

外泌体在糖尿病视网膜膜病变诊断和治疗中的研究进展

董松果, 宋春艳, 侯小凤, 杨卫华, 王 云

引用: 董松果, 宋春艳, 侯小凤, 等. 外泌体在糖尿病视网膜膜病变诊断和治疗中的研究进展. 国际眼科杂志, 2025, 25(2): 235-241.

基金项目: 深圳市创新委基础研究项目 (No. JCYJ20210324125614039)

作者单位: (518033) 中国广东省深圳市眼科医院 深圳市眼病防治研究所

作者简介: 董松果, 男, 硕士, 助理工程师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 王云, 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 人类重大疾病生物治疗. s_ywang@126.com

收稿日期: 2024-07-24 修回日期: 2024-12-18

摘要

外泌体在各类体液中普遍存在,且含量丰富种类多样。因其特殊的结构、功能参与了细胞间通讯、物质运输、免疫调节等生命活动。越来越多的研究发现外泌体中有诊断糖尿病视网膜膜病变的标志物,也是治疗糖尿病视网膜膜病变新的突破口,具有良好的临床应用前景。文章基于外泌体的生物学功能,探究糖尿病视网膜膜病变中外泌体的诊断和治疗机制,总结外泌体在糖尿病视网膜膜病变诊断和治疗研究中的进展,实现对糖尿病视网膜膜病变更有效的临床诊断和治疗。

关键词: 外泌体; 生物学功能; 糖尿病视网膜膜病变; 诊断和治疗

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.2.10

Progress in the application of exosomes in the diagnosis and treatment of diabetic retinopathy

Dong Songguo, Song Chunyan, Hou Xiaofeng, Yang Weihua, Wang Yun

Foundation item: Basic Research Project of Shenzhen Innovation Commission (No. JCYJ20210324125614039)

Shenzhen Eye Hospital; Shenzhen Eye Institute, Shenzhen 518033, Guangdong Province, China

Correspondence to: Wang Yun. Shenzhen Eye Hospital; Shenzhen Eye Institute, Shenzhen 518033, Guangdong Province, China. s_ywang@126.com

Received: 2024-07-24 Accepted: 2024-12-18

Abstract

Exosomes are ubiquitous in all types of body fluids, exhibiting a high degree of abundance and diversity. Given their distinctive structure and function, exosomes are involved in a range of life activities, including

intercellular communication, material transport, and immune regulation. An increasing number of studies have identified exosomes as a source of diagnostic markers for diabetic retinopathy. Furthermore, exosomes represent a novel avenue for therapeutic intervention, with promising clinical applications. This paper examines the diagnostic and therapeutic mechanisms of exosomes in diabetic retinopathy, reviews the advancements in exosome-based diagnostics and therapeutics for diabetic retinopathy, and aims to enhance the precision and efficiency of clinical diagnosis and treatment of diabetic retinopathy.

• KEYWORDS: exosomes; biological function; diabetic retinopathy; diagnosis and treatment

Citation: Dong SG, Song CY, Hou XF, et al. Progress in the application of exosomes in the diagnosis and treatment of diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2025, 25(2): 235-241.

0 引言

糖尿病视网膜膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是高糖条件下引起的视网膜微血管渗漏和阻塞,导致一系列眼底病变。其涉及多个发病机制:血管机制包括血-视网膜屏障的损害、微血管渗漏和新生血管形成;神经机制表现为视网膜神经细胞的结构和功能改变,导致神经退行性病变;代谢异常如高血糖引起的氧化应激和炎症反应;表观遗传学改变影响基因表达;以及基因多态性与环境因素的共同作用。这些因素相互作用对眼底造成严重的不可逆损害,是成年人致盲性眼病之一。目前主要通过药物、激光、手术等方法进行治疗,虽然这些临床治疗有一定效果,但部分 DR 患者的视力并没有取得显著的临床改善^[1]。随着 DR 发病机制研究的日益深入,多项研究发现外泌体在 DR 发病机制及治疗中都扮演着重要角色。

外泌体 (exosome) 的生物合成始于细胞内部,当细胞膜上的膜蛋白和脂质通过内吞作用形成内体;内体随后会成熟并发展成多泡体,这是一个包含有许多小囊泡 (intraluminal vesicles, ILVs) 的膜结构;多泡体会与细胞的质膜融合,将 ILVs 释放到细胞外,这些 ILVs 就是外泌体^[2],直径约 40-160 nm,是细胞释放的天然脂质颗粒,由磷脂双分子层、跨膜运输蛋白、膜蛋白及其他标记蛋白、胆固醇等组成外壳,外壳则携带着核酸、信号分子等通过各类运输方式运输到靶标^[3],DR 患者体液中的外泌体往往携带有参与 DR 发病机制的各类生物分子及标志物,其表达水平伴随发病进程发生变化。

不同细胞来源的外泌体如间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC)、视网膜色素上皮细胞 (retinal pigmented epithelial cell, RPE) 等不同细胞类型分泌的外泌体具有独特的生物学组分和功能^[4]。特定成分

可以反映其细胞来源和功能。目前外泌体已在多种体液中
 中发现,包括血液、乳汁、尿液、唾液、脑脊液、房水、泪液
 等^[5-7]。有研究报道外泌体的释放是光感受器细胞在正
 常生理状态下处理细胞内物质的一种机制,而在病理条件
 下,如视网膜退行性疾病,这一过程可能被放大^[8]。生物
 体产生外泌体的原因与它们的多种生物学功能紧密相关,
 是细胞复杂生物学功能的一部分,它们在维持细胞内稳
 态、响应环境变化以及参与疾病过程中发挥着关键作用。

