

外泌体在糖尿病视网膜病变中的研究进展

张慧 综述 张晓敏 李筱荣 审校

天津医科大学眼科医院 天津医科大学眼视光学院 天津医科大学眼科研究所 天津市视网膜功能与疾病重点实验室 天津市眼科学与视觉科学国际联合研究中心 300384

通信作者:李筱荣,Email:xiaorli@163.com

【摘要】 外泌体是由细胞分泌的小细胞外囊泡,携带许多生物分子,例如 mRNA、微小 RNA、蛋白质和转录因子等。外泌体在生理过程中发挥介导细胞间通讯的功能;在病理状态下,可以介导内皮细胞损伤、血管炎症和血-视网膜屏障(BRB)功能障碍等病理过程,在糖尿病视网膜病变(DR)的进展中发挥重要作用。循环外泌体来源广泛,与眼部及全身的基础代谢状态密切相关,其内容物含有大量生物学信息,可作为 DR 早期诊断标志物的来源;糖尿病状态下,循环外泌体参与运输炎症因子和血管生成因子,通过激活内皮细胞进而破坏 BRB,可能作为 DR 新的治疗靶点;眼内各种细胞通过分泌外泌体的方式调节细胞增生和血管生成,视网膜色素上皮细胞来源的外泌体可在体外促进血管生成,有助于揭示 DR 新生血管病变机制。本文对外泌体在 DR 的发病、诊断和治疗等方面的研究进展进行综述,为深入理解 DR 的发病机制和诊治提供全新的思路。

【关键词】 糖尿病视网膜病变;外泌体;血管;炎症;治疗;综述

基金项目: 国家自然科学基金项目(81870675);天津市教委科研计划项目(2019ZD030)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200424-00285

Research progress of exosomes in diabetic retinopathy

Zhang Hui, Zhang Xiaomin, Li Xiaorong

Tianjin Key Laboratory of Retinal Functions and Diseases, Tianjin International Joint Research and Development Centre of Ophthalmology and Vision Science, Eye Institute and School of Optometry, Tianjin Medical University Eye Hospital, Tianjin 300384, China

Corresponding author: Li Xiaorong, Email: xiaorli@163.com

[Abstract] Exosomes are small extracellular vesicles secreted by cells and carry many biological molecules, such as mRNA, microRNA, proteins, and transcription factors. Exosomes play a role in mediating intercellular communication in normal physiological processes. In the pathological state, they can mediate pathological processes, such as endothelial cell damage, vascular inflammation, and blood-retinal barrier (BRB) dysfunction. Exosomes play an important role in the progress of diabetic retinopathy (DR). With a wide range of sources, circulating exosomes are closely related to the basic metabolic state of the eye and the body. They have many biological information and can be used as a source of early diagnosis markers for DR. In the diabetic state, circulating exosomes are involved in the transport of inflammatory factors and angiogenic factors, which activates endothelial cells and thereby destroys the BRB. Exosomes might be a new therapeutic target for DR. Eye-derived cells are involved in cell proliferation and angiogenesis by secreting exosomes. Retinal pigment epithelial cell-derived exosomes can promote angiogenesis *in vitro*, helping to reveal the mechanism of DR neovascularization. This article reviews the relationship between exosomes and DR diagnosis, pathogenesis, and treatment, which may provide a new insight into the pathogenesis and treatment strategy of DR.

[Key words] Diabetic retinopathy; Exosomes; Vascular; Inflammation; Treatment; Review

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81870675); The Science & Technology Development Fund of Tianjin Education Commission for Higher Education (2019ZD030)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200424-00285

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病的常见并发症,是由长期慢性高血糖引起的视网膜微循环障碍,晚期可发展为增生性 DR(proliferative diabetic retinopathy, PDR),

常伴有增生性新生血管等严重并发症,如玻璃体积血和牵拉性视网膜脱离,可导致不可逆的视力丧失^[1]。目前 DR 的发病机制尚未完全明确,内皮细胞功能障碍导致血管闭塞、血管渗漏

