

· 综 述 ·

间充质干细胞来源外泌体靶向修饰在眼病治疗中的应用前景

林浩¹ 综述 王颖² 审校¹中南大学爱尔眼科学院,长沙 410015;²沈阳爱尔眼视光医院 110000

通信作者:王颖,Email:wangying_1026@yahoo.com

【摘要】 间充质干细胞(MSCs)具有免疫调节和促血管生成的特性,在细胞治疗中具有广泛的应用前景。外泌体是一类具有脂质双分子层结构的纳米级小囊泡。近年研究表明,外泌体具有与 MSCs 类似的生物学功能,可替代 MSCs 用于多种疾病的治疗。间充质干细胞来源外泌体(MSCs-exo)被广泛应用于包括葡萄膜炎、青光眼、视网膜和眼表疾病在内多种眼科疾病的治疗研究。然而,MSCs-exo 内容物复杂,功能多样,为避免被免疫系统快速清除、提升靶向细胞特异性、减少不良反应,需要对外泌体进行不同策略修饰。如 MSCs-exo 内容物修饰后,使治疗因子过度表达,可最大限度地发挥其对特定眼病治疗的潜力和疗效,有望成为眼病治疗的新选择。本文重点阐述 MSCs-exo 应用和外泌体修饰的策略和现状,并探讨 MSCs-exo 修饰在眼病治疗中的潜在应用前景。

【关键词】 间充质干细胞来源外泌体;外泌体修饰;眼科;综述**基金项目:** 国家自然科学基金青年项目(81800852、81800853)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200319-00186

Modification of mesenchymal stem cell derived exosomes and its application prospects in the treatment of eye disease

Lin Hao, Wang Ying

Aier School of Ophthalmology, Central South University, Changsha 410015, China; Shenyang Aier Eye Hospital, Shenyang 110000, China

Corresponding author: Wang Ying, Email:wangying_1026@yahoo.com

【Abstract】 Mesenchymal stem cells (MSCs) were extensively explored as new therapeutic agents in cell-based therapy due to their immunomodulatory and pro-angiogenic characteristics. Exosomes are nanovesicles surrounded by a phospholipid layer. Recent studies have demonstrated that MSCs-derived exosomes (MSCs-exo) and MSCs have similar functions. MSCs-exo are considered as an ideal treatment for multiple ocular diseases including uveitis, glaucoma, retinal and ocular surface diseases. However, with complex contents and diverse functions, exosomes need to be modified with different strategies to avoid rapid clearance by the immune system, reduce side effects, enhance target cell specificity, and improve intracellular delivery efficiency. After the modification of MSCs-exo contents, specific therapeutic factor could be overexpressed in MSCs-exo in order to maximize their therapeutic potential and efficacy for specific eye diseases, which is expected to be a new choice for the treatment of eye diseases. This paper focuses on the applications of MSCs-exo and the current researches of exosomes modification strategies, and discusses the potential application prospects of modified MSCs-exo in the treatment of eye disease.

【Key words】 Mesenchymal stem cells derived exosomes; Modification of exosomes; Ophthalmology; Review

Fund program: National Natural Science Foundation for Young Scientists of China (81800852, 81800853)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200319-00186

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)几乎存在于所有器官和组织中,具有免疫调节、自我复制能力和多向分化潜能,常用于成人干细胞的临床治疗,但 MSCs 移植治疗存在致瘤性、免疫排斥和栓塞的问题^[1]。MSCs 的治疗作用有赖于细胞分泌的胞外物质^[2]。间充质干细胞来源外泌体

(mesenchymal stem cells derived exosomes, MSCs-exo)介导多种生物学功能,近年应用于干眼、角膜损伤、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、葡萄膜炎、视神经损伤、视网膜脱离等眼病的治疗^[3-8]。外泌体携带的内容物复杂多样,至今尚不明确。对于特定疾病,天然外泌体特异性差,半衰期短,跨膜传

递和胞质运输效率低^[9]。靶向修饰是指外泌体通过各种技术手段,把药物、酶、蛋白质和 miRNA 等生物分子加载到外泌体内容物,或对外泌体表面进行修饰。目前,关于靶向修饰后 MSCs-exo 应用于眼病治疗的研究范畴有待扩展。本文就 MSCs-exo 的特点和外泌体修饰的现状进行综述,并探讨靶向修饰后 MSCs-exo 的治疗前景。

