

## 视网膜色素上皮细胞来源的细胞外囊泡在年龄相关性黄斑变性发病机制中的作用

高优歌 王艳歌 综述 宋宗明 审校

河南大学人民医院眼科 河南省人民医院眼科 河南省立眼科医院 河南省眼科与视觉科学重点实验室 河南省医学科学院眼科研究所, 郑州 450003

通信作者: 宋宗明, Email: szmeyes@sina.com

**【摘要】** 年龄相关性黄斑变性 (AMD) 是全球老年人不可逆视力丧失的主要原因之一, 其主要病理特征是视网膜色素上皮 (RPE) 细胞变性和感光细胞不可逆性损伤或丢失。细胞外囊泡 (EVs) 是一类具有脂质双层膜的异质性纳米囊泡, 包括外泌体、微囊泡和凋亡小体, 它们通过传递 RNA 和蛋白质等分子发挥生物学效应。本综述论述了 RPE 细胞来源的细胞外囊泡 (RPE-EVs) 参与调节氧化应激、炎症反应、新生血管生成等 AMD 病理生理过程。RPE-EVs 来源的 Apaf1、HDAC6、miR-494-3p、miR-138-5p、miR-21、miR-543、miR-302a-3p 等可作为诊断和治疗 AMD 的候选分子靶点, 但其作用机制尚未阐明。由于 RPE-EVs 具有高生物相容性、低免疫原性、低毒性、靶向性、稳定性、特异性等独特优势, 未来需要继续深入研究 RPE-EVs 在 AMD 发病机制中的作用, 同时将关注点放到 RPE-EVs 在 AMD 诊疗中的作用, 实现 RPE-EVs 的临床转化, 为 AMD 的诊断和治疗开辟新途径。

**【关键词】** 视网膜色素上皮; 细胞外囊泡; 年龄相关性黄斑变性; 氧化应激; 炎症; 新生血管

**基金项目:** 国家自然科学基金 (82101162); 河南省重点研发与推广专项 (222102310061)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20230626-00022

### Role of retinal pigment epithelium-derived extracellular vesicles in the pathogenesis of age-related macular degeneration

Gao Youge, Wang Yangge, Song Zongming

Department of Ophthalmology, Henan University People's Hospital, Henan Provincial People's Hospital, Henan Eye Hospital, Henan Key Laboratory of Ophthalmology, Henan Academy of Innovations in Medical Science, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Song Zongming, Email: szmeyes@sina.com

**【Abstract】** Age-related macular degeneration (AMD) is one of the main causes of irreversible vision loss in the elderly worldwide. Its main pathological features are the degeneration of retinal pigment epithelium (RPE) and the irreversible damage or loss of photoreceptor cells. Extracellular vesicles (EVs) are a class of heterogeneous nanovesicles with lipid bilayer membranes, including exosomes, microvesicles and apoptotic bodies, which exert biological effects by transmitting molecules such as RNA and protein. In this review, RPE-derived extracellular vesicles (RPE-EVs) are involved in the regulation of oxidative stress, inflammation, and neovascularization in AMD. RPE-EVs derived Apaf1, HDAC6, miR-494-3p, miR-138-5p, miR-21, miR-543 and miR-302a-3p can be used as candidate molecular targets for the diagnosis and treatment of AMD, but their mechanisms of action have not been elucidated. Due to the unique advantages of high biocompatibility, low immunogenicity, low toxicity, targeting, stability, and specificity of RPE-EVs, it is necessary to further study the role of RPE-EVs in the pathogenesis of AMD, and focus on the role of RPE-EVs in the diagnosis and treatment of AMD, so as to realize the clinical transformation of RPE-EVs, and open up new ways for the diagnosis and treatment of AMD.

**【Key words】** Retinal pigment epithelium; Extracellular vesicles; Age-related macular degeneration; Oxidative stress; Inflammation; Neovascularization

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (82101162); Key Research and Development and Promotion Special Project of Henan Province (222102310061)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20230626-00022

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 是一种进行性视网膜退行性疾病, 是全球老年人不可逆视力丧失的主要原因之一。AMD 的发生和进展与遗传和环境因素的复杂相互作用有关<sup>[1]</sup>。AMD 的发病机制复杂, 涉及氧化应激、炎症反应激活、补体系统紊乱以及新生血管生成等诸多方面<sup>[2]</sup>。进展期 AMD 有新生血管性 (湿性、渗出性) 和地图样萎缩 (geographic atrophy, GA) 2 种主要形式。新生血管性 AMD (neovascular AMD, nAMD) 表现为黄斑区新生血管 (macular neovascularization, MNV) 侵入视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 下腔、视网膜下腔或视网膜内层, 其持续的渗漏和出血最终导致广泛的纤维化。尽管抗血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 治疗和激光治疗可以抑制 MNV 生长并减少其渗出, 但不能挽救已变性的 RPE 细胞和感光细胞。GA 的特征是黄斑区 RPE 细胞、光感受器和脉络膜毛细血管的进行性丧失, 逐渐融合形成黄斑中心凹地理性萎缩<sup>[3]</sup>, 目前尚无有效的治疗方法。由于 RPE 细胞变性和功能障碍是 AMD 发病的中心环节, RPE 细胞来源的细胞外囊泡 (RPE-derived extracellular vesicles, RPE-EVs) 也随之发生改变, 因此深入探讨 RPE-EVs 在 AMD 发病机制中的作用可为 AMD 的诊疗提供新思路。