眼睛是人体拥有免疫特权的器官之一,视网膜及其毛
 细血管形成了特殊的血-眼屏障,限制了免疫细胞、血细
 胞、其他大分子物质进入眼睛,同时也限制了药物到达病
 灶,降低了治疗 DR 的效果。随着外泌体研究的深入,外
 泌体因其内源性、生物相容性和功能多样性使其作为眼病
 标志物和治疗性生物制品及治疗载体,为眼病患者带来更
 好的个性化治疗。本研究就外泌体的分离纯化、DR 的诊
 断与治疗方面进行综述。

1 外泌体分离与鉴定

从生物样品中有效分离外泌体是疾病诊断和后续治
 疗的必要和前提。外泌体具有多种物理化学特性,包括大
 小、密度、表面电荷等。这使得外泌体不易被分离、滴定和
 表征。目前外泌体的分离方法众多,超速离心法和尺寸排
 除色谱是外泌体分离的金标准,获得更高纯度、更高活性
 的外泌体新技术也在不断被开发^[9-12]。外泌体常用鉴定
 技术有:透射电子显微镜技术、纳米颗粒示踪技术、
 Western Blot、流式细胞术等。这些技术为外泌体的纯化
 和分析提供新的可能性,同时为外泌体在眼病诊断与治疗

中起着关键作用。

2 通过外泌体进行 DR 诊断的研究

DR 患者早期可能无症状,或者只造成轻微的视力问
 题,因此不易被察觉,所以通过 DR 生物标志物进行早期
 诊断非常有必要。越来越多的研究表明,外泌体可在血
 液、泪液、房水、玻璃体液等体液中稳定存在^[13-16]。外
 泌体数量和内含物会定期波动,携带的蛋白质和 RNA 等生
 物分子可以作为 DR 的生物标志物,利用日常眼病检查、
 常规体检检查的体液进行 DR 生物标志物分析,为 DR 患
 者的临床诊断和预后提供了重要的预测潜力,见表 1。

2.1 基于外泌体蛋白质的 DR 诊断 外泌体中的蛋白质组
 份可以反映出细胞的健康状况,外泌体蛋白质的分析为早
 期诊断提供了可能。血浆来源的外泌体较易获得,对血浆
 来源外泌体的研究较多。通过对血浆来源外泌体进行蛋
 白组学分析,Xiao 等^[17]发现 90 种蛋白质在 DR 中的表达
 水平有显著变化,特别是肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8
 (TNFAIP8)在增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)患者血浆
 中的外泌体表达上调,TNFAIP8 可能参与了 DR 中视网膜
 的新生血管化;Yang 等^[18]发现了 DR 组外泌体中凝血因
 子纤维蛋白原 α 亚基的表达上调,推测可能与糖尿病性
 内皮功能障碍的发病机制有关。Wang 等^[19]通过对血浆
 来源的外泌体样本进行时间序列分析和差异分析,鉴定了
 3 个与视网膜病变过程密切相关的潜在蛋白质标志物:
 LGALS3、MYH10 和 CPB2,他们可能参与了 DR 中的血管
 损伤和修复过程。Tokarz 等^[20]通过流式细胞仪计数及特
 殊标记,分析发现 CCR5 阳性外泌体的数量随着 DR 进展

表 1 外泌体进行 DR 诊断的研究

来源	类型	标志物	水平	可能参与内容	文献
血浆	蛋白质	TNFAIP8	↑	视网膜的新生血管化	[17]
血浆	蛋白质	凝血因子纤维蛋白原 α 亚基	↑	糖尿病性内皮功能障碍	[18]
血浆	蛋白质	LGALS3、MYH10 和 CPB2	↑	血管损伤和修复	[19]
血浆	蛋白质	CCR5	↑	VEGF 表达的强刺激因子	[20]
玻璃体液	蛋白质	IgLL1、TPI1、LDHA、ApoB	↑	代谢途径的改变、炎症反应、 血管生成和细胞修复等	[21-22]
	蛋白质	ApoM、FCN3、ALDOC、SAA2-4、 IGFALS、HABP2	↓		
尿液	蛋白质	连接桥粒斑珠蛋白(JUP)	↑	调节 Wnt/ β -catenin 信号通路	[23]
血浆	RNA	miR-150-5p	↓	靶向 ITGA6 与 HIF-1 α	[25-26]
	RNA	miR-21-3p	↑	调节 HIF-1 α 和 VEGF 表达	
	RNA	miR-30b-5p	↑	促进内皮细胞的迁移和管状结构形成	
	RNA	miR-431-5p	↑	促进了视网膜内皮细胞的增殖	
血浆	RNA	miRNA-3976	↑	RGC-5 细胞凋亡增加,间接减少了 NFKB1 的丰度	[28]
血清	RNA	miR26b-5p	↑	内皮功能障碍	[29]
视网膜组织	RNA	miR-30b	↑	靶向 SIRT1,促进血管生成	[30]
玻璃体液	RNA	miR-125a-5p、miR-125b-5p	↓	调节血管生成和 VEGF 信号通路	[31]
玻璃体液	RNA	miR-9-3p	↑	促进原代人视网膜内皮细胞的增殖、 迁移和管状形成	[32]
泪液	RNA	miR-145-5p、miR-214-3p、 miR-218-5p、miR-9-5p	↑	DR 的炎症和血管功能障碍	[33]
玻璃体液	RNA	lncRNA-MIAT	↑	促进病理性血管生成	[34]
血浆	RNA	lncRNA DLX6-AS1	↑	调节 p38-MAPK 信号通路	[35]备注:同时存 在才可做标志物
	RNA	lncRNA PRINS	↓	调节 TGF- β /Smad 信号通路	
玻璃体液	RNA	lncRNA LOC100132249	↑	激活 Wnt/ β -catenin 信号通路	[36-37]