1 外泌体概述

外泌体是一种由细胞分泌到胞外的双层脂质纳米囊泡,大小为 30~150 nm,携带复杂的核酸、蛋白质和脂质。几乎所有细胞都分泌外泌体,分布于各种体液中。外泌体高度富集跨膜蛋白,包括 CD3、CD63、CD37、CD81 等外泌体特征性蛋白。干细胞外泌体膜结合蛋白(如组织相容性复合物)数量较少,免疫原性低于供体细胞,这一特性可以使其克服免疫排斥反应,避免被免疫细胞清除^[10]。外泌体生物功能取决于来源细胞类型,作为细胞间的信息传递物质,在免疫调节、炎症反应、肿瘤生长和迁移、组织损伤修复等病理生理过程中发挥重要作用^[11]。作为双层脂膜囊泡,外泌体保护内容物不受降解酶或化学物质的影响。外泌体可穿透血-脑屏障和血-眼屏障,成为理想的药物传递载体。外泌体还可作为生物标志物,其内容物成分的改变可反映其来源细胞的病理状态,用于疾病诊断和病情判断。

MSCs 相对安全且易获得,是可以大规模产生外泌体的细胞^[12]。近年来, MSCs-exo 已广泛应用于心血管、肿瘤和神经领域。常见的 MSCs-exo 分离提纯法包括超速离心法、密度梯度分离法、聚合物沉淀法、尺寸排阻色谱法、免疫亲和捕获法和超滤法等,其中超速离心法所获得的 MSCs-exo 纯度最高^[13]。此外, Mendt 等^[14]报道了符合生产规范要求的 MSCs-exo 大规模生产流程和质控标准,为其临床应用提供良好基础。

2 MSCs-exo 的功能及眼科应用

MSCs-exo 的功能包括:(1)抗炎和免疫抑制特性 MSCs-exo 内容物包含 200 多种免疫调节蛋白和多种可溶性免疫调节介质及炎症抑制因子,如转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、白细胞介素 10 (interleukin-10, IL-10)、肿瘤坏死因子- α 、IL-6^[15-16]。(2)帮助组织修复与再生 通过调节受损组织微环境、诱导血管生成、促进细胞增生迁移、抑制细胞凋亡、减少氧化应激等多种机制,在伤口愈合、缺血性心脏损伤、急性肺损伤等疾病中发挥保护和治疗作用^[17]。(3)抑制过度纤维化 人脐带来源 MSCs-exo 所携带的 miRNA 通过抑制 α -平滑肌肌动蛋白和 TGF- β /SMAD2 信号通路的表达,从而抑制肝纤维化^[18]。(4)诱导自噬 自噬是一种重要的体内细胞平衡过程,通过溶酶体代谢胞质蛋白以维持细胞内稳态,既能保护受损细胞,也可诱导细胞自动死亡。Liu 等^[19]研究发现, MSCs-exo 通过 AMPK/mTOR 和 Akt/mTOR 通路诱导心肌细胞自噬,从而降低缺血-再灌注心肌细胞的损伤。(5)神经保护作用 研究发现,不同来源的 MSCs-exo 可以促进中枢神经元轴突生长。进一步研究发现, MSCs-exo 通过传递 miRNA 和神经

营养因子,调节星形胶质细胞炎症表型而发挥神经保护作用^[20]。

多项研究已证实天然 MSCs-exo 对多种眼科疾病的治疗作用。MSCs-exo 可促进兔角膜基质细胞的增生,抑制其凋亡,并伴随新的细胞外基质蛋白,包括胶原的沉积,从而有助于角膜疾病的治疗^[5]。在兔干眼模型中,人脐带来源 MSCs-exo 可诱导兔自身免疫性干眼外周血单核巨噬细胞向抗炎性 M2 表型分化,抑制巨噬细胞相关炎症因子分泌,同时升高抗炎因子表达^[8]。在自身免疫性葡萄膜炎大鼠模型中, MSCs-exo 可下调单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)/CCL21 和 MYD88 通路来减少白细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞的浸润和迁移^[3]。在视网膜激光损伤小鼠模型中, MSCs-exo 通过抑制 MCP-1、肿瘤坏死因子 α 、细胞间黏附分子 1 改善视网膜炎症环境,还可以通过下调血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达以及抑制核因子- β 通路,减少脉络膜新生血管,减轻视网膜色素上皮层细胞损伤,提升视觉功能^[21]。在高糖诱导的 DR 动物模型中, MSCs-exo 通过转移内容物中的 miR-126 和 miRNA-222 发挥抗炎和抑制新生血管的作用^[22-23]。在视网膜脱离动物模型中, MSCs-exo 抑制光感受器细胞凋亡,维持正常的视网膜结构,进一步蛋白质组学分析显示 MSCs-exo 中含有抗炎、神经保护和抗凋亡作用的蛋白^[7]。