等微血管异常引起了视网膜功能障碍;血管炎性细胞浸润及促炎因子累积等慢性炎症反应加剧了 DR 的发生和进展^[2]。目前针对 DR 的治疗方式主要为激光光凝、抗血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物和玻璃体切割术,但其可能造成神经损伤和视网膜萎缩等并发症^[3]。因此进一步探索 DR 发病机制及开发新的治疗方法至关重要。外泌体是由活细胞分泌的细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)之一,直径多分布在 30~150 nm,含有蛋白质、mRNA 和微小 RNA(microRNA, miRNA)等物质。起初外泌体被认为是细胞的“尘埃”,在过去的几十年中,越来越多的证据表明其可能参与细胞间通讯,调节炎症反应、血管生成和促凝过程^[4],在眼科疾病的诊断和治疗中发挥重要作用^[5]。液体中外泌体数量和组成的变化可能反映了 DR 的病理状态,本文就近年来外泌体在 DR 中的研究进展进行综述。

1 外泌体的生物特性

1.1 外泌体的形成

外泌体是由细胞膜 2 次内陷,经加工后释放的纳米级囊泡;细胞膜第 1 次内陷形成中空的内涵体,内涵体接收并加工来自细胞核、高尔基体和内质网的成分^[6],包括蛋白质、RNA、脂质、小分子等,形成含有多个小囊泡的多囊泡体。一部分多囊泡体可与溶酶体或自噬小体融合而被降解;另一部分多囊泡体通过细胞骨架和微管网络运输到质膜,通过膜融合胞吐作用将腔内小囊泡运输到细胞外,这些小囊泡被称为外泌体^[7]。外泌体的形成过程与许多蛋白质相关,包括 Ras 相关蛋白 GTPase Rab、分选转运复合体以及其他可作为外泌体标志物的蛋白质,如四跨膜蛋白超家族蛋白(CD9、CD81、CD63)和 Alix 等。人体内绝大多数细胞都可以分泌外泌体,如内皮细胞、单核细胞、淋巴细胞、白细胞和干细胞等^[8],因此外泌体分布十分广泛,目前,已从血浆、尿液、唾液、泪液、玻璃体等体液中成功分离得到外泌体^[9]。

1.2 外泌体的分离与检测

外泌体存在于各种体液及细胞培养基上清液中,合适的分离方法有助于下游实验的开展。常见的外泌体分离方法有超速离心、密度梯度离心、化学沉淀、免疫亲和捕获及尺寸排阻等。目前,传统超速离心法是分离外泌体的金标准^[10],其原理为不同大小的囊泡沉降系数不同,产量较高,应用广泛。密度梯度离心是一种更严格的离心方法,各种细胞外囊泡因密度不同分布在介质的不同层面,纯度较高,但产量较低。化学沉淀法操作较为简单,原理为蛋白质聚沉作用,但纯度较低,沉淀物中常混有大分子蛋白。免疫亲和捕获法是根据抗原抗体反应原理捕获外泌体表面的标志物,该方法获得的外泌体纯度高但活性较低。尺寸排阻法是利用囊泡的不同直径进行梯度洗脱,适合从高度复杂的体液中获得外泌体,且获得的外泌体具有较高的生物活性^[11]。尽管方法众多,仍没有一种方法可以同时保证产量、纯度与活性。以上方法可以在同一实验中根据实验需求同时使用,以便获得更严谨的实验结果。

外泌体的纯度至关重要,可以从多个角度进行鉴定。透射

电子显微镜是观察外泌体的直接方式,在电子显微镜下可以直观地看到外泌体的盘状结构。粒径检测是对所获得的外泌体直径进行统计,一定程度上反映样品的纯度,常采取的方法有动态光散射法和纳米颗粒跟踪分析技术。另外,外泌体表面有 CD63、CD9 和 CD81 等标志蛋白以及 CD31、CD4 和 CD144 等黏附分子,可以通过 Western blot 法和流式细胞技术定量检测外泌体^[10]。

1.3 外泌体与靶细胞的作用方式

外泌体表面的双层脂质膜可保护其内容物不被降解。外泌体可通过体液循环到达靶细胞,实现远距离的细胞间信号交流。外泌体和受体细胞存在多种结合方式,如配体-受体结合、与质膜直接融合或被受体细胞直接摄取^[12]。外泌体表面特异性配体与靶细胞受体的相互作用可导致细胞内信号通路的激活。外泌体的摄取可通过吞噬作用、胞饮作用、脂质筏介导的内吞作用、氯氰菊酯依赖性或独立的内吞作用等内吞途径实现^[12]。