而显著增加。对来源玻璃体液中分泌蛋白质进行组学分析,有研究鉴定出 758 种蛋白,其中 10 种蛋白在 PDR 组中有显著差异表达,包括 4 种上调蛋白和 6 种下调蛋白(表 1)^[21-22]。除此之外在 DR 患者的视网膜组织和尿液来源的外泌体中发现连接桥粒珠蛋白(JUP)的表达,而健康捐赠者的尿液外泌体中不含 JUP^[23],而且尿液检测作为一种非侵入性检测,更易被患者接受且收集样本更简单。

2.2 基于外泌体 RNA 的 DR 诊断 外泌体不仅在 DR 诊断中有潜力,而且外泌体已被广泛认为可以通过改变 RNA 表达谱在 DR 的发展中起作用。RNA 的表达失调可能影响病理条件,这使其成为慢性疾病的生物标志物和治疗药物输送系统的候选标志物^[24]。通过研究 DR 患者外泌体 RNA 表达谱的变化,可以为 DR 的临床诊断提供参考。

首先对于 micRNA, Mazzeo 等^[25]发现糖尿病受试者外泌体浓度是健康对照组的 2.5 倍。并鉴定了 11 种差异表达的 miRNAs,在 DR 组中 miR-150-5p 表达下调,miR-21-3p 和 miR-30b-5p 表达成倍增加。miR-21-3p 在 DR 中通过调节 HIF-1 α 和 VEGF 表达来促进血管生成,而 miR-30b-5p 则直接促进内皮细胞的迁移和管状结构形成。miR-150-5p 在 DR 患者中的表达降低,可能通过靶向 ITGA6 与 HIF-1 α ,从而在病理性血管生成中起到抑制作用^[26]。Yu 等^[27]发现 PDR 患者血浆外泌体中的 miR-431-5p 表达水平是健康对照组的 2 倍,推测 miR-431-5p 可能参与了 PDR 的发展。Tao 等在对外泌体 1 059 个 miRNA 分析中,发现了 18 个上调的外泌体 miRNA。其中 miRNA-3976 的过度表达导致 RGC-5 细胞凋亡增加,并间接减少了 NFKB1 的丰度^[28]。Zhang 等^[29]探究了与内皮功能障碍相关的 miRNA,发现糖尿病患者血清衍生的外泌体中 miR-26b-5p 略有上调。Wang 等^[30]通过 PDR 小鼠模型发现 miR-30b 在视网膜组织中表达上调,miR-30b 在外泌体中富集,外泌体可能将 miR-30b 传递给视网膜微血管内皮细胞(RMECs),发挥促进血管生成的作用。

对来自玻璃体液中的外泌体 micRNA, Agnieszka 等对外泌体 miRNA 表达谱进行了研究,发现 miR-125a-5p 和 miR-125b-5p 在 PDR 患者中的表达显著下调,可能是因为 miR-125 家族在调节血管生成和 VEGF 信号通路中起作用^[31]。Liu 等^[32]发现 PDR 患者玻璃体中的外泌体中 miR-9-3p 的表达水平升高,miR-9-3p 能促进原代人视网膜内皮细胞(hRECs)的增殖、迁移和管状形成能力。Müller 胶质细胞被认为是异常表达 miR-9-3p 的唯一来源,miR-9-3p 能够被转移到视网膜内皮细胞,并与 SIP1 的编码序列结合,激活 VEGFR2 的磷酸化和内化,表现为异常的新血管形成,在高血糖条件下加剧了血管功能障碍。对来自泪液的外泌体 miRNA, Hu 团队^[33]使用 iTEARS 系统通过少量泪液进行分析,从泪液中迅速分离出高产量和高纯度的外泌体。发现了 miR-145-5p、miR-214-3p、miR-218-5p 和 miR-9-5p 等 miRNA 的失调,它们可能参与了 DR 的炎症和血管功能障碍等。

除了 miRNA,长链非编码 RNA(lncRNA)也被认为是 DR 的潜在诊断标志物。Li 等^[34]发现来自 PDR 患者的玻璃体液中的外泌体里,lncRNA-MIAT 的表达显著增加,MIAT 在高糖诱导的人视网膜血管内皮细胞外泌体中富集,并通过与 miR-133a-3p 的相互作用,从而减少 miR-

133a-3p 对 MMP-X1 的抑制效果,促进了病理性血管生成。Ye 等^[35]从病例对照研究发现 DR 组相对 T2DM 组 lncRNA DLX6-AS1 高表达,PRINS 低表达。PRINS 可能通过调节 TGF- β /Smad 信号通路中的 Smad7 发挥作用,影响视网膜的保护效果;DLX6-AS1 可能通过调节 p38-MAPK 信号通路参与 DR 的发病,这一通路与 DR 的发生和发展相关。Hu 等^[36]通过高通量测序分析 PDR 患者玻璃体液中分泌蛋白的 RNA 表达水平,发现 lncRNA LOC100132249 在外泌体中富集,并在 PDR 患者的玻璃体液中表达上调,并能够促进 HRVECs 的增殖、迁移和管状结构形成。LOC100132249 作为 miRNA-199a-5p 的竞争性内源 RNA,通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路调节内皮-间充质转化(endothelial-mesenchymal transition, EMT)促进蛋白 SNAI1 的表达,最终导致内皮细胞功能障碍^[37]。