天然 MSCs-exo 中已经鉴定出了 150 种 miRNA、超过 850 个独特的基因产物以及 900 种蛋白质^[15],且在 MSCs-exo 制备过程中,不同培养环境和分离提纯方法所获得的内容物也不同。因此, MSCs-exo 显示出多种功能特性,导致治疗特异性差。当前, MSCs-exo 许多成分的功能尚不明确,故用于特定疾病治疗时疗效受限。上述因素都限制了 MSCs-exo 在眼病治疗中的应用。最近一项用 MSCs-exo 治疗 5 例难治性黄斑裂孔患者的临床试验中,4 例患者病变区结构和功能得到恢复,1 例使用较高剂量 MSCs-exo 的患者眼底发生了炎症反应^[24]。

3 外泌体靶向修饰

3.1 外泌体靶向修饰策略

外泌体靶向修饰策略包括内容物修饰、外膜修饰和外泌体载体修饰。(1)外泌体内容物修饰策略 常用技术手段可分为病毒法或非病毒法。病毒法使用的病毒载体主要有逆转录病毒(包含慢病毒)和腺病毒 2 种。使用病毒载体对供体细胞的遗传修饰,诱导供体细胞分泌在内容物或膜结构上具有特定基因产物的外泌体。非病毒法干预方法不一,将目标生物分子加载至外泌体内或供体细胞上,常用技术包括皂素法、脂质体法、超声处理法、电穿孔法、挤压法、冰融法、渗透压或 PH 调节法^[25-28],其中电穿孔是目前最常用的外泌体内容物加载技术。(2)外泌体外膜修饰策略 可以在外泌体产生阶段对供体细胞膜结构,如膜蛋白、脂质层、和糖基进行修饰,可以分泌修饰后的外泌体^[29];此外,还可以在分离外泌体后,将目标生物分子直接加载到外膜结构上。外泌体外膜修饰策略主要包括化学共轭法、插入法和静电法。化学共轭法通过共价化学反应或化

学连接剂将目标生物分子连接到外泌体外膜上^[29]。插入法指疏水分子或脂类分子可通过疏水相互作用自发地插入外泌体脂质双分子层^[30]。静电法将目标生物分子阳离子化并粘附到外泌体膜表面负价官能团^[31]。(3)外泌体载体构建策略 利用各种材料如水凝胶、纤维蛋白胶作为外泌体载体包裹外泌体^[32]。此外,还可通过改变供体细胞所处微环境,如缺氧处理、NO 刺激及改变培养基类型的方式获得特定外泌体^[33]。

