

# 间充质干细胞来源的外泌体对糖尿病视网膜病变的作用

吴斯慧, 崔彦

引用: 吴斯慧, 崔彦. 间充质干细胞来源的外泌体对糖尿病视网膜病变的作用. 国际眼科杂志, 2024, 24(6): 906-911.

作者单位: (250012) 中国山东省济南市, 山东大学齐鲁医院 山东大学附属医院

作者简介: 吴斯慧, 山东大学在读硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 崔彦, 毕业于复旦大学, 博士, 主任医师, 研究方向: 眼底病. qlcyteam@163.com

收稿日期: 2024-01-03 修回日期: 2024-04-25

## 摘要

外泌体是直径为 40-100 nm 的细胞外囊泡, 其中含有蛋白质、miRNA 等多种功能活性物质, 并经由不同途径转运至细胞内。研究证实, 外泌体能延缓糖尿病视网膜病变的病程进展, 通过不同方式, 包括直接调控和递送不同的 miRNA、长链非编码 RNA 调控细胞增殖/凋亡因子、抗氧化调控因子、炎症因子、血管内皮生长因子等水平的变化, 进而抑制高糖引起的视网膜炎症、新生血管形成、微血管损伤及血管渗漏等视网膜损伤。文章就外泌体的基本特征及其在糖尿病视网膜病变疾病中的研究进展进行系统综述。

**关键词:** 外泌体; 间充质干细胞; 炎症; 新生血管; 氧化应激; 细胞凋亡; RNA; 糖尿病视网膜病变

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2024.6.13

## Role of mesenchymal stem cell - derived exosomes in diabetic retinopathy

Wu Sihui, Cui Yan

Qilu Hospital of Shandong University; Affiliated Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China

**Correspondence to:** Cui Yan. Qilu Hospital of Shandong University; Affiliated Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China. qlcyteam@163.com

Received: 2024-01-03 Accepted: 2024-04-25

## Abstract

• Exosomes are extracellular vesicles with a diameter of 40-100 nm, which contain a variety of functionally active substances such as proteins, microRNAs, and they are transported into the cell *via* different pathways. Studies have confirmed that exosomes slow down the progression of diabetic retinopathy by modifying changes in the levels of cell proliferation/apoptosis factors, antioxidant

regulatory factors, inflammatory factors, and vascular endothelial growth factor in different ways, including direct regulation and delivery of different miRNAs, long-chained noncoding RNAs, which in turn inhibit high-glucose-induced retinal inflammation, neovascularization, microvascular damage, and vascular leakage and other retinal injuries caused by high glucose. This review summarizes the basic characteristics of exosomes and their research progress in diabetic retinopathy.

• **KEYWORDS:** exosomes; mesenchymal stem cell; inflammation; neovascularization; oxidative stress; apoptosis; RNA; diabetic retinopathy

**Citation:** Wu SH, Cui Y. Role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2024, 24(6): 906-911.

## 0 引言

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC), 是中胚层起源的基质祖细胞的成体干细胞群<sup>[1]</sup>, 存在于骨髓、脂肪、脐带等组织中<sup>[2]</sup>。已有研究数据证实 MSC 对视网膜疾病的治疗作用。Yang 等<sup>[3]</sup>将 MSC 静脉注射到链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)大鼠体内, 发现 MSC 能够减少 DR 大鼠血-视网膜屏障的渗漏。尽管 MSC 已被证实对 DR 动物模型具有治疗作用, 但将具有免疫抑制性的 MSC 移植到视网膜炎症环境后, 其可以分化成支持 CD4+ 辅助性 T 淋巴细胞发育的细胞群<sup>[4]</sup>, 加剧视网膜炎症反应。MSC 的给药方式也会对治疗效果造成影响。尽管玻璃体腔注射在眼内获得的细胞数量相对较多, 但已有研究发现这种递送手段不仅会诱导白内障的发生, 还会激活视网膜胶质细胞, 上调炎症因子表达, 引起视网膜血管损伤<sup>[5]</sup>。此外, MSC 治疗涉及的伦理问题、同种异体排斥反应、不必要的分化、血栓栓塞及致癌性等问题<sup>[6-7]</sup>未能得到良好解决, 因此, 将 MSC 从临床前模型转化到临床治疗之前, 面临的问题仍不可忽略。近年有学者提出, 旁分泌作用是 MSC 治疗的主要作用机制之一<sup>[4]</sup>。MSC 旁分泌产生的外泌体已被证实在癌症<sup>[8]</sup>、心血管疾病<sup>[9-10]</sup>、神经退行性疾病<sup>[11]</sup>、组织损伤<sup>[12]</sup>、眼部病变<sup>[13]</sup>等发生发展过程中具有重要作用。因此, 为了尽可能减少 MSC 治疗面临的问题, 研究人员逐渐聚焦于 MSC 分泌的外泌体(MSC-exosome, MSC-Exos)。

## 1 外泌体概述

1987 年, Johnstone 等<sup>[14]</sup>将发现于绵羊网织红细胞中的小囊泡<sup>[15-16]</sup>命名为“exosome (Exos)”。随着研究的深入, 已有研究发现外泌体能够传导细胞间的信号, 参与机