通过公共数据平台(KEGG、GEO、miRcode、miRDB 等)进行生物信息学分析也是生物标志物筛选的重要方法。Wang 等^[38]通过 GEO 数据库对比分析下载的数据集,通过差异筛选、功能富集分析、竞争性内源 RNA 网络功能富集分析筛选出了 DR 的生物标志物:15 个 lncRNA, 3 个 miRNAs 和 11 个 mRNAs,但这些生物标志物和治疗靶点还有待验证。虽然通过蛋白质和 RNA 进行 DR 生物标志物的筛选取得了巨大进步,但是仍然需要进一步的研究来验证它们作为生物标志物的临床有效性、特异性和敏感性。通过分析生物标志物的变化趋势,可以为患者提供及时的医疗干预,降低疾病进展风险,同时减轻患者身体和心理负担,为精准医疗和个性化治疗方案的制定提供科学依据。

3 通过外泌体进行 DR 治疗的研究

几乎所有的细胞都产生外泌体,健康状态下的干细胞、视网膜相关细胞来源的外泌体对 DR 治疗效果显著。外泌体能够作为细胞间通讯的天然载体,携带多种生物活性分子如蛋白质、脂质、RNA 等,影响受体细胞的功能;同时它们在免疫调节、组织修复、穿透生物屏障方面具有独特优势,并可作为药物递送系统,具有低免疫原性和毒性,使其在治疗疾病中展现出巨大的潜力,见表 2。截止到 2024-06,中国临床试验注册中心(<https://www.chictr.org.cn/>)和美国临床试验注册库(ClinicalTrials.gov)可检索到有关于直接利用外泌体进行疾病治疗的临床试验数量,分别是 212 项和 192 项,虽然眼科相关的临床试验较少,但是相关眼病治疗的基础研究日益增多。

3.1 基于干细胞来源外泌体对 DR 的治疗研究 越来越多的证据表明,正常生理条件下的干细胞来源的外泌体主要通过传递治疗性生物分子而发挥调节作用^[39-41]。调节各种病理变化,包括细胞增殖、凋亡、炎症反应、微循环障碍、氧化应激和细胞凋亡等^[42]。干细胞来源的外泌体一般来自人脐带 MSC、骨髓 MSC、脂肪 MSC 等。NLRP3 炎症小体在炎症性眼病中扮演关键角色,其激活可导致眼部免疫细胞的炎症反应和细胞死亡。MSC-外泌体可以通过携带免疫调节因子来抑制 NLRP3 炎症小体的激活,减少促炎细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的产生^[43],减轻 DR 症状。Chen 等^[44]发现 MSC-外泌体还可以通过递送 miR-22-3p 来抑制 NLRP3 炎症小体的激活,减少了视网膜中的炎症因子水平,从而缓解 DR。

链脲佐菌素诱导的糖尿病鼠模型玻璃体注射 hUCMSCs-外泌体研究其对 DR 治疗。Sun 等^[45]研究发现

表2 外泌体 DR 治疗的研究

来源	类型	治疗物质	可能参与内容	文献
MSC-外泌体	蛋白质	免疫调节因子 (IL-10、TGF-β、PGE2 等)	抑制 NLRP3 炎症体的激活	[43]
MSC-外泌体	RNA	miR-22-3p	抑制 NLRP3 炎症体的激活	[44]
hUCMSCs-外泌体	蛋白质	NEDD4	引起 PTEN 的泛素化和降解	[45]
hUCMSCs-外泌体	RNA	miR-5068、miR-10228	靶向 HIF-1α/EZH2/PGC-1α 信号通路	[46]
hUCMSCs-外泌体	RNA	miR-483-5p	靶向胰岛素样生长因子	[47]
hUCMSCs-外泌体	RNA	miR-17-3p	靶向 STAT1	[48]
hUCMSCs-外泌体	RNA	miR-30c-5p	靶向 PLCG1/NF-κB 途径	[49]
BMSCs-外泌体	RNA	SNHG7	通过 miR-34a-5p/XBP1 通路抑制 DR 中的 内皮-间充质转化和管状结构形成	[50]
BMSCs-外泌体	RNA	miR-483-5p	靶向胰岛素样生长因子	[51]
BMSCs-外泌体	RNA	miR-133b-3p	通过抑制 FBN1 的表达	[52]
BMSCs-外泌体	RNA	miR-129-5p	通过靶向 FZD4 来抑制 β-catenin 信号通路	[53]
hPMSCs-外泌体	蛋白质	UBA2	促进 Wnt/β-catenin 信号通路的激活	[54-55]
AT-MSC-外泌体	RNA	miRNA-192	靶向 ITGA1	[56]
视网膜星形胶质细胞-外泌体	蛋白质	内皮抑素	血管生成抑制	[58]
视网膜神经元细胞-外泌体	RNA	miR-183/96/182	调节胶质细胞的炎症反应	[59]
RPE-外泌体	RNA	miR-202-5p	靶向 TGFβR2 来调节 TGFβ 信号通路	[61]

hUCMSC-外泌体传递的 NEDD4 能够引起 PTEN 的泛素化和降解,激活 AKT 信号通路,并提高 NRF2 水平。其中 miR-5068 和 miR-10228 靶向 HIF-1α/EZH2/PGC-1α 信号通路,减少 HIF-1α 和 EZH2 的表达,并提高 PGC-1α 的水平,保护了视网膜屏障功能,减少了血管渗漏。同时使用电穿孔技术工程化改造了 hUCMSC-外泌体,可以使其含有更高水平的 miR-5068 和 miR-10228,增强视网膜修复效率^[46]。Xu 等^[47]发现 hUCMSCs-外泌体能够减少糖尿病大鼠视网膜中的血管渗漏,降低视网膜厚度和炎症。还能够抑制高糖诱导的 hRMECs 中的炎症和凋亡。外泌体 miR-18b-5p 被鉴定为通过靶向丝裂原活化蛋白激酶激酶 1 (MAP3K1),抑制 NF-κB p65 的磷酸化,从而减轻 DR 中的炎症反应。Li 等^[48]发现 hUCMSCs-外泌体通过携带 miR-17-3p 靶向 STAT1,改善了 DR 小鼠的炎症反应和氧化损伤,减少炎症因子和 VEGF 含量,减轻氧化损伤,并抑制 DR 小鼠的视网膜细胞凋亡。He 等^[49]也使用相同的模型分析了 miR-30c-5p 对 DR 中 PLCG1/NF-κB 途径的调节作用。发现 PLCG1 是 miR-30c-5p 的靶基因,miR-30c-5p 能够阻断 PKC/NF-κB 途径。