2 循环外泌体在 DR 中的研究进展

2.1 循环外泌体作为血管损伤的标志物

血浆和血清等血液成分是鉴定眼科疾病外泌体生物标志物的理想来源,相较于房水和玻璃体等眼内容物,血液的获取过程相对无创,糖尿病患者更容易接受,且获得的起始量大,方便分离提取外泌体。以往研究表明糖尿病患者血浆中存在大量外泌体,通过转运促血管生成因子加重 DR 进展^[13]。糖尿病模型鼠和糖尿病患者血液中外泌体含量高于正常对照组^[14]。外泌体数量的增加反映了糖尿病状态下细胞分泌活动增强,与微血管并发症进展相关。Mazzeo 等^[15]进一步分析了伴有或不伴有 DR 的糖尿病患者与健康对照人群血浆 EVs(含外泌体)的 miRNA 表达谱,并通过荧光定量 PCR 确认了其中 miR-150-5p、miR-21-3p 和 miR-30b-5p 的表达升高,可作为 DR 的生物标志物。同时,DR 患者的血浆 EVs(含外泌体)可引起周细胞脱离和周细胞及内皮细胞迁移,增加了周细胞和内皮细胞的通透性并形成了血管样结构。另一方面,外泌体中的蛋白质也可反映内皮细胞功能。据报道,精氨酸酶 1(arginase, Arg1)与糖尿病诱导的内皮细胞衰老有关^[16]。Zhang 等^[17]对糖尿病小鼠血清外泌体进行蛋白质组学分析发现其 Arg1 含量增加,经内皮细胞摄取后可抑制一氧化氮生成,从而促进了糖尿病相关血管内皮功能损伤。以上结果均表明,循环外泌体的数量及内容物,如 miRNA 和蛋白质等可以随 DR 进展而发生特定变化,具有较高的特异性和敏感性,是理想的生物标志物。随着分离技术的进步以及二代测序、蛋白质组学的发展,血浆外泌体将成为极具潜力的生物标志物来源。

2.2 循环外泌体参与血管炎症反应

补体系统的激活和血管炎症反应可破坏正常的血-脑屏障和血-视网膜屏障(blood-retina barrier, BRB),外泌体在此病理过程中发挥重要作用。Tokarz 等^[13]对比了糖尿病患者血浆外泌体与无外泌体血浆的细胞因子及炎症因子水平,结果表明糖尿病患者循环外泌体中含有大量细胞因子和血管生成因子,为循环外泌体参与运送炎症因子从而促进血管生成提供证据。

另外,糖尿病患者视网膜中的补体蛋白沉积可能与 DR 的发病有关。Huang 等^[14]证实 DR 患者血浆外泌体携带的补体数量增加,经血液循环可到达视网膜微血管,促进 DR 患者视网膜微血管渗漏。在糖尿病患者体内炎症状态下,单核细胞与内皮细胞联系尤为密切。经高糖处理后,单核细胞被激活,其外泌体中血管细胞黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 表达增加,可进一步激活内皮细胞,加剧血管炎症^[18]。由此可知,循环外泌体参与运输炎症因子、激活内皮细胞等,在 DR 视网膜炎症反应中发挥重要作用。

2.3 循环外泌体调节血管生成

糖尿病的高血糖状态往往导致视网膜局部缺血缺氧,早期表现为血管退化及无灌注区形成,晚期可见新生血管生成,严重影响视网膜生理功能。血管的退化和再生是一个复杂的生物学过程,包括内皮细胞迁移、增生和管腔形成等。内皮细胞直接接触血液中的外泌体,多项研究证实内皮细胞可以摄取循环外泌体^[19]。外源性外泌体在调节血管生成方面发挥多种作用。内皮祖细胞衍生的外泌体在体外可增强血管内皮细胞的增生和迁移能力,同时促进 VEGFA、VEGF 受体 2 (VEGF receptor 2, VEGFR2) 和内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 等血管生成相关因子表达^[20]。人脐带血血浆提取的外泌体 (umbilical cord blood-exosomes, UCB-Exos) 可以促进成纤维细胞的增生和迁移,并增强内皮细胞的血管生成活性^[21]。研究表明 UCB-Exos 中含有大量的 miR-21-3p,可通过抑制磷酸酶和张力蛋白同源物和发芽同源物 1 参与调解血管生成^[21]。Mazzeo 等^[15]也报道了 miR-21-3p 在 PDR 患者血浆 EVs (含外泌体) 中高表达,进一步证实外泌体通过 miR-21-3p 参与血管生成。由此可见,循环外泌体富含促血管生成因子,在特定条件下参与血管生成。