体的多种生理及病理过程<sup>[17]</sup>。外泌体是由细胞内吞和出芽形成的多泡体与质膜融合而成的一种细胞外囊泡<sup>[18]</sup>，内部的“货物”经由内体分选复合物和其非依赖性途径的作用分选后<sup>[18-19]</sup>，通过 Rab GTP 酶和 SNARE 蛋白的相互作用介导，融合质膜并被分泌到细胞外<sup>[20-21]</sup>。外泌体存在于各种体液中，直径约 40-100 nm，表面双层脂质结构，带有负电荷，内部包含蛋白质、核酸、脂质、抗氧化剂、生长因子等“货物”<sup>[22]</sup>，其结构特点是外泌体能够避免被吞噬、产生免疫逃逸、循环时间长、穿透深层组织、高度生物相容性<sup>[23-26]</sup>的基础。通过修饰外泌体将核酸、药物<sup>[27]</sup>等装载进外泌体内部，其表面双层脂质膜结构保护内部“货物”免受酶的降解，保持“货物”的生物效力以及完整性<sup>[28-30]</sup>。当外泌体通过不同的内化模式（如靶细胞的细胞膜直接融合、受体介导的内吞作用、巨胞饮作用和吞噬作用<sup>[31]</sup>）进入靶细胞并释放内部“货物”时，产生了基因表达和细胞功能的变化<sup>[32]</sup>，充当细胞间通讯的介质。

## 2 工程外泌体

外层保护性的双层脂质膜和小尺寸使 MSC-Exos 成为药物递送的有效载体。已有临床前实验证明外泌体可作为多种治疗应用的药物递送系统。将姜黄素包封进外泌体，可以改善姜黄素的溶解度、稳定性和抗炎特性<sup>[33]</sup>。经由外泌体包封的紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 表现出比游离 PTX 更好的抗肿瘤作用<sup>[34]</sup>。转染、电穿孔和过表达通常用于将 RNA、亲水性生物分子和蛋白质装载到 MSC-Exos 中<sup>[35]</sup>。超声、共孵育等方法可直接将药物装载到 MSC 中，随后分离出含有该药物的 MSC-Exos<sup>[32]</sup>。外泌体可以作为具有高度特异性的药物递送系统。表面蛋白修饰有助于将 MSC-Exos 靶向特异性受体细胞，提高治疗效果，同时限制不良全身效应<sup>[35]</sup>。通过共价修饰、非共价修饰和基因工程修饰外泌体表面的靶向肽，能够提高外泌体对其靶标的特异性<sup>[36-37]</sup>。此外，可以使用氧化铁纳米颗粒结合外部磁场将外泌体定位到感兴趣的位点来实现靶向性<sup>[36]</sup>。上述研究证实生物工程外泌体具有极为广泛的治疗应用范围。

## 3 MSC-Exos 与 MSC 相比治疗眼科疾病的优势

静脉注射与玻璃体腔注射 MSC 相比，前者仅极少数细胞能到达眼内，后者带来的风险包括视网膜动静脉阻塞、玻璃体出血、玻璃体混浊、增殖性玻璃体视网膜病变导致视网膜脱离、严重视力丧失等<sup>[38-39]</sup>。MSC 移植发挥作用主要源于可溶性旁分泌因子的分泌，而不是直接的细胞替代，因此注射外泌体可以显著减少 MSC 移植相关的潜在并发症；MSC-Exos 可通过抑制视网膜的氧化应激、内皮细胞功能障碍和炎症反应保护视网膜<sup>[40-41]</sup>。玻璃体还可以成为外泌体的储存库，经玻璃体腔注射后，外泌体可在玻璃体腔内缓慢释放，达到长期治疗的目的<sup>[42]</sup>。因此，MSC-Exos 是一种具有较高安全性的有效治疗手段。

## 4 MSC-Exos 在 DR 治疗中的应用

DR 是中青年人群严重视力丧失和失明的主要原因<sup>[43]</sup>，一直是研究的热点。早期 DR 由于血管通透性和阻塞性升高，导致视网膜出现微动脉瘤、出血点、棉絮斑及硬性渗出物。晚期 DR 在长期高血糖的作用下，山梨糖醇和晚期糖基化终产物积累、氧化应激、蛋白激酶 C 激活、炎

症因子及肾素-血管紧张素系统和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达上调，触发副炎症反应，导致白细胞和内皮细胞相互作用异常，持续损伤视网膜微血管<sup>[44]</sup>，视网膜组织释放促血管生成因子，刺激异常新生血管增殖<sup>[45]</sup>。Mathew 等<sup>[42,46]</sup> 研究证实玻璃体腔注射 MSC-Exos 能够被视网膜细胞吸收，显著恢复视网膜功能，缓解炎症，减少细胞凋亡。外泌体以剂量依赖性方式结合玻璃体，在玻璃体内存在长达 4 wk，因此玻璃体可以作为外泌体的储存库，提示 MSC-Exos 具有治疗视网膜疾病的潜力<sup>[42]</sup>。然而，影响体内外泌体摄取的因素很多，包括外泌体的浓度、扩散距离、细胞密度、代谢环境的 pH 值，以及外泌体首次穿过组织时遇到的细胞<sup>[47-48]</sup>，上述因素导致体内摄取外泌体可能会有区别。