BMSCs-外泌体中的 lncRNA-SNHG7 通过 miR-34a-5p/XBP1 通路抑制 DR 中的 EMT 和管状结构形成。高糖处理的 HRMECs 细胞活力、迁移能力、管状形成能力增强,高糖环境通过影响 HRMECs 中的特定基因和蛋白表达,促进了 EndMT 和血管生成,而 SNHG7 和 miR-34a-5p/XBP1 通路在这一过程中起到了关键的调节作用。BMSCs 衍生的外泌体通过传递 SNHG7,能够通过结合 miR-34a-5p 来抑制 EndMT^[50]。Dan 等发现 BMSCs 衍生的外泌体携带 miR-483-5p 能够抑制 ARPE-19 细胞的凋亡,并通过靶向胰岛素样生长因子来调节 DR 的进展^[51]。BMSCs 来源的外泌体中的 miR-133b-3p 通过抑制 FBN1 的表达来抑制 DR 中的血管生成和氧化应激^[52]。

Wnt/β-catenin 通路是 DR 中的重要通路之一, BMSCs-外泌体 miR-129-5p 能够阻断此信号通路,可能

通过靶向 FZD4 来抑制 β-catenin 信号通路,从而在 DR 中发挥作用^[53]。hPMSCs-外泌体通过携带 UBA2,促进了此信号通路的激活,在低氧条件下对视网膜前体细胞的保护,能够显著恢复因 CoCl₂ 诱导的低氧损伤而受损细胞的增殖能力,并上调与神经再生相关的蛋白表达,同时减少了 DR 的特征,包括视网膜氧化剂的下调、抗氧化酶的上调、视网膜炎症和血管生成标记的抑制^[54-55]。

AT-MSC 来源的 miRNA-192 通过靶向 ITGA1 来延缓 DR 的发展。能够减轻 hRMECs 的炎症反应和血管生成,外泌体处理还降低了 Müller 细胞的激活,抑制了高糖诱导的 RPE 细胞的凋亡。miR-192 对 DR 中的不同视网膜细胞具有保护作用,减轻炎症、血管生成和细胞凋亡^[56]。

3.2 基于视网膜相关细胞来源外泌体对 DR 的治疗研究

在脊椎动物视网膜中,胶质细胞分为小胶质细胞和大胶质细胞(Müller 细胞和星形胶质细胞)。Müller 细胞是视网膜内主要的胶质细胞,占比约 90%。小胶质细胞作为抗原呈递细胞,主要参与炎症反应,维持视网膜微环境稳态作用,激活的 Müller 细胞参与视网膜损伤及修复过程。

小胶质细胞是视网膜中重要的内在免疫细胞。体内和体外实验表明,由 M2 极化的小胶质细胞衍生的外泌体可以减少周细胞凋亡,促进内皮细胞增殖,从而促进糖尿病视网膜的血管重构,减少糖尿病视网膜的血管渗漏^[57]。Shao 团队通过 ELISA、Western blot、免疫组化和人血管生成因子定量抗体芯片等技术检测外泌体中的特定成分,发现视网膜星形胶质细胞来源的外泌体中含有多种内源性血管生成抑制因子,如内皮抑素等。使用激光诱导的 CNV 模型来评估外泌体对脉络膜新生血管的抑制作用,发现视网膜星形胶质细胞来源的外泌体能够有效抑制激光诱导的脉络膜新生血管化,减少巨噬细胞的迁移,并直接作用于血管内皮细胞,但是 RPE 来源的外泌体在抑制 CNV 方面的效果不显著,可能与它们携带的分子成分有关,这对治疗新生血管性眼病过程中选择合适来源的外泌体提供参考价值^[58]。Riccardo 等通过多组学整合分析,揭

示了在神经退行性疾病中,神经元通过外泌体与胶质细胞协调反应的新机制。研究发现,在小鼠视网膜这一中枢神经系统组织中,神经元产生的 miRNA 可以通过细胞外囊泡传递给胶质细胞,进而特异性地调节胶质细胞的炎症反应。研究团队确定了一组 miRNA (miR-183/96/182),它们在光感受器与 Müller 胶质细胞间的退行性变化中起到关键作用^[59]。同时在小鼠视网膜损伤模型中,发现外泌体可以促使 Müller 细胞中与细胞的再生潜能相关多能性基因表达^[60]。Gu 等^[61]发现 RPE 在 DR 中也发挥作用。高糖条件下处理的 ARPE-19 细胞释放的外泌体中含有较高水平的 miR-202-5p,这种 miRNA 能够通过靶向 TGF β R2 来调节 TGF β 信号通路,从而抑制内皮细胞的 EMT。在 DR 中发现外泌体可以通过激活经典补体途径来促进微血管损伤。外泌体通过携带 IgG 激活经典补体途径,引发补体级联反应,最终导致微血管的损伤和病变。这一过程强调了补体系统在 DR 病理机制中的重要性,并提示了通过抑制补体激活来治疗 DR 的可能性^[62]。同时,还需要考虑外泌体剂量的使用,Saray 等通过非色素性睫状上皮细胞衍生的外泌体对眼内正常房水引流组织细胞中 Wnt 信号通路的剂量依赖性影响进行了探究,发现不同浓度的外泌体对房水引流组织细胞中的 β -Catenin、GSK-3 β 蛋白表达、mRNA 水平以及基质金属蛋白酶 (MMPs) 活性有不同的影响^[63],这也提醒我们后续使用外泌体进行实验或者治疗眼病的时候需要考虑多种影响外泌体效果的因素(剂量、浓度、来源细胞等)。