3.2 外泌体靶向修饰的意义

外泌体靶向修饰的意义包括:(1)提升治疗所需的外泌体功能 通过修饰外泌体,赋予或增强外泌体有益于治疗的功能,抑制外泌体不良功能,这是提升外泌体特定治疗效果的主要策略。2型糖尿病患者循环外泌体中的 miR-20b-5p 表达升高,将该外泌体应用于糖尿病小鼠伤口导致伤口愈合延迟。而敲除 miR-20b-5p 的外泌体则可以显著增强伤口愈合并促进伤口血管生成^[34]。(2)将外泌体构造成药物载体 与游离姜黄素相比,将外源性分子姜黄素与外泌体共孵育形成复合物,其抗炎效果得到提升^[35]。(3)赋予外泌体靶向性 将靶向配体修饰到外泌体外膜或内容物中,赋予其更强的靶向性,使其在靶部位有更大的蓄积,并减少对健康组织的影响。常用修饰方法包括添加膜表面肽、靶向蛋白、特定化合物以及修饰适配体、装载磁性纳米颗粒等^[29]。(4)延长外泌体循环半衰期 不论何种给药途径,大部分外泌体被巨噬细胞迅速吸收而清除^[36]。利用各种具有凝胶性能或生物黏附性能的水凝胶包裹外泌体,可防止外泌体过快清除,实现外泌体在局部的持续释放^[37],成为缓释用药的良好载体。外泌体的预期生物学效应只能通过靶细胞内吞摄取而产生;因此,以缓释方式局部释放外泌体对于最大限度提高疗效至关重要。(5)提升外泌体载量 天然外泌体药物的装载量有限,而外泌体治疗必须依赖足够的药物剂量。通过慢病毒载体将跨膜蛋白 CD63 作为膜定位元件加载至供体细胞细胞膜上,所产生的外泌体对靶蛋白的装载量增加^[38]。(6)提升外泌体产量 限制外泌体应用的主要问题之一就是产量低。最新研究报道了一种细胞纳米技术,即将质粒 DNA 通过纳米通道注入供体细胞,并通过局部和瞬时电刺激刺激供体细胞,与传统技术相比,该法产生的外泌体增加 50 倍,外泌体中治疗基因增加一千多倍,外泌体 mRNA 转录增加超过 103 倍,可大规模生产携带 mRNA 的外泌体用于临床^[39]。(7)提升外泌体的靶细胞摄取率 由于外泌体和带负电荷的细胞膜间排斥作用以及内吞作用的限制,受体细胞摄取外泌体效率较低。Nakase^[9]等在外泌体膜上修饰富含精氨酸的细胞穿透肽,可有效诱导受体细胞胞饮,提高受体细胞对外泌体的摄取率。

4 靶向修饰后的 MSCs-exo 在眼病治疗中的应用

当前,对眼科 MSCs-exo 治疗研究集中在利用天然 MSCs-exo 治疗各类眼科疾病,修饰后的 MSCs-exo 在眼病治疗中的研究才刚刚起步,国内外相关研究较少。关于天然外泌体用于眼部治疗研究,Mead 等^[20]报道了人骨髓来源 MSCs-exo 可促进视神经挤压损伤大鼠视神经轴突再生;Pan 等^[40]却发现人脐带来源 MSCs-exo 不能促进视神经挤压损伤大鼠视神经轴突再生,

可能与不同来源的 MSCs-exo 内容物及生物学功能不同有关,也可能与人脐带 MSCs-exo 所富含的 miR-21 覆盖和干扰了其他 miRNA 对于促进轴突再生的能力有关。基于天然 MSCs-exo 的特定有效治疗成分不足,Zhang 等^[3]将脂质转染剂与被认为是 DR 血管修复和减轻炎症的有效成分 miR-126^[41]培育形成复合物,再与人 MSCs 共孵育,获得了过表达 miR-126 的 MSCs-exo;与对照组比较,经过 miR-126 过表达修饰的 MSCs-exo 可更有效地抑制糖尿病大鼠 HMGB1 信号通路,减轻视网膜炎症反应。大量文献报道了 MSCs-exo 具有促进新生血管生成的作用,此外,MSCs-exo 还可促进细胞增生和迁移,诱导细胞自噬,而血管内皮细胞增生迁移、新生毛细血管形成及自噬损伤是 DR 发生和发展的重要因素^[42],造成 MSCs-exo 用于眼部疾病治疗时可能存在潜在不良反应。为了改变天然 MSCs-exo 功能,Moisseev 等^[43]在缺氧条件下培养人骨髓 MSCs,所获得的 MSCs-exo 应用于视网膜缺血小鼠的治疗,降低了视网膜缺血和新生血管的严重程度,但其具体作用机制有待进一步明确。