另一方面,研究证实血浆外泌体中也含有抑制血管生成的成分。Xiong 等^[22]在 2 型糖尿病 (患者的外泌体中观察到 miR-20b-5p 显著上调,并且该 miRNA 能够通过调节 Wnt9b/ β -catenin 信号传导抑制人脐静脉内皮细胞的血管生成。这一矛盾可能来源于外泌体的异质性,外泌体内部携带了母细胞的生物信息,在膜上也存在大量的受体和配体,经血浆运输与体内不同的靶细胞发生特异性结合,发挥各自作用。PDR 患者血浆 EVs (含外泌体) 的 miRNA 测序结果也表明,血浆 EVs 中不仅存在促血管生成因子,如 miR-21-3p 和 miR-17-5p 等,还存在抑制内皮细胞增生的 miR150-5p 和 miR-342-3p 等^[15]。总之,血浆外泌体的来源较为复杂,可能是其作用不同的主要原因。血浆外泌体如何在特定时间空间精确调控血管生成,有待进一步研究。

3 血小板源性外泌体与 BRB

血小板的生理功能包括黏附、聚集和释放,长期的高血糖状态可导致血小板异常活化,导致血栓形成进而破坏 BRB^[23]。近期研究表明血小板释放的外泌体能够转移血小板细胞因子和调节蛋白表达,最终导致 BRB 结构和功能损伤,并促进 DR 的进展。来源于富血小板血浆的外泌体 (platelet rich plasma

exosomes, PRP-Exos) 可以将一系列转录因子、细胞因子、趋化因子和 miRNA 传递给受体细胞。Zhang 等^[24]观察到糖尿病大鼠血浆和视网膜中的 PRP-Exos 水平高于正常大鼠,说明高血糖是影响 PRP-Exos 水平的关键因素。进一步研究表明,PRP-Exos 通过 Toll 样受体 4 信号通路来介导高血糖诱导的视网膜内皮损伤,并上调视网膜 ICAM-1 和闭锁小带蛋白-1 的表达,诱导 BRB 的降解^[24]。另一方面, Müller 细胞是视网膜中神经胶质细胞的主要类型,参与调节 BRB 的紧密性。来自糖尿病大鼠的 PRP-Exos 可以激活 Yes 相关蛋白以及结缔组织生长因子和纤连蛋白的表达,促进 Müller 细胞发生增生和迁移,破坏 BRB 的紧密性,引起视网膜纤维化病变形成,加重 DR 进展^[25]。高血糖状态下,PRP-Exos 通过促凝及促炎作用进一步加重了血小板应激造成的视网膜损伤,这对研究 DR 的发生和发展以及探索潜在的治疗靶点具有非常重要的意义。

4 RPE 细胞源性外泌体与氧化应激

活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 是含氧的反应性化学物质,包括过氧化物和超氧化物等。通常 ROS 的产生和消耗保持平衡维持细胞正常生理活动,在高血糖、缺氧等状态下引起的 ROS 积累会诱发视网膜局部炎症,线粒体功能障碍和微血管功能障碍等。Naruse 等^[26]发现糖尿病患者血清中的一氧化氮、过氧化氢酶和脂质过氧化物等 ROS 代谢物水平与 DR 进展相关。过量的 ROS 可对视网膜多种细胞产生损伤,包括色素上皮细胞、Müller 细胞和感光细胞等。视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 是位于感光细胞和脉络膜之间的单层膜,参与维持视网膜稳态,RPE 细胞对各种氧化损伤的刺激较为敏感。Biasutto 等^[27]对氧化应激条件下的 RPE 细胞源外泌体进行蛋白质阵列分析,结果表明氧化应激可诱导 RPE 细胞分泌更多外泌体,并且其中参与细胞生存和代谢的蛋白磷酸化程度增强。Sreekumar 等^[28]认为氧化应激环境破坏 BRB,使含有 α B-晶体蛋白的外泌体被 RPE 细胞释放到基底膜外侧。在 DR 研究中, α B-晶状体蛋白被报道具有促血管生成特性^[29]。在 PDR 患者玻璃体液中检测到 α B-晶状体蛋白显著增加^[30],且 Dong 等^[31]证实了 α B-晶状体蛋白在 PDR 患者增生膜中与 VEGF 和 p-p38 MAPK 共定位。此外,Atienzar-Aroca 等^[32]报道氧化应激条件下 ARPE-19 细胞释放更多含有 VEGFR2 的外泌体,在体外促进血管生成。以上研究表明,氧化应激条件下 RPE 释放的外泌体可促进 DR 进展,为抑制 DR 异常血管生成提供了新的研究思路。