3.3 外泌体递药系统在 DR 治疗中的应用研究 外泌体不但可以直接或间接对 DR 起作用,而且还可以通过外泌体进行药物装载缓释药效起治疗作用。外泌体以其生物相容性、天然靶向性及良好的生物屏障渗透性等优点被用来进行药物递送,通过物理方法、化学方法、生物方法等对外泌体进行修饰,这些修饰手段使外泌体能够更高效地作为药物载体,提高药物的生物利用度和治疗效果,同时减少潜在的副作用。

Shivakumar 等将贝伐珠单抗装载到 MSC-Exos 中并进行注射,发现 DR 模型实验鼠的视网膜 VEGF 水平降低,血管渗漏和白细胞黏附减少,且这些效果持续时间超过 2 mo,远长于单独用药时间 1 mo^[64]。外泌体作为药物载体可以减少治疗 DR 所需的注射频率,提供持续的治疗效果,并可能减少与频繁注射相关的并发症。Dong 等^[65]通过使用锚定肽 (CP05) 将抗血管生成肽 (KV11) 连接到内皮细胞衍生的外泌体上,形成 EXOKV11。发现 EXOKV11 通过视网膜下注射更有效地传递到 DR 模型鼠视网膜血管,EXOKV11 比单独的 KV11 更有效地抑制新生血管形成和血管泄漏。外泌体直接给药可能会降低其功效,或迁移到其他组织,不同器官治疗的分泌递送可能需要使用不同的递送系统和基础^[66]。因此,眼病治疗可能需要一个控制和局部传递系统来提高外泌体在目标组织中的保留和功效^[67]。探究外泌体在眼部组织的扩散路径、分布情况等有利于理解外泌体的递送行为,并为未来的临床应用提供科学依据。Mathew 团队^[68]将骨髓 MSC-外泌体进行荧光标记后,在活体大鼠玻璃体内注射,1 d 后在玻璃体中荧光强度达到峰值,在大约 2.5 d 后从玻璃体中被清除,7 d 后小胶质细胞荧光强度达到峰值,14 d 后视网膜神经节细胞荧光强度达到峰值并于 28 d 后不再可见。通过玻璃体注射外泌体,可以绕过血液供应限制、扩散障碍和免

疫系统的清除,在视网膜疾病的治疗中有显著优势。

4 小结

通过外泌体对 DR 进行诊断与治疗的研究已经取得了显著进展,在诊断方面,外泌体的特定生物标志物可以作为液体活检的潜在指标,有助于早期识别和监测 DR 的进展。治疗上,外泌体通过携带特定的生物分子,能够直接或间接地影响其发病机制;同时外泌体作为药物递送系统显示出巨大潜力,能够将治疗性分子靶向递送到病变部位,减少免疫清除并提高治疗效率。同时,伴随着各种新技术的开发(外泌体的磁分选技术、外泌体的基因编辑技术等),外泌体在联合新技术治疗疾病方面有着巨大潜力,利用外泌体的异质性和功能性研究为开发个性化治疗方案提供新思路。

然而外泌体在临床转化中面临的挑战主要包括稳定性、靶向性和安全性。外泌体在临床应用中面临许多挑战,包括稳定性、靶向性和安全性等问题。外泌体在体内的循环稳定性是其作为药物递送载体的重要优势。其稳定性又受到储存条件、时间、温度和 pH 值等因素的影响。需要探索不同的储存介质和条件,通过化学修饰也可增强外泌体的稳定性。外泌体的自然靶向性是通过其表面的配体与特定细胞受体的相互作用实现的,为了提高靶向性,目前通过工程化方法对外泌体进行修饰,以实现更精确的靶向。外泌体的安全性包括其生物相容性和免疫原性。由于外泌体是细胞自然分泌,它们通常具有良好的生物相容性。然而,其免疫原性可能会因为其携带的蛋白质或核酸分子而变化。为了降低免疫原性,需要使用匹配的外泌体,以及通过清除外泌体中的免疫原性分子来减少免疫反应。外泌体在 DR 治疗中的应用前景依然广阔,已有的研究进展为未来开发新的治疗策略和药物提供了坚实的基础,未来的研究将继续探索其在疾病治疗中的潜力,以及如何克服现有挑战,实现临床转化。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 董松果论文选题与修改,初稿撰写;宋春艳、侯小凤、杨卫华文献检索,数据分析;王云选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments. *Int J Mol Sci*, 2018,19(6):1816.
- [2] Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol*, 2013,200(4):373-383.
- [3] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020,367(6478):eaau6977.
- [4] 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.
- [5] Yang QW, Diamond MP, Al-Hendy A. The emerging role of extracellular vesicle-derived miRNAs: implication in cancer progression and stem cell related diseases. *J Clin Epigenet*, 2016,2(1):13.
- [6] Samanta S, Rajasingh S, Drosos N, et al. Exosomes: new molecular targets of diseases. *Acta Pharmacol Sin*, 2018,39(4):501-513.
- [7] 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.
- [8] Lewis TR, Phan S, Kim KY, et al. Microvesicle release from inner segments of healthy photoreceptors is a conserved phenomenon in mammalian species. *Dis Model Mech*, 2022,15(12):dmm049871.