**4.1 MSC-Exos 治疗 DR 的机制** 既往有临床前研究通过体内外实验探索 MSC-Exos 治疗 DR 及其相关并发症的治疗潜力。MSC-Exos 可直接调控细胞增殖调控因子、抗氧化调控因子、炎症因子、VEGF 等的变化，进而通过多个上下游靶点抑制 DR 引起的视网膜炎症、新生血管形成、微血管损伤及血管渗漏等视网膜损伤。人脐带间充质干细胞 (human umbilical cord mesenchymal stem cells, hucMSC) 来源的外泌体 (hucMSC-Exos) 可减少凋亡蛋白 Bax 的表达和提高增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigens, PCNA) 和核转录因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2) 的水平，有效降低 DR 大鼠视网膜中的丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平并提高超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 水平<sup>[49]</sup>。此外，hucMSC-Exos 可降低视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和 MDA 的水平，促进 SOD 和 NRF2 及其相关基因的表达<sup>[49]</sup>。通过这种方式，MSC-Exos 在抗氧化应激和缓解高糖环境下的视网膜细胞凋亡中起到关键作用。同时，hucMSC-Exos 可增强 RPE 细胞活性，并通过激活 AKT/PEN 途径减轻高糖引起的氧化应激<sup>[49]</sup>。神经元前体细胞表达的发育性下调蛋白 4 (neuronal precursor cell-expressed developmentally downregulated 4, NEDD4) 的高表达有助于维护视网膜的完整性和厚度，而高糖状态通常会降低 NEDD4 表达，但 hucMSC-Exos 能够逆转该现象<sup>[49]</sup>。在此过程中，NEDD4 介导的泛素化作为磷酸酯酶与张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, PTEN) 降解的主要途径之一<sup>[50]</sup>，当 hucMSC-Exos 传递的 NEDD4 与 PTEN 结合时，可增强 PTEN 的泛素修饰，从而保护视网膜免受损伤<sup>[49]</sup>。

另有研究证实向 DR 大鼠眼内递送 hucMSC-Exos 可以提高视网膜神经元的存活率，hucMSC-Exos 可将脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 带入大鼠视网膜神经元，激活 BDNF-TrkB 途径抑制神经元凋亡<sup>[51]</sup>。BDNF 在视网膜神经节细胞和 Müller 神经胶质细胞中表达<sup>[52]</sup>，作为视网膜中最丰富的神经营养因子之一，通过与受体 TrkB 结合并激活细胞外信号调节激酶和磷脂酰肌醇-3 激酶途径保护视网膜神经元<sup>[53]</sup>。体内外研究均证实，在细胞和大鼠 DR 模型中直接补充 BDNF 可以通过促进 TrkB 表达并激活 TrkB/Erk/MAPK 途径保护

高糖环境中神经元的功能<sup>[54]</sup>。

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路参与 DR 引起的炎症、微血管损伤和视网膜血管渗漏<sup>[55-56]</sup>。研究发现,在 DR 患者和 DR 模型大鼠的视网膜组织中,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路相关蛋白的表达水平升高<sup>[57-58]</sup>,具体表现为整体 Wnt/ $\beta$ -catenin 蛋白、低密度脂蛋白受体相关蛋白 6 (low-density lipoprotein receptor related protein 6, LRP6)、磷酸化 LRP6 蛋白,以及与氧化应激相关的转录标志物 NADPH 氧化酶 (NADPH oxidase, Nox) 2 和 Nox4 mRNA 的表达上调, Nox 蛋白的活性增强。同时,磷酸化的 Wnt/ $\beta$ -catenin 蛋白和抗氧化酶 SOD1、SOD2 及其相关蛋白的活性显著降低。此外,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路也可促进炎症标志物 mRNA 的表达。MSC-Exos 可有效改善这些由 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路引起的视网膜氧化应激和炎症反应<sup>[59]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的活化还可促进 VEGF 表达<sup>[60]</sup>, VEGF 是 DR 中视网膜新生血管形成和血管渗漏的关键因子,其通过破坏和降解 VE-钙黏蛋白——一种关键的內皮细胞黏附因子,加剧视网膜新生血管的形成,并破坏视网膜屏障的完整性<sup>[61]</sup>,促进血管渗漏。然而, MSC-Exos 不仅显著抑制 VEGF mRNA 表达和下调相关蛋白质活性,还增加 VE-钙黏蛋白 mRNA 的表达,有助于维持血-视网膜屏障的稳定性,从而减少新生血管形成和血管渗漏<sup>[59]</sup>。MSC-Exos 不仅通过递送细胞因子改善视网膜功能,还能降低视网膜神经节细胞和內核层对诱导型一氧化氮合酶以及 NF- $\kappa$ B p65 的免疫活性,减少神经纤维层和神经节细胞层对 VEGF 的反应,以及小胶质细胞对胶质纤维酸性蛋白的反应<sup>[59]</sup>。上述作用均有助于减轻免疫炎症反应和抑制新生血管的形成。