5 总结与展望

近几年,外泌体的分离和鉴定技术在不断发展,多种分离方法的出现使得大量的生物体液和离体细胞来源的外泌体被广泛研究,外泌体在眼科领域的研究也在不断深入。血液中的循环外泌体含有大量的生物信息,与眼部及全身的微血管状态相关,特定条件下循环外泌体可以参与视网膜炎症反应及调节血管生成等,其内容物的变化早于眼底改变,为 DR 的早期诊断提供了新思路;DR 患者眼内高糖状态或氧化应激刺激可引

起视网膜细胞分泌异常的外泌体,上游细胞通过分泌外泌体激活下游细胞增生或凋亡信号通路,加剧 DR 的进展,外泌体具有实现细胞间通讯的强大功能为深入研究 DR 疾病进展提供了新的思路。近期研究表明,细胞分泌的外泌体具有与母细胞类似的功能,可通过体液到达靶细胞发挥治疗作用^[33-34]。Yu 等^[35]发现间充质干细胞分泌的外泌体对视网膜具有抗炎和神经保护作用。Shao 等^[36]报道视网膜星形胶质细胞外泌体含有抗血管生成成分,可抑制脉络膜新生血管形成,将来可能应用于 DR 的抗新生血管疗法及神经保护疗法等。此外,外泌体经玻璃体腔注射后可以快速弥散到视网膜被组织吸收^[35],也可经球周注射快速穿过眼球壁到达眼内^[36]。因此外泌体也是理想的眼部给药生物载体,为将来外泌体作为一种新的 DR 给药途径提供了可能性。