- [9] Moleirinho MG, Silva RJS, Alves PM, et al. Current challenges in biotherapeutic particles manufacturing. *Expert Opin Biol Ther*, 2020,20(5):451-465.
- [10] Du J, Yuan C, Wang WJ, et al. Aptasensor-enabled quantitative analysis of nano-sized extracellular vesicles by flow cytometry. *Analyst*, 2020,145(23):7551-7558.
- [11] Zeng L, Hu S, Chen X, et al. Extraction of small extracellular vesicles by label-free and biocompatible on-chip magnetic separation. *Lab Chip*, 2022,22(13):2476-2488.
- [12] Pan YJ, Chen TC, Zhang QW, et al. Highly selective purification of plasma extracellular vesicles using titanium dioxide microparticles for depicting the metabolic signatures of diabetic retinopathy. *Anal Chem*, 2022,94(41):14099-14108.
- [13] Mori K, Hirase M, Morishige T, et al. A pretreatment-free, polymer-based platform prepared by molecular imprinting and post-imprinting modifications for sensing intact exosomes. *Angew Chem Int Ed*, 2019,58(6):1612-1615.
- [14] Katome T, Namekata K, Mitamura Y, et al. Expression of intraocular peroxisome proliferator-activated receptor gamma in patients with proliferative diabetic retinopathy. *J Diabetes Complications*, 2015,29(2):275-281.
- [15] Klingeborn M, Skiba NP, Stamer WD, et al. Isolation of retinal exosome biomarkers from blood by targeted immunocapture. *Adv Exp Med Biol*, 2019,1185:21-25.
- [16] Dismuke WM, Challa P, Navarro I, et al. Human aqueous humor exosomes. *Exp Eye Res*, 2015,132:73-77.
- [17] Xiao J, Zhang H, Yang FH, et al. Proteomic analysis of plasma sEVs reveals that TNFAIP8 is a new biomarker of cell proliferation in diabetic retinopathy. *J Proteome Res*, 2021,20(3):1770-1782.
- [18] Yang J, Liu DW, Liu ZS. Integration of metabolomics and proteomics in exploring the endothelial dysfunction mechanism induced by serum exosomes from diabetic retinopathy and diabetic nephropathy patients. *Front Endocrinol*, 2022,13:830466.
- [19] Wang SY, Xia KF, Zhu XX, et al. Separation of high-purity plasma extracellular vesicles for investigating proteomic signatures in diabetic retinopathy. *J Chromatogr A*, 2024,1718:464700.
- [20] Tokarz A, Konkolewska M, Kuśnierz-Cabala B, et al. Retinopathy severity correlates with RANTES concentrations and CCR 5-positive microvesicles in diabetes. *Folia Med Cracov*, 2019,59(3):95-112.
- [21] Wang JW, Wang ZZ, Zhang Y, et al. Proteomic analysis of vitreal exosomes in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Eye*, 2023,37(10):2061-2068.
- [22] Gandhi J, Sushma MV, Rengan AK, et al. Proteomic profiling of exosomes in a mouse model of *Candida albicans* endophthalmitis. *Exp Cell Res*, 2022,417(2):113222.
- [23] Mighty J, Rubio-Navarro A, Shi C, et al. Extracellular vesicles of human diabetic retinopathy retinal tissue and urine of diabetic retinopathy patients are enriched for the junction plakoglobin protein. *Front Endocrinol*, 2022,13:1077644.
- [24] Martins B, Amorim M, Reis F, et al. Extracellular vesicles and microRNA: putative role in diagnosis and treatment of diabetic retinopathy. *Antioxidants*, 2020,9(8):705.
- [25] 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.
- [26] Mazzeo A, Lopatina T, Gai C, et al. Functional analysis of miR-21-3p, miR-30b-5p and miR-150-5p shuttled by extracellular vesicles from diabetic subjects reveals their association with diabetic retinopathy. *Exp Eye Res*, 2019,184:56-63.
- [27] Yu B, Xiao MR, Yang FH, et al. MicroRNA - 431 - 5p encapsulated in serum extracellular vesicles as a biomarker for proliferative diabetic retinopathy. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021,135:105975.
- [28] Yang ST, Zhang JY, Zeng TS, et al. Role of circulating exosomal miRNA-3976 in early diabetic retinopathy. *Int J Nanomedicine*, 2023,18:3695-3709.
- [29] Zhang YR, Wei J, Zhang L, et al. Extracellular vesicle-derived miR-26b-5p is up-regulated in the serum of patients with diabetic retinopathy. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2022,25(5):877-882.
- [30] Wang P, Li CQ, Deng YJ, et al. Effect of plasma-derived extracellular vesicles on angiogenesis and the ensuing proliferative diabetic retinopathy through a miR-30b-dependent mechanism. *Diabetol Metab Syndr*, 2022,14(1):188.
- [31] Kot A, Kaczmarek R. Exosomal miRNA profiling in vitreous humor in proliferative diabetic retinopathy. *Cells*, 2022,12(1):123.
- [32] 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.
- [33] Hu L, Zhang T, Ma HX, et al. Discovering the secret of diseases by incorporated tear exosomes analysis *via* rapid-isolation system: iTEARS. *ACS Nano*, 2022,16(8):11720-11732.
- [34] Li XS, Cao QC, Xu CL, et al. Exosomal lncRNA-MIAT promotes neovascularization *via* the miR-133a-3p/MMP-X1 axis in diabetic retinopathy. *Exp Eye Res*, 2024,243:109912.
- [35] Ye QQ, Li L, Shao ZJ, et al. Association between lncRNAs in plasma exosomes and diabetic retinopathy. *Front Endocrinol*, 2022,13:987488.
- [36] Hu ZZ, Wang JF, Pan T, et al. The exosome-transmitted lncRNA LOC100132249 induces endothelial dysfunction in diabetic retinopathy. *Diabetes*, 2023,72(9):1307-1319.
- [37] Li X, Wang J, Qian H, et al. Serum exosomal circular RNA expression profile and regulative role in proliferative diabetic retinopathy. *Front Genet*, 2021,12:719312.
- [38] Wang T, Cheng MY, Shan MY, et al. Construction of a competitive endogenous RNA network related to exosomes in diabetic retinopathy. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2023,26(3):576-588.
- [39] Niu SR, Hu JM, Lin S, et al. Research progress on exosomes/microRNAs in the treatment of diabetic retinopathy. *Front Endocrinol*, 2022,13:935244.
- [40] Beltramo E, Lopatina T, Berrone E, et al. Extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells induce features of diabetic retinopathy *in vitro*. *Acta Diabetol*, 2014,51(6):1055-1064.
- [41] Mazzeo A, Beltramo E, Iavello A, et al. Molecular mechanisms of extracellular vesicle-induced vessel destabilization in diabetic retinopathy. *Acta Diabetol*, 2015,52(6):1113-1119.
- [42] Kim H, Goh YS, Park SE, et al. Preventive effects of exosome-rich conditioned medium from amniotic membrane-derived mesenchymal stem cells for diabetic retinopathy in rats. *Transl Vis Sci Technol*, 2023,12(8):18.
- [43] Harrell CR, Djonov V, Antonijevic A, et al. NLRP3 inflammasome as a potentially new therapeutic target of mesenchymal stem cells and their exosomes in the treatment of inflammatory eye diseases. *Cells*, 2023,12(18):2327.
- [44] Chen YQ, Yao GH, Tong J, et al. MSC-derived small