**4.2 MSC-Exos 递送的 RNA 治疗 DR 的机制** MSC-Exos 除了能直接参与氧化应激等通路修复高糖引起的视网膜损伤外,也能通过递送 microRNA (miRNA) 起到治疗 DR 的作用。外泌体源性 miRNA 可循环至邻近或远处的细胞并进入受体细胞发挥作用,其功能大致可分为两种:(1) 常规功能,即负向调控基因表达;(2) 作为配体与 Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 结合并激活免疫细胞,但此功能仅存在于部分外泌体源性 miRNA<sup>[62]</sup>。

miRNA 是一系列小的非编码 RNA 分子,可导致靶基因的转录后沉默,从而调节许多重要的生物过程<sup>[63]</sup>。骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC)-Exos 递送的 miR-486-3p 针对 TLR4,有效抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路,从而减少炎症因子的释放。这一机制有助于抑制高糖环境下视网膜 Müller 细胞的氧化伤害和细胞凋亡。同时, miR-486-3p 还降低了促血管生成因子如 VEGF、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 等表达,进而抑制新生血管形成<sup>[64]</sup>。

內皮中的 NF- $\kappa$ B 磷酸化可导致各种促炎基因的过表达,包括 VCAM-1、趋化因子和细胞因子<sup>[65]</sup>。miR-18b 可靶向 MAP3K1,抑制 NF- $\kappa$ B p65 磷酸化以减轻 DR 的炎症反应。玻璃体腔注射 hucMSC-Exos,观察到 miR-18b 在糖尿病大鼠视网膜中的表达显著升高,可减轻高血糖引起

的视网膜炎<sup>[66]</sup>。miR-222 作为 p27Kip1 和 p57Kip2 基因的下游靶标之一,对于调控血管平滑肌细胞的增殖具有关键作用<sup>[67]</sup>,并且可通过调节 STAT5A 蛋白的表达抑制 DR 晚期的新生血管形成<sup>[68]</sup>。Safwat 等<sup>[69]</sup>研究表明,通过 MSC-Exos 递送的 miR-222 可显著改善视网膜损伤并减少视网膜出血。此外,过表达 miR-126 的 hucMSC-Exos 可降低高糖干预的视网膜组织及內皮细胞中高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1) 表达及其下游靶蛋白 NLRP3 炎症小体、NF- $\kappa$ B p65 和半胱天冬酶-1、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 $\beta$  和 IL-18 的表达水平<sup>[70]</sup>,从而抑制 DR 发生发展过程中的炎症反应。

血清 miR-17-3p 可作为筛查 DR 的无创生物标志物<sup>[71]</sup>,参与钙稳态和葡萄糖的调节,可能参与 2 型糖尿病的发展<sup>[72]</sup>。hucMSC-Exos 通过靶向 STAT17 改变 miR-17-3p,有效改善小鼠血糖和糖化血红蛋白水平,并抑制肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA、VEGF 和 ROS 的表达,增强 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶活性,减轻 DR 的炎症反应和氧化应激损伤<sup>[73]</sup>。

此外, MSC-Exos 还可递送其他 miRNA,如 miR-192<sup>[74]</sup>、miR-133b-3p<sup>[75]</sup>等。miR-192 负调节整合素亚基 alpha 1 (integrin subunit alpha 1, ITGA1),降低炎症因子和促血管生成因子的生成,减少高糖对视网膜小胶质细胞的影响和新生血管数量。此外,过表达 ITGA1 可降低外泌体对 Müller 细胞的活化程度,并减弱其对內皮细胞 (human retinal microvascular endothelial cells, HRMEC) 血管生成的抑制作用,进一步证实了外泌体对视网膜的保护作用。miR-133b-3p 则通过抑制原纤维蛋白 1 (fibrillin 1, FBN1) 逆转高糖诱导的小鼠视网膜血管內皮细胞 (mouse retinal microvascular endothelial cells, mRMEC) 的氧化应激反应、血管生成、细胞增殖、迁移及凋亡。

除 miRNA 以外,长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 也通过多种机制影响 DR 的进展<sup>[76]</sup>,现已证实 MSC-Exos 含有许多高表达的 LncRNA,并且可能通过旁分泌机制介导疾病的进展<sup>[77-78]</sup>。LncRNA 小核 RNA 宿主基因 7 (small nuclear RNA host gene 7, SNHG7) 可通过调节 miR-543/沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 轴抑制高糖环境下视网膜血管內皮细胞增殖、迁移和血管生成<sup>[79]</sup>。既往研究表明,在內质网应激下, X-box 结合蛋白 1 (X-box binding protein 1, XBP1) 的激活可以抑制內皮细胞的炎症反应并减轻血管渗漏<sup>[80]</sup>,而 XBP1 的缺乏可诱导 Müller 细胞活化,导致 DR 中的视网膜炎<sup>[81]</sup>。此外, LncRNA SNHG7 通过结合并抑制 miR-34a-5p 起作用,而 XBP1 是 miR-34a-5p 的靶点之一,其表达下调可以抑制高糖诱导的內皮-间充质转化和新生血管形成<sup>[82]</sup>,表明 LncRNA SNHG7 可以增强高糖环境下內皮细胞的完整性并减少新生血管生成。