尽管越来越多的研究证实外泌体在 DR 的发生和发展中发挥重要作用,外泌体对疾病病理生理过程的影响及其潜在的机制仍不十分清楚。外泌体作为 DR 生物标志物的基础研究和临床应用仍然存在局限性:首先,尚未建立用于外泌体的体液采集和分析的标准化方法;其次,DR 的潜在机制复杂,可能会影响外泌体的诊断和预测应用的准确性。因此,对特定目标的探索将成为未来研究的重点。总之,外泌体是新兴的研究 DR 的重要工具,有关外泌体的内容物及其在细胞间通讯中特定功能的研究可能会为 DR 的诊断和治疗带来新的观点和策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Vujosevic S, Aldington SJ, Silva P, et al. Screening for diabetic retinopathy: new perspectives and challenges [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(4): 337-347. DOI: 10.1016/S2213-8587(19)30411-5.
- [2] 刘巨平,李筱荣.糖尿病视网膜病变:一种非可控性炎症[J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32(1): 94-96. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.01.019.
Liu JP, Li XR. Diabetic retinopathy: a nonresolving inflammation [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2014, 32(1): 94-96. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.01.019.
- [3] Avery RL, Gordon GM. Systemic safety of prolonged monthly anti-vascular endothelial growth factor therapy for diabetic macular edema: a systematic review and Meta-analysis [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2016, 134(1): 21-29. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4070.
- [4] Mead B, Tomarev S. Extracellular vesicle therapy for retinal diseases [J/OL]. *Prog Retin Eye Res*, 2020: 100849 [2020-04-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32169632>. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2020.100849.
- [5] 杨婧,陈松.外泌体在年龄相关性黄斑变性发病机制中的作用研究进展[J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35(1): 83-86. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.01.018.
Yang J, Chen S. Effects of exosomes in pathogenesis of age-related macular degeneration [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2017, 35(1): 83-86. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.01.018.
- [6] 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 [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(1): 9-17. DOI: 10.1038/s41556-018-0250-9.
- [7] Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Mittelbrunn M, et al. ISGylation controls exosome secretion by promoting lysosomal degradation of MVB proteins [J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13588 [2020-04-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27882925>. DOI: 10.1038/ncomms13588.
- [8] Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7): 940-948. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.03.017.
- [9] Makler A, Asghar W. Exosomal biomarkers for cancer diagnosis and patient monitoring [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2020, 20(4): 387-400. DOI: 10.1080/14737159.2020.1731308.
- [10] Tian Y, Gong M, Hu Y, et al. Quality and efficiency assessment of six extracellular vesicle isolation methods by nano-flow cytometry [J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2020, 9(1): 1697028 [2020-04-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31839906>. DOI: 10.1080/20013078.2019.1697028.
- [11] Smolarz M, Pietrowska M, Matysiak N, et al. Proteome profiling of exosomes purified from a small amount of human serum: the problem of co-purified serum components [J/OL]. *Proteomes*, 2019, 7(2): 18 [2020-04-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31035355>. DOI: 10.3390/proteomes7020018.
- [12] Fierabracci A, Del Fattore A, Luciano R, et al. Recent advances in mesenchymal stem cell immunomodulation: The role of microvesicles [J]. *Cell Transplant*. 2015, 24(2): 133-149. DOI: 10.3727/096368913X675728.
- [13] Tokarz A, Szuścik I, Kuśniercz-Cabala B, et al. Extracellular vesicles participate in the transport of cytokines and angiogenic factors in diabetic patients with ocular complications [J]. *Folia Med Cracov*, 2015, 55(4): 35-48.
- [14] Huang C, Fisher KP, Hammer SS, et al. Plasma exosomes contribute to microvascular damage in diabetic retinopathy by activating the classical complement pathway [J]. *Diabetes*, 2018, 67(8): 1639-1649. DOI: 10.2337/db17-1587.
- [15] 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 [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 176: 69-77. DOI: 10.1016/j.exer.2018.07.003.
- [16] Shosha E, Xu Z, Narayanan SP, et al. Mechanisms of diabetes-induced endothelial cell senescence: role of arginase 1 [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1215 [2020-04-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29673160>. DOI: 10.3390/ijms19041215.
- [17] Zhang H, Liu J, Qu D, et al. Serum exosomes mediate delivery of arginase 1 as a novel mechanism for endothelial dysfunction in diabetes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(29): E6927-6927E6936. DOI: 10.1073/pnas.1721521115.
- [18] 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 [J]. *Immunobiology*, 2019, 224(2): 325-333. DOI: 10.1016/j.imbio.2019.02.004.
- [19] Yao Y, Sun W, Sun Q, et al. Platelet-derived exosomal microRNA-25-3p inhibits coronary vascular endothelial cell inflammation through adam10 via the NF-κB signaling pathway in ApoE^{-/-} Mice [J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2205 [2020-04-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31632389>. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02205.
- [20] Li X, Chen C, Wei L, et al. Exosomes derived from endothelial progenitor cells attenuate vascular repair and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function [J]. *Cytotherapy*, 2016, 18(2): 253-262. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.11.009.
- [21] Hu Y, Rao SS, Wang ZX, et al. Exosomes from human umbilical cord blood accelerate cutaneous wound healing through miR-21-3p-mediated promotion of angiogenesis and fibroblast function [J]. *Theranostics*, 2018, 8(1): 169-184. DOI: 10.7150/thno.21234.
- [22] Xiong Y, Chen L, Yan C, et al. Circulating exosomal miR-20b-5p inhibition restores Wnt9b signaling and reverses diabetes-associated impaired wound healing [J/OL]. *Small*, 2020, 16(3): e1904044 [2020-04-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31867895>. DOI: 10.1002/sml.201904044.
- [23] Carrizzo A, Izzo C, Olivetti M, et al. The main determinants of diabetes

