan T, Fürthauer M. Biogenesis and function of ESCRT-dependent extracellular vesicles. *Semin Cell Dev Biol* 2018;74:66-77
- 9 Frankel EB, Audhya A. ESCRT-dependent cargo sorting at multivesicular endosomes. *Semin Cell Dev Biol* 2018;74:4-10
- 10 Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science* 2008;319(5867):1244-1247
- 11 Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavieu G, et al. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nat Cell Biol* 2019;21(1):9-17
- 12 Wu YH, Wu M, Zhang YC, et al. Lyophilization is suitable for storage and shipment of fresh tissue samples without altering RNA and protein levels stored at room temperature. *Amino Acids* 2012;43(3):1383-1388
- 13 An Y, Lin SY, Tan XJ, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells and application to skin wound healing. *Cell Prolif* 2021;54(3):e12993
- 14 Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science* 2020;367(6478):eaau6977
- 15 Yang DB, Zhang WH, Zhang HY, et al. Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation - efforts for efficient exosome-based therapeutics. *Theranostics* 2020;10(8):3684-3707

16 Langevin SM, Kuhnell D, Orr-Asman MA, *et al.* Balancing yield, purity and practicality: a modified differential ultracentrifugation protocol for efficient isolation of small extracellular vesicles from human serum. *RNA Biol* 2019;16(1):5-12

17 Gómez-Valero A, Monguío-Tortajada M, Carreras-Planella L, *et al.* Size - Exclusion Chromatography - based isolation minimally alters Extracellular Vesicles' characteristics compared to precipitating agents. *Sci Rep* 2016;6:33641

18 Liu CY, Su CQ. Design strategies and application progress of therapeutic exosomes. *Theranostics* 2019;9(4):1015-1028

19 Mazzeo A, Beltramo E, Lopatina T, *et al.* Molecular and functional characterization of circulating extracellular vesicles from diabetic patients with and without retinopathy and healthy subjects. *Exp Eye Res* 2018;176:69-77

20 Zeng Y, Wei LJ, Lali MS, *et al.* MiR-150-5p mediates extravillous trophoblast cell migration and angiogenesis functions by regulating VEGF and MMP9. *Placenta* 2020;93:94-100

21 Chen K, Wang Q, Liu XX, *et al.* Hypoxic pancreatic cancer derived exosomal miR-30b-5p promotes tumor angiogenesis by inhibiting GJA1 expression. *Int J Biol Sci* 2022;18(3):1220-1237

22 Ucgun NI, Zeki-Fikret C, Yildirim Z. Inflammation and diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2020;26:718-721

23 Huang C, Fisher KP, Hammer SS, *et al.* Plasma exosomes contribute to microvascular damage in diabetic retinopathy by activating the classical complement pathway. *Diabetes* 2018;67(8):1639-1649

24 于荣国, 张慧, 张晓敏, 等. 糖尿病视网膜病变患者循环外泌体中炎症相关蛋白 S100A8 的表达. *中华眼底病杂志* 2021;37(1):32-39

25 Sáez 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(2):325-333

26 李丹丹, 刘戈, 邹丽鑫, 等. LncRNA HIF1A-AS1 在增生性糖尿病视网膜病变中的表达及诊断价值. *国际眼科杂志* 2022;22(7):1103-1106

27 Tokarz A, Szuścik I, Kuśnierz-Cabala B, *et al.* Extracellular vesicles participate in the transport of cytokines and angiogenic factors in diabetic patients with ocular complications. *Folia Med Cracov* 2015;55(4):35-48

28 Li XS, Wang JF, Qian HM, *et al.* Serum exosomal circular RNA expression profile and regulative role in proliferative diabetic retinopathy. *Front Genet* 2021;12:719312

29 Liu C, Ge HM, Liu BH, *et al.* Targeting pericyte-endothelial cell crosstalk by circular RNA - cPWWP2A inhibition aggravates diabetes-induced microvascular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019;116(15):7455-7464

30 Moisseiev E, Anderson JD, Oltjen S, *et al.* Protective effect of intravitreal administration of exosomes derived from mesenchymal stem cells on retinal ischemia. *Curr Eye Res* 2017;42(10):1358-1367

31 Aтиenzar-Aroca S, Serrano-Heras G, Freire Valls A, *et al.* Role of retinal pigment epithelium-derived exosomes and autophagy in new blood vessel formation. *J Cell Mol Med* 2018;22(11):5244-5256

32 Shibuya M. Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis. *J Biochem Mol Biol* 2006;39(5):469-478

33 张惟, 杨婧, 陈松, 等. 氧化应激下视网膜色素上皮细胞外泌体对视网膜色素上皮细胞血管内皮生长因子 A 及丝氨酸/苏氨酸激酶表达的影响. *中华眼底病杂志* 2017;33(1):57-61

34 Maisto R, Oltra M, Vidal-Gil L, *et al.* ARPE-19-derived VEGF-containing exosomes promote neovascularization in HUVEC: the role of the melanocortin receptor 5. *Cell Cycle* 2019;18(4):413-424

35 Proia P, Schiera G, Mineo M, *et al.* Astrocytes shed extracellular vesicles that contain fibroblast growth factor-2 and vascular endothelial growth factor. *Int J Mol Med* 2008;21(1):63-67

36 Liu Y, Yang Q, Fu HX, *et al.* Müller glia-derived exosomal miR-9-3p promotes angiogenesis by restricting sphingosine - 1 - phosphate receptor S1P1 in diabetic retinopathy. *Mol Ther Nucleic Acids* 2022;27:491-504

37 Inada M, Xu H, Takeuchi M, *et al.* Microglia increase tight-junction permeability in coordination with Müller cells under hypoxic condition in an *in vitro* model of inner blood-retinal barrier. *Exp Eye Res* 2021;205:108490

38 Zhang W, Jiang H, Kong YC. Exosomes derived from platelet-rich plasma activate YAP and promote the fibrogenic activity of Müller cells via the PI3K/Akt pathway. *Exp Eye Res* 2020;193:107973

39 Kamalden TA, Macgregor-Das AM, Kannan SM, *et al.* Exosomal microRNA - 15a transfer from the pancreas augments diabetic complications by inducing oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2017;27(13):913-930

40 Mathew B, Ravindran S, Liu XR, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles and retinal ischemia - reperfusion. *Biomaterials* 2019;197:146-160

41 Li W, Jin LY, Cui YB, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived exosomal microRNA-17-3p ameliorates inflammatory reaction and antioxidant injury of mice with diabetic retinopathy via targeting STAT1. *Int Immunopharmacol* 2021;90:107010

42 Li W, Jin L, Cui Y, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells-induced exosomal microRNA - 486 - 3p protects against diabetic retinopathy through TLR4/NF- $\kappa$ B axis repression. *J Endocrinol Invest* 2021;44(6):1193-1207