5 MSCs-exo 应用存在的问题和展望

当前,各种外泌体修饰方法都存在相应的不足,电穿孔改变外泌体外膜时可能干扰与靶细胞膜融合所需的外泌体膜结构,部分化学干预试剂降低了外泌体原有生物学特性,用于水凝胶制造的交联剂可能存在潜在毒性^[44]。此外,工程化外泌体生产效率较低,且难以生产高纯度和质量一致的外泌体^[45],因此急需在临床级生产方法、分离纯化方法、质量检测、安全性评估方面制定一系列标准化步骤。由于眼部生理屏障和代谢消除的存在,眼表局部用药和玻璃体腔注射都面临药物剂量及作用时间不足的问题^[45]。基于 MSCs-exo 低免疫性、良好的屏障穿透力以及眼病治疗作用,通过水凝胶包裹以实现眼部局部缓释给药、通过靶向配体修饰以实现眼特定病变组织靶向递送,通过加载眼药充当眼科给药载体等策略是当前研究重点。修饰后的 MSCs-exo 有望成为多种眼病的有效治疗办法。此外,未来亟待进一步明确 MSCs-exo 抗血管生成、抗炎、神经保护、抑制纤维化及组织修复功能在眼病治疗中的机制,通过修饰策略提升 MSCs-exo 有效治疗成分,抑制其不利成分,为每种眼病定制具有特定疗效的 MSCs-exo。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Volarevic V, Markovic BS, Gazdic M, et al. Ethical and safety issues of stem cell-based therapy[J]. Int J Med Sci, 2018, 15(1): 36-45. DOI: 10.7150/ijms.21666.
- [2] Tran C, Damaser MS. Stem cells as drug delivery methods: application of stem cell secretome for regeneration[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 82-83: 1-11. DOI: 10.1016/j.addr.2014.10.007.
- [3] Zhang W, Wang Y, Kong Y. Exosomes derived from mesenchymal stem cells modulate miR-126 to ameliorate hyperglycemia-induced retinal inflammation via targeting HMGB1[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(1): 294-303. DOI: 10.1167/iov.18-25617.
- [4] Safwat A, Sabry D, Ragia A, et al. Adipose mesenchymal stem cells-derived exosomes attenuate retina degeneration of streptozotocin-induced diabetes in rabbits[J]. J Circ Biomark, 2018, 7:

- 1849454418807827 [2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6207964/>. DOI:10.1177/1849454418807827.
- [5] Shen T, Zheng QQ, Shen J, et al. Effects of adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes on corneal stromal fibroblast viability and extracellular matrix synthesis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2018, 131(6): 704-712. DOI:10.4103/0366-6999.226889.
 - [6] Bai L, Shao H, Wang H, et al. Effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes on experimental autoimmune uveitis [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4323 [2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5489510/>. DOI:10.1038/s41598-017-04559-y.
 - [7] Ma M, Li B, Zhang M, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes on retinal detachment [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 191: 107899 [2020-03-13]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014483519304610?via%3Dihub>. DOI:10.1016/j.exer.2019.107899.
 - [8] 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, Zhang 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.
 - [9] Nakase I, Noguchi K, Fujii I, et al. Vectorization of biomacromolecules into cells using extracellular vesicles with enhanced internalization induced by macropinocytosis [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34937 [2020-03-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5066177/>. DOI:10.1038/srep34937.
 - [10] Newton WC, Kim JW, Luo JZQ, et al. Stem cell-derived exosomes: a novel vector for tissue repair and diabetic therapy [J/OL]. *J Mol Endocrinol*, 2017, 59(4): R155-R165 [2020-02-19]. <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/59/4/JME-17-0080.xml>. DOI:10.1530/JME-17-0080.
 - [11] 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.
 - [12] Yeo RW, Lai RC, Zhang B, et al. Mesenchymal stem cell: an efficient mass producer of exosomes for drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(3): 336-341. DOI:10.1016/j.addr.2012.07.001.
 - [13] 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 [2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6896440/>. DOI:10.1080/20013078.2019.1697028.
 - [14] Mendt M, Kamerkar S, Sugimoto H, et al. Generation and testing of clinical-grade exosomes for pancreatic cancer [J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(8): e99263 [2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5931131/>. DOI:10.1172/jci.insight.99263.
 - [15] Lai RC, Tan SS, Teh BJ, et al. Proteolytic potential of the MSC exosome proteome: implications for an exosome-mediated delivery of therapeutic protease [J/OL]. *Int J Proteomics*, 2012, 2012: 971907 [2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3407643/>. DOI:10.1155/2012/971907.
 - [16] Zhang B, Yin Y, Lai RC, et al. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(11): 1233-1244. DOI:10.1089/scd.2013.0479.
 - [17] Ferguson SW, Wang J, Lee CJ, et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view [J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1419 [2020-03-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5780426/>. DOI:10.1038/s41598-018-19581-x.
 - [18] Fang S, Xu C, Zhang Y, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNAs suppress myofibroblast differentiation by inhibiting the transforming growth factor- β /SMAD2 pathway during wound healing [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(10): 1425-1439. DOI:10.5966/scrm.2015-0367.
 - [19] Liu L, Jin X, Hu CF, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells rescue myocardial ischaemia/reperfusion injury by inducing cardiomyocyte autophagy via AMPK and Akt pathways [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(1): 52-68. DOI:10.1159/000480317.
 - [20] Mead B, Tomarev S. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells-derived exosomes promote survival of retinal ganglion cells through miRNA-dependent mechanisms [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(4): 1273-1285. DOI:10.1002/scrm.16-0428.
 - [21] He GH, Zhang W, Ma YX, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes ameliorate blue light stimulation in retinal pigment epithelium cells and retinal laser injury by VEGF-dependent mechanism [J]. *Int J Ophthalmol*, 2018, 11(4): 559-566. DOI:10.18240/ijo.2018.04.04.
 - [22] Safwat A, Sabry D, Ragia A, et al. Adipose mesenchymal stem cells-derived exosomes attenuate retina degeneration of streptozotocin-induced diabetes in rabbits [J/OL]. *J Circ Biomark*, 2018, 7: 1849454418807827 [2020-03-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6207964/>. DOI:10.1177/1849454418807827.
 - [23] Zhang W, Wang Y, Kong Y. Exosomes derived from mesenchymal stem cells modulate miR-126 to ameliorate hyperglycemia-induced retinal inflammation via targeting HMGB1 [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(1): 294-303. DOI:10.1167/iovs.18-25617.
 - [24] Wang Y, Yan H. MicroRNA-126 contributes to Niaspan treatment induced vascular restoration after diabetic retinopathy [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26909 [2020-03-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880890/>. DOI:10.1038/srep26909.
 - [25] Nasiri KA, Cheng L, Hill AF. Methods for loading therapeutics into extracellular vesicles and generating extracellular vesicles mimetic-nanovesicles [J]. *Methods*, 2020, 177: 103-113. DOI:10.1016/j.ymeth.2020.01.001.
 - [26] Tao SC, Guo SC, Li M, et al. Chitosan wound dressings incorporating exosomes derived from microRNA-126-overexpressing synovium mesenchymal stem cells provide sustained release of exosomes and heal full-thickness skin defects in a diabetic rat model [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(3): 736-747. DOI:10.5966/scrm.2016-0275.
 - [27] Guo SC, Tao SC, Yin WJ, et al. Exosomes derived from platelet-rich plasma promote the re-epithelization of chronic cutaneous wounds via activation of YAP in a diabetic rat model [J]. *Theranostics*, 2017, 7(1): 81-96. DOI:10.7150/thno.16803.
 - [28] Sato YT, Umezaki K, Sawada S, et al. Engineering hybrid exosomes by membrane fusion with liposomes [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21933 [2020-03-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4766490/>. DOI:10.1038/srep21933.
 - [29] Lu M, Xing H, Xun Z, et al. Functionalized extracellular vesicles as advanced therapeutic nanodelivery systems [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 121: 34-46. DOI:10.1016/j.ejps.2018.05.001.
 - [30] SAA K, LAL F, van der Meel R, et al. PEGylated and targeted extracellular vesicles display enhanced cell specificity and circulation time [J]. *J Control Release*, 2016, 224: 77-85. DOI:10.1016/j.jconrel.2016.01.009.
 - [31] Tamura R, Uemoto S, Tabata Y. Augmented liver targeting of exosomes by surface modification with cationized pullulan [J]. *Acta Biomater*, 2017, 57: 274-284. DOI:10.1016/j.actbio.2017.05.013.
 - [32] Yu H, Cheng J, Shi W, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes promote tendon regeneration by facilitating the proliferation and migration of endogenous tendon stem/progenitor cells [J]. *Acta Biomater*, 2020, 106: 328-341. DOI:10.1016/j.actbio.2020.01.051.
 - [33] Yang L, Zhai Y, Hao Y, et al. The regulatory functionality of exosomes derived from hUMSCs in 3D culture for Alzheimer's disease therapy [J/OL]. *Small*, 2020, 16(3): e1906273 [2020-03-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31840420/>. DOI:10.1002/smll.201906273.
 - [34] 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 [2020-03-14]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/smll.201904044>. DOI:10.1002/smll.201904044.
 - [35] Sun D, Zhuang X, Xiang X, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when