**4.3 修饰 MSC-Exos 递送药物治疗 DR 的作用** 2023 年, Reddy 等<sup>[27]</sup>研究通过超声和皂苷孵育等方法将贝伐珠单抗装载到 MSC-Exos 中,并将其注射进眼内,2 mo 后接受贝伐珠单抗-Exos 治疗的 DR 大鼠玻璃体内 VEGF 水平、视网膜血管渗漏及白细胞淤积程度明显低于仅接受贝伐

珠单抗注射组,表明装载贝伐珠单抗的外泌体能够延长药物的持续作用时间,并减少玻璃体内的注射频率。此外,贝伐珠单抗-Exos 组 DR 大鼠视网膜细胞死亡率始终低于单纯注射贝伐珠单抗组。该研究结果表明,经过修饰的外泌体可作为一个有效的长期药物输送系统。

**4.4 MSC-Exos 对视网膜结构与功能的影响** DR 模型玻璃体腔注射 MSC-Exos 可改善视网膜的结构及视觉功能<sup>[59]</sup>。hucMSC-Exos 可显著减少 DR 大鼠的视网膜厚度、血管扩张及迂曲,并且减少视网膜细胞排列紊乱、神经纤维层水肿,降低外核层和内核层细胞凋亡,减轻早期糖尿病引起的视网膜神经病变和血管病变<sup>[83]</sup>;hucMSC-Exos 进入玻璃体腔后,DR 大鼠视网膜电生理检查显示 a 波和 b 波振幅升高,表明 hucMSC-Exos 能有效缓解 DR 引起的视觉功能障碍,并有助于改善视力<sup>[50]</sup>。Safwat 等<sup>[69]</sup>研究表明,BMSC-Exos 对视网膜的影响因给药途径(静脉注射、结膜下注射和玻璃体腔注射)的不同而异,玻璃体腔注射能够促进兔视网膜的再生,并表现出与明确定义的视网膜结构相类似的特征,相比之下,经静脉注射后,视网膜神经节层的结构表现出不规则性,并且厚度有所增加。

## 5 MSC-Exos 临床转化面临的挑战

尽管 MSC-Exos 用于 DR 治疗已经展现了广阔的前景,然而在将其转化为临床治疗前,仍存在一些挑战。目前外泌体常用的获取方式包括超速离心、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,无论采用哪种方法,均存在外泌体纯度低、提取过程对外泌体造成的机械性损伤、产率低、天然活性状态难以保持等问题<sup>[84]</sup>,且国际上并没有公认的提取方法能够解决上述问题。外泌体进入受体细胞后的命运、器官分布的特异性以及疾病的治疗机制尚未完全清楚。外泌体分离和纯化不均匀、产量低、大规模生产方案非标准化以及临床敏感性和特异性或稳定性等性能特征暂时还未被研究透彻<sup>[85]</sup>。为了解决上述问题,国际细胞外囊泡协会等提出了具体的协调标准,即 MSC 衍生的外泌体应通过可量化的指标定义,以确定外泌体的细胞来源、脂质膜囊泡的存在以及囊泡的物理和生化完整性<sup>[86]</sup>。此外,通过生物技术或/和纳米技术等各种类型的人工修饰解决外泌体的临床敏感性和特异性或稳定性等性能。

## 6 小结和展望

MSC-Exos 在 DR 中的作用机制引起了极大关注,因为外泌体的结构特点能够减少传统 MSC 治疗的局限性及带来的挑战,其自身介导的细胞分子表达变化和内部丰富的“货物”递送对视网膜的结构和功能具有保护作用,并且已有大量研究表明 MSC-Exos 不仅能够从分子水平上直接调控靶点延缓 DR 进展,保护视网膜神经元,还能够递送内部 RNA 减轻高糖引起的视网膜新生血管形成、氧化应激、炎症反应等。通过不同方式修饰 MSC-Exos,延长药物释放时间,与单纯注射药物相比,还能进一步减轻视网膜损伤。本文阐明了 MSC 衍生外泌体的独特特征和生物学基础,同时对针对 DR 治疗机制的临床前研究进行了阐述,总结了 MSC-Exos 治疗 DR 的潜力。尽管 MSC-Exos 治疗 DR 的临床前研究中仍存在挑战和局限性,但最新的研究进展也为未来研究带来了巨大希望。随着研究的深