- mellitus vascular complications: endothelial dysfunction and platelet hyperaggregation [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (10) : 2968 [2020-04-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30274207>. DOI: 10. 3390/ijms19102968.
- [24] Zhang W, Dong X, Wang T, et al. Exosomes derived from platelet-rich plasma mediate hyperglycemia-induced retinal endothelial injury via targeting the TLR4 signaling pathway [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2019, 189 : 107813 [2020 - 04 - 28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31560926>. DOI: 10. 1016/j. exer. 2019. 107813.
- [25] Zhang W, Jiang H, Kong Y. Exosomes derived from platelet-rich plasma activate YAP and promote the fibrogenic activity of Müller cells via the PI3K/Akt pathway [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 193 : 107973 [2020 - 04 - 28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32059976>. DOI: 10. 1016/j. exer. 2020. 107973.
- [26] Naruse R, Suetsugu M, Terasawa T, et al. Oxidative stress and antioxidative potency are closely associated with diabetic retinopathy and nephropathy in patients with type 2 diabetes [J]. *Saudi Med J*, 2013, 34 (2) : 135 - 141.
- [27] Biasutto L, Chiechi A, Couch R, et al. Retinal pigment epithelium (RPE) exosomes contain signaling phosphoproteins affected by oxidative stress [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319 (13) : 2113 - 2123. DOI: 10. 1016/j. yexcr. 2013. 05. 005.
- [28] Sreekumar PG, Kannan R, Kitamura M, et al. α B crystallin is apically secreted within exosomes by polarized human retinal pigment epithelium and provides neuroprotection to adjacent cells [J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5 (10) : e12578 [2020 - 04 - 28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20949024>. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0012578.
- [29] Kannan R, Sreekumar PG, Hinton DR. Novel roles for α -crystallins in retinal function and disease [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2012, 31 (6) : 576 - 604. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2012. 06. 001.
- [30] Chen W, Lu Q, Lu L, et al. Increased levels of alphaB-crystallin in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy and correlation with vascular endothelial growth factor [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2017, 45 (4) : 379 - 384. DOI: 10. 1111/ceo. 12891.
- [31] Dong Y, Dong Z, Kase S, et al. Phosphorylation of alphaB-crystallin in epiretinal membrane of human proliferative diabetic retinopathy [J]. *Int J Ophthalmol*, 2016, 9 (8) : 1100 - 1105. DOI: 10. 18240/ijo. 2016. 08. 03.
- [32] Atienzar-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]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22 (11) : 5244 - 5256. DOI: 10. 1111/jcmm. 13730.
- [33] 李娜, 粘红, 赵璐, 等. 人脐带间充质干细胞来源外泌体对兔自身免疫性干眼外周血巨噬细胞的调控 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37 (11) : 854 - 862. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 11. 002.
- Li N, Nian H, Zhao L, et al. Regulation of human umbilical cord mesenchymal stem cells derived exosomes on peripheral blood macrophages from rabbit autoimmune dry eye [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37 (11) : 854 - 862. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 11. 002.
- [34] 尹婕, 王雨生. 小胶质细胞在视网膜血管发育及新生血管发生中的调控作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34 (12) : 1132 - 1135. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 12. 018.
- Yin J, Wang YS. Microglial regulates the physical development of vascular growth and angiogenesis in the retina [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2016, 34 (12) : 1132 - 1135. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 12. 018.
- [35] Yu B, Shao H, Su C, et al. Exosomes derived from MSCs ameliorate retinal laser injury partially by inhibition of MCP-1 [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 34562 [2020 - 04 - 28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27686625>. DOI: 10. 1038/srep34562.
- [36] Hajrasouliha AR, Jiang G, Lu Q, et al. Exosomes from retinal astrocytes contain antiangiogenic components that inhibit laser-induced choroidal neovascularization [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (39) : 28058 - 28067. DOI: 10. 1074/jbc. M113. 470765.

(收稿日期:2020-07-14 修回日期:2020-08-10)

(本文编辑:张宇)

读者 · 作者 · 编者

本刊对医学研究中知情同意和医学伦理学描述的要求

根据国际医学期刊编辑委员会提供的“生物医学期刊投稿统一要求”的表述,本刊对作者撰写稿件时关于“知情同意”和“医学伦理学”的描述提出如下要求:

(1) 知情同意 在未事先获得知情同意的情况下,患者有隐私不被侵犯的权力。患者的身份信息,包括姓名、来源、住院号等均不应该以文字、图片或家系信息的方式在出版物上公开,除非这些信息对于本研究是必需的,如需在出版物上显示,应征得患者(或父母、监护人)签署的书面同意书。

发表的文章中应该省略不必要的患者个人信息,但难以做到完全匿名时(如在照片中掩盖患者的眼部,不足以保护患者的隐私权),应提供知情同意的信息。如果用改变患者的身份特征(如遗传家系等)以保护患者隐私权的方法,作者应该确保这些改变不影响研究的科学性,并且编辑应在文中对此予以说明。

(2) 医学伦理学 以人体为实验对象的研究,作者应该提及试验步骤是否符合相应的负责机构、国家委员会或 1975 年赫尔辛基宣言(2005 年修订)的医学伦理学标准。如果研究过程对是否符合赫尔辛基宣言有疑问或存在一定的问题,作者应当做出客观说明并解释研究的合理性,提交已通过审查机构的批准情况。以动物为实验对象的研究,作者应当说明是否遵循当地的相关机构、学会(国内或国外)及国家实验动物保护和利用指南。

本刊对稿件组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)