extracellular vesicles alleviate diabetic retinopathy by delivering miR-22-3p to inhibit NLRP3 inflammasome activation. *Stem Cells*, 2024,42(1):64-75.

[45] 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.

[46] Sun FT, Sun YT, Wang XL, et al. Engineered mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles for diabetic retinopathy therapy through HIF-1 α /EZH2/PGC-1 α pathway. *Bioact Mater*, 2024, 33:444-459.

[47] 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.

[48] 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.

[49] He Y, Zhang ZR, Yao TY, et al. Extracellular vesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells relieves diabetic retinopathy through a microRNA-30c-5p-dependent mechanism. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022,190:109861.

[50] 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.

[51] Cao D, Zhou L, Hu R. Exosomes derived from BMSCs alleviates high glucose-induced diabetic retinopathy *via* carrying miR-483-5p. *J Biochem Mol Toxicol*, 2024,38(1):e23616.

[52] 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.

[53] 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.

[54] Koh K, Park M, Bae ES, et al. UBA2 activates Wnt/ β -catenin signaling pathway during protection of R28 retinal precursor cells from hypoxia by extracellular vesicles derived from placental mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*, 2020,11(1):428.

[55] Fabfola Singaretti De Oliveira, Abuna RPF, Oliveira FS, et al. The Wnt/ β -catenin signaling pathway is regulated by titanium with nanotopography to induce osteoblast differentiation. *Colloids and surfaces*

B: *Biointerfaces*, 2019, 184:110513.

[56] 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.

[57] Wang XX, Xu CL, Bian CX, et al. M2 microglia-derived exosomes promote vascular remodeling in diabetic retinopathy. *J Nanobiotechnology*, 2024,22(1):56.

[58] Hajrasouliha AR, Jiang GM, Lu QX, et al. Exosomes from retinal astrocytes contain antiangiogenic components that inhibit laser-induced choroidal neovascularization. *J Biol Chem*, 2013, 288(39):28058-28067.

[59] Cioanca AV, Wooff Y, Aggio-Bruce R, et al. Multiomic integration reveals neuronal-extracellular vesicle coordination of gliotic responses in degeneration. *J Extracell Vesicles*, 2023,12(12):e12393.

[60] Carapia AK, Martinez-Colin EJ, Segura-Villalobos D, et al. Müller Glia to Müller Glia extracellular vesicle-dependent signaling induces multipotency genes Nestin and lin28 expression in response to N-methyl-D-aspartate (NMDA) exposure. *ASN Neuro*, 2023, 15:17590914231183272.

[61] Gu S, Liu YX, Zou J, et al. Retinal pigment epithelial cells secrete miR-202-5p-containing exosomes to protect against proliferative diabetic retinopathy. *Exp Eye Res*, 2020,201:108271.

[62] 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.

[63] Tabak S, Schreiber-Avissar S, Beit-Yannai E. Extracellular vesicles have variable dose-dependent effects on cultured draining cells in the eye. *J Cell Mol Med*, 2018,22(3):1992-2000.

[64] 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.

[65] Dong X, Lei Y, Yu ZY, et al. Exosome-mediated delivery of an anti-angiogenic peptide inhibits pathological retinal angiogenesis. *Theranostics*, 2021,11(11):5107-5126.

[66] Umar AK. Stem cell's secretome delivery systems. *Adv Pharm Bull*, 2023,13(2):244-258.

[67] Leung KS, Shirazi S, Cooper LF, et al. Biomaterials and extracellular vesicle delivery: current status, applications and challenges. *Cells*, 2022,11(18):2851.

[68] 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.