入,上述挑战和局限性将逐步得到解决。外泌体作为细胞间通讯的重要“桥梁”,未来将有更广阔的应用空间。

## 参考文献

- [1] Horwitz EM, le Blanc K, Dominici M, et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2005,7(5):393-395.
- [2] Ding DC, Shyu WC, Lin SZ. Mesenchymal stem cells. *Cell Transplant*, 2011,20(1):5-14.
- [3] Yang ZK, Li KH, Yan X, et al. Amelioration of diabetic retinopathy by engrafted human adipose - derived mesenchymal stem cells in streptozotocin diabetic rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2010,248(10):1415-1422.
- [4] Holan V, Palacka K, Hermankova B. Mesenchymalstem cell-based therapy for retinal degenerative diseases: experimental models and clinical trials. *Cells*, 2021,10(3):588.
- [5] Huang HP, Kolibabka M, Eshwaran R, et al. Intravitreal injection of mesenchymal stem cells evokes retinal vascular damage in rats. *FASEB J*, 2019,33(12):14668-14679.
- [6] Seyedrazizadeh SZ, Poosti S, Nazari A, et al. Extracellular vesicles derived from human ES-MSCs protect retinal ganglion cells and preserve retinal function in a rodent model of optic nerve injury. *Stem Cell Res Ther*, 2020,11(1):203.
- [7] Pan DY, Chang X, Xu MQ, et al. UMSC - derived exosomes promote retinal ganglion cells survival in a rat model of optic nerve crush. *J Chem Neuroanat*, 2019,96:134-139.
- [8] Munson P, Shukla A. Exosomes: potential in cancer diagnosis and therapy. *Medicines (Basel)*, 2015,2(4):310-327.
- [9] Khan M, Nickoloff E, Abramova T, et al. Embryonic stem cell-derived exosomes promote endogenous repair mechanisms and enhance cardiac function following myocardial infarction. *Circ Res*, 2015,117(1):52-64.
- [10] Feng YL, Huang W, Meng W, et al. Heat shock improves Sca-1+ stem cell survival and directs ischemic cardiomyocytes toward a prosurvival phenotype via exosomal transfer: a critical role for HSF1/miR-34a/HSP70 pathway. *Stem Cells*, 2014,32(2):462-472.
- [11] Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin HF, et al. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol*, 2011,29(4):341-345.
- [12] Tan CY, Lai RC, Wong W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug - induced liver injury models. *Stem Cell Res Ther*, 2014,5(3):76.
- [13] Yu B, Shao H, Su C, et al. Exosomes derived from MSCs ameliorate retinal laser injury partially by inhibition of MCP-1. *Sci Rep*, 2016,6:34562.
- [14] 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.
- [15] Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell*, 1983,33(3):967-978.
- [16] Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol*, 1983,97(2):329-339.
- [17] Li X, Corbett AL, Taatizadeh E, et al. Challenges and opportunities in exosome research - Perspectives from biology, engineering, and cancer therapy. *APL Bioeng*, 2019,3(1):011503.
- [18] 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.

[19] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018,19(4):213-228.

[20] Wu H, Turner C, Gardner J, et al. The Exo70 subunit of the exocyst is an effector for both Cdc42 and Rho3 function in polarized exocytosis. *Mol Biol Cell*, 2010,21(3):430-442.

[21] Xu M, Ji J, Jin D, et al. The biogenesis and secretion of exosomes and multivesicular bodies (MVBs): Intercellular shuttles and implications in human diseases. *Genes Dis*, 2022,10(5):1894-1907.

[22] Zhang W, Chen S, Liu ML. Pathogenic roles of microvesicles in diabetic retinopathy. *Acta Pharmacol Sin*, 2018,39(1):1-11.

[23] Yin M, Loyer X, Boulanger CM. Extracellular vesicles as new pharmacological targets to treat atherosclerosis. *Eur J Pharmacol*, 2015,763(Pt A):90-103.

[24] Deng WY, Tang TT, Hou YF, et al. Extracellular vesicles in atherosclerosis. *Clin Chim Acta*, 2019,495:109-117.

[25] Zhang Z, Mugisha A, Fransisca S, et al. Emerging role of exosomes in retinal diseases. *Front Cell Dev Biol*, 2021,9:643680.

[26] Boukouris S, Mathivanan S. Exosomes in bodily fluids are a highly stable resource of disease biomarkers. *Proteomics Clin Appl*, 2015,9(3-4):358-367.

[27] Reddy SK, Ballal AR, Shailaja S, et al. Small extracellular vesicle-loaded bevacizumab reduces the frequency of intravitreal injection required for diabetic retinopathy. *Theranostics*, 2023,13(7):2241-2255.

[28] Hung ME, Leonard JN. Stabilization of exosome-targeting peptides via engineered glycosylation. *J Biol Chem*, 2015,290(13):8166-8172.

[29] Niamprem P, Srinivas SP, Tiyafoonchai W. Penetration of Nile red-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs) across the porcine cornea. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019,176:371-378.

[30] Mohammadpour M, Hashemi H, Jabbarvand M, et al. Penetration of silicate nanoparticles into the corneal stroma and intraocular fluids. *Cornea*, 2014,33(7):738-743.

[31] McKelvey KJ, Powell KL, Ashton AW, et al. Exosomes: mechanisms of uptake. *J Circ Biomark*, 2015,4:7.