- encapsulated in exosomes[J]. Mol Ther, 2010, 18(9): 1606–1614. DOI: 10. 1038/mt. 2010. 105.
- [36] Wiklander OP, Nordin JZ, O'Loughlin A, et al. Extracellular vesicle *in vivo* biodistribution is determined by cell source, route of administration and targeting [J/OL]. J Extracell Vesicles, 2015, 4: 26316 [2020-03-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4405624/>. DOI: 10. 3402/jev. v4. 26316.
- [37] Mansoor H, Ong HS, Riau AK, et al. Current trends and future perspective of mesenchymal stem cells and exosomes in corneal diseases [J/OL]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): 2853 [2020-03-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6627168/>. DOI: 10. 3390/ijms20122853.
- [38] 黄琳, 王殿冰, 顾宁, 等. 高效装载细胞内源蛋白工程化分泌体的构建[J]. 生物工程学报, 2019, 35(8): 1537–1545. DOI: 10. 13345/j. cjb. 190124.
Huang L, Wang DB, Gu N, et al. Construction of engineered exosomes with high loading efficiency of cellular endogenous proteins[J]. Chin J Biotechnol, 2019, 35(8): 1537–1545. DOI: 10. 13345/j. cjb. 190124.
- [39] Yang Z, Shi J, Xie J, et al. Large-scale generation of functional mRNA-encapsulating exosomes via cellular nanoporation[J]. Nat Biomed Eng, 2020, 4(1): 69–83. DOI: 10. 1038/s41551-019-0485-1.
- [40] Pan D, Chang X, Xu M, et al. UMSC-derived exosomes promote retinal ganglion cells survival in a rat model of optic nerve crush[J]. J Chem Neuroanat, 2019, 96: 134–139. DOI: 10. 1016/j. jchemneu. 2019. 01. 006.
- [41] Wang Y, Yan H. MicroRNA-126 contributes to Niaspan treatment induced vascular restoration after diabetic retinopathy[J/OL]. Sci Rep, 2016, 6: 26909 [2020-03-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880890/>. DOI: 10. 1038/srep26909.
- [42] Rosa MD, Distefano G, Gagliano C, et al. Autophagy in diabetic retinopathy[J]. Curr Neuropharmacol, 2016, 14(8): 810–825. DOI: 10. 2174/1570159x14666160321122900.
- [43] Moisseiev E, Anderson JD, Oljen S, et al. Protective effect of intravitreal administration of exosomes derived from mesenchymal stem cells on retinal ischemia [J]. Curr Eye Res, 2017, 42(10): 1358–1367. DOI: 10. 1080/02713683. 2017. 1319491.
- [44] Riau AK, Ong HS, Yam GHF, et al. Sustained delivery system for stem cell-derived exosomes [J/OL]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1368 [2020-01-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6868085/>. DOI: 10. 3389/fphar. 2019. 01368.
- [45] Yamashita T, Takahashi Y, Takakura Y. Possibility of exosome-based therapeutics and challenges in production of exosomes eligible for therapeutic application[J]. Biol Pharm Bull, 2018, 41(6): 835–842. DOI: 10. 1248/bpb. b18-00133.
- [46] Morrison PW, Khutoryanskiy VV. Advances in ophthalmic drug delivery [J]. Ther Deliv, 2014, 5(12): 1297–1315. DOI: 10. 4155/tde. 14. 75.

(收稿日期: 2020-03-19 修回日期: 2020-09-01)

(本文编辑: 刘艳)

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(或者父母、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。

本刊对来稿中作者署名的著录要求

作者向本刊投稿时署名应符合以下条件:(1)参与课题的选题和实验设计,参与实验资料的收集、分析和论证。(2)参与论文的起草或能够对论文中的方法学或关键部分进行修改。(3)能对审稿专家和编辑提出的修改意见进行核修,能够答辩并承担责任。(4)对论文的诚信负责。仅参与筹得资金或收集资料者以及仅对科研小组进行一般管理者均不宜署名为作者。文中如有外籍作者,应附外籍作者亲笔签名的在本刊发表的同意函。集体署名的文章应于题名下列出署名单位,于文末列出论文整理者的姓名,并须明确该文的主要责任者。

作者署名的名次应按对论文贡献大小顺序排列于文题下方,每篇论文须列出通信作者 1 名。如无特殊约定,则视第一作者为通信作者。作者(包括通信作者)的署名及其排序应在投稿前由所有研究者共同讨论确定,在编排过程中不宜变更或增减,尤其是通信作者和前三名作者,若确需变动者须提供所有署名作者的签名同意函并出示单位证明。有英文文题的论著和综述应有全部作者姓名的汉语拼音,列于英文文题之下。

(本刊编辑部)