[32] Bian B, Zhao CJ, He XY, et al. Exosomes derived from neural progenitor cells preserve photoreceptors during retinal degeneration by inactivating microglia. *J Extracell Vesicles*, 2020,9(1):1748931.

[33] Sun DM, Zhuang XY, Xiang XY, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Mol Ther*, 2010,18(9):1606-1614.

[34] Kim MS, Haney MJ, Zhao YL, et al. Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 2016,12(3):655-664.

[35] Sun Y, Liu G, Zhang K, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes for drug delivery. *Stem Cell Res Ther*, 2021,12(1):561.

[36] 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(1):350.

[37] Wang J, Chen D, Ho EA. Challenges in the development and establishment of exosome-based drug delivery systems. *J Control Release*, 2021,329:894-906.

[38] Yu B, Li XR, Zhang XM. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as a new therapeutic strategy for ocular diseases. *World J Stem Cells*, 2020,12(3):178-187.

[39] Kuriyan AE, Albini TA, Townsend JH, et al. Vision loss after intravitreal injection of autologous "stem cells" for AMD. *N Engl J Med*, 2017,376(11):1047-1053.

[40] Xie LL, Mao M, Zhou L, et al. Spheroid mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cell-derived microvesicles: two potential therapeutic strategies. *Stem Cells Dev*, 2016,25(3):203-213.

[41] 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.

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

[43] Li Q, Pang L, Yang W, et al. Long non-coding RNA of myocardial infarction associated transcript (LncRNA-MIAT) promotes diabetic retinopathy by upregulating transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) signaling. *Med Sci Monit*, 2018,24:9497-9503.

[44] Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*, 2010,376(9735):124-136.

[45] Wu KY, Ahmad H, Lin G, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes in ophthalmology: a comprehensive review. *Pharmaceutics*, 2023,15(4):1167.

[46] Mathew B, Torres LA, Gamboa Acha L, et al. Uptake and distribution of administered bone marrow mesenchymal stem cell extracellular vesicles in retina. *Cells*, 2021,10(4):730.

[47] Parolini I, Federici C, Raggi C, et al. Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells. *J Biol Chem*, 2009,284(49):34211-34222.

[48] Engin A. Dark-side of exosomes. *Adv Exp Med Biol*, 2021,1275:101-131.

[49] Sun FT, Sun YT, Zhu JY, et al. Mesenchymal stem cells-derived small extracellular vesicles alleviate diabetic retinopathy by delivering NEDD4. *Stem Cell Res Ther*, 2022,13(1):293.

[50] Li QL, Bai YP, Lyle LT, et al. Mechanism of PRL2 phosphatase-mediated PTEN degradation and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020,117(34):20538-20548.

[51] Gao X, He GH, Zhang XT, et al. Protective effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes on rat retinal neurons in hyperglycemia through the brain-derived neurotrophic factor/TrkB pathway. *Int J Ophthalmol*, 2021,14(11):1683-1689.

[52] Pardue MT, Allen RS. Neuroprotective strategies for retinal disease. *Prog Retin Eye Res*, 2018,65:50-76.

[53] Almeida RD, Manadas BJ, Melo CV, et al. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways. *Cell Death Differ*, 2005,12(10):1329-1343.

[54] Liu Y, Tao LJ, Fu X, et al. BDNF protects retinal neurons from hyperglycemia through the TrkB/ERK/MAPK pathway. *Mol Med Rep*, 2013,7(6):1773-1778.

[55] Zhou T, Zhou KK, Lee K, et al. The role of lipid peroxidation products and oxidative stress in activation of the canonical wntless-type MMTV integration site (WNT) pathway in a rat model of diabetic retinopathy. *Diabetologia*, 2011,54(2):459-468.

[56] Lee K, Hu Y, Ding LX, et al. Therapeutic potential of a monoclonal antibody blocking the Wnt pathway in diabetic retinopathy. *Diabetes*, 2012,61(11):2948-2957.

[57] Lin M, Chen Y, Jin J, et al. Ischaemia-induced retinal neovascularisation and diabetic retinopathy in mice with conditional knockout of hypoxia-inducible factor-1 in retinal Müller cells. *Diabetologia*, 2011,54(6):1554-1566.

- [58] Chen Y, Hu Y, Zhou T, et al. Activation of the Wnt pathway plays a pathogenic role in diabetic retinopathy in humans and animal models. *Am J Pathol*, 2009,175(6):2676-2685.
- [59] Ebrahim N, El-Halim HEA, Helal OK, et al. Effect of bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes on diabetes-induced retinal injury: Implication of Wnt/b - catenin signaling pathway. *Biomedicine Pharmacother*, 2022,154:113554.
- [60] Zhou KK, Benyajati S, Le Y, et al. Interruption of Wnt signaling in Müller cells ameliorates ischemia-induced retinal neovascularization. *PLoS One*, 2014,9(10):e108454.
- [61] Navaratna D, McGuire PG, Menicucci G, et al. Proteolytic degradation of VE-cadherin alters the blood-retinal barrier in diabetes. *Diabetes*, 2007,56(9):2380-2387.
- [62] 朱妍, 姚牧笛, 孟祥瑞, 蒋沁. 外泌体源性 miRNA 在眼部疾病中的研究进展. *国际眼科杂志*, 2021,21(11):1887-1891.
- [63] Zuberi M, Khan I, Mir R, et al. Utility of serum miR-125b as a diagnostic and prognostic indicator and its alliance with a panel of tumor suppressor genes in epithelial ovarian cancer. *PLoS One*, 2016, 11(4):e0153902.
- [64] 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.
- [65] Li XF, Li XY, Lin J, et al. Exosomes derived from low-intensity pulsed ultrasound-treated dendritic cells suppress tumor necrosis factor-induced endothelial inflammation. *J Ultrasound Med*, 2019, 38(8):2081-2091.
- [66] Xu ZP, Tian N, Li ST, et al. Extracellular vesicles secreted from mesenchymal stem cells exert anti-apoptotic and anti-inflammatory effects via transmitting microRNA-18b in rats with diabetic retinopathy. *Int Immunopharmacol*, 2021,101(Pt B):108234.
- [67] Liu X, Cheng Y, Zhang S, et al. A necessary role of miR-221 and miR-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia. *Circ Res*, 2009,104(4):476-487.
- [68] Dentelli P, Rosso A, Orso F, et al. MicroRNA - 222 controls neovascularization by regulating signal transducer and activator of transcription 5A expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(8):1562-1568.
- [69] Safwat A, Sabry D, Ragiae A, et al. Adipose mesenchymal stem cells-derived exosomes attenuate retina degeneration of streptozotocin-induced diabetes in rabbits. *J Circ Biomark*, 2018, 7:1849454418807827.
- [70] Zhang W, Wang Y, Kong YC. Exosomes derived from mesenchymal stem cells modulate miR-126 to ameliorate hyperglycemia-induced retinal inflammation via targeting HMGB1. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019,60(1):294-303.
- [71] Shaker OG, Abdelaleem OO, Mahmoud RH, et al. Diagnostic and prognostic role of serum miR - 20b, miR - 17 - 3p, HOTAIR, and MALAT1 in diabetic retinopathy. *IUBMB Life*, 2019,71(3):310-320.
- [72] Williams A, Dougal DM, Jenkins W, et al. Serum miR-17 levels are downregulated in obese, African American women with elevated HbA1c. *J Diabetes Metab Disord*, 2019,18(1):173-179.
- [73] 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.
- [74] Gu C, Zhang HJ, Gao Y. Adipose mesenchymal stem cells - secreted extracellular vesicles containing microRNA-192 delays diabetic retinopathy by targeting ITGA1. *J Cell Physiol*, 2021, 236(7):5036-5051.
- [75] Liang GH, Qin ZL, Luo YN, et al. Exosomal microRNA-133b-3p from bone marrow mesenchymal stem cells inhibits angiogenesis and oxidative stress via FBN1 repression in diabetic retinopathy. *Gene Ther*, 2022,29(12):710-719.
- [76] Gong QY, Su GF. Roles of miRNAs and long noncoding RNAs in the progression of diabetic retinopathy. *Biosci Rep*, 2017, 37(6):BSR20171157.
- [77] Li Y, Yin ZR, Fan JS, et al. The roles of exosomal miRNAs and lncRNAs in lung diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2019,4:47.
- [78] Sun ZQ, Yang SX, Zhou QB, et al. Emerging role of exosome-derived long non-coding RNAs in tumor microenvironment. *Mol Cancer*, 2018,17(1):82.
- [79] Ke N, Pi LH, Liu Q, et al. Long noncoding RNA SNHG7 inhibits high glucose-induced human retinal endothelial cells angiogenesis by regulating miR-543/SIRT1 axis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 514(2):503-509.
- [80] Li JM, Wang JJ, Zhang SX. Preconditioning with endoplasmic reticulum stress mitigates retinal endothelial inflammation via activation of X-box binding protein 1. *J Biol Chem*, 2011,286(6):4912-4921.
- [81] Yang J, Chen C, McLaughlin T, et al. Loss of X-box binding protein 1 in Müller cells augments retinal inflammation in a mouse model of diabetes. *Diabetologia*, 2019,62(3):531-543.
- [82] Cao X, Xue LD, Di Y, et al. MSC-derived exosomal lncRNA SNHG7 suppresses endothelial - mesenchymal transition and tube formation in diabetic retinopathy via miR-34a-5p/XBP1 axis. *Life Sci*, 2021,272:119232.
- [83] Fu Y, Gao X, He GH, et al. Protective effects of umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes in a diabetic rat model through live retinal imaging. *Int J Ophthalmol*, 2021,14(12):1828-1833.
- [84] 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.
- [85] Wei WM, Ao Q, Wang XH, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: a promising biological tool in nanomedicine. *Front Pharmacol*, 2020,11:590470.
- [86] Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J Extracell Vesicles*, 2024, 13(2):e12404.