## 1 RPE 细胞功能

RPE 是一种来源于视杯外层的神经上皮<sup>[4]</sup>。RPE 细胞是高度极化的规则多边形单层上皮细胞, 被细胞间紧密连接极化为顶端和基底外侧质膜域, 其顶端微绒毛与光感受器外节相连, 基底外侧与 Bruch 膜和脉络膜相连<sup>[5]</sup>。RPE 细胞可以维持光感受器和脉络膜的健康和功能完整性, 对视网膜内稳态、视觉循环和视觉功能的正常运作至关重要。RPE 细胞昼夜节律地吞噬清除脱落的光感受器外节, 维持感光细胞的正常更新; 其顶端的黑素体能吸收和过滤自然光, 防止视网膜发生光氧化应激损伤。RPE 细胞极化分泌多种细胞因子和生长因子, 如 VEGF, 促进 MNV 的形成。RPE 细胞通过血-视网膜屏障 (blood-retinal barrier, BRB) 的选择性通透机制, 参与脉络膜毛细血管和光感受器之间营养物质、离子、代谢废物和水的极性运输。同时, RPE 细胞通过分泌免疫调节因子, 如 TGF- $\beta$ 、 $\alpha$ -MSH 等, 抑制效应 T 细胞活化等多种免疫抑制机制, 维持眼部免疫豁免状态<sup>[5-7]</sup>。由于 RPE 细胞高度分化且不可再生, 其结构和功能障碍会引发 AMD 等视网膜退行性疾病。

## 2 细胞外囊泡

细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 是一类由磷脂双分子层包被的异质性纳米囊泡。根据细胞起源、生物发生、囊泡大小和功能特性, 可将 EVs 分为不同的亚型: (1) 外泌体 起源于内吞途径, 细胞膜内陷形成早期核内体, 其向内出芽成熟为多泡核内体, 然后与细胞膜融合将腔内囊泡分泌到细胞外, 最终形成直径为 30~150 nm 的外泌体; (2) 微囊泡 起源于质

膜的直接出芽, 直径为 100~1 000 nm; (3) 凋亡小体 起源于凋亡细胞的质膜脱落, 直径为 500~2 000 nm<sup>[8]</sup>。由于目前没有一种分离方法可以完全纯化区分上述 3 种亚型, 因此, 2018 年国际胞外囊泡协会发布的指南认为使用通用术语“EVs”更为合适<sup>[9]</sup>。EVs 可由机体内几乎所有的细胞产生, 并广泛存在于血液、泪液、房水及玻璃体液等各种体液中<sup>[10]</sup>。EVs 装载脂质、蛋白质、DNA 及 RNA 等生物信息, 通过自分泌、旁分泌和内分泌方式将这些信息传递给靶细胞, 从而发挥免疫调节、生物分子转运和生理调节等生物学效应<sup>[11]</sup>。蛋白质是 EVs 中种类最丰富、含量最多的物质, 如转运必需内体分选复合物 (endosomal sorting complex required for transport) 相关蛋白 (TSG101、Alix 等)、四酯蛋白 (CD63、CD81、CD82 等) 已经成为 EVs 特异性标记蛋白<sup>[9]</sup>。EVs 含有丰富的 RNA, 其中微小 RNA (microRNA, miRNA) 是主要组成成分。miRNA 是一类长度约为 22 个核苷酸的非编码 RNA, 通过与靶 mRNA 的 3' 非翻译区完全或部分互补结合, 诱导靶 mRNA 降解或抑制其翻译从而调控靶基因的表达<sup>[12]</sup>。在不同生理或病理状态下, 各细胞来源的 EVs 在数量、大小、内容物及分泌率等方面存在异质性<sup>[13]</sup>。

## 3 RPE-EVs 的特征

RPE 细胞极化分泌 EVs, 其顶端分泌的 EVs 与光感受器、Müller 细胞和视网膜神经上皮层的其他细胞进行信息传递; 基底外侧分泌的 EVs 通过重塑细胞外基质和调节血管生成来维持 Bruch 膜和脉络膜的正常结构<sup>[4]</sup>。对从人视网膜类器官中衍生出诱导的初级 RPE (ipRPE) 分泌的 EVs 进行蛋白质组学分析, 结果显示在顶端和基底外侧 ipRPE-EVs 中共鉴定出 481 种蛋白质, 其中 247 种仅存在于顶端 EVs 中, 53 种仅见于基底外侧 EVs 中<sup>[14]</sup>。不同生理或病理状态下 RPE-EVs 的 miRNA 谱也存在差异。与年轻 RPE-EVs 相比, 衰老 RPE-EVs 中 miR-184、miR-21、miR-10a 等的表达显著上调, miR-154、miR-199a、miR-224 等的表达显著下调<sup>[15]</sup>。应激状态下 RPE-EVs 表面的整合素、蛋白多糖和膜联蛋白 A2 配体水平升高, 这些对受体细胞识别并通过网格蛋白依赖性内吞作用摄取 RPE-EVs 至关重要<sup>[16]</sup>。RPE-EVs 可分泌至房水、玻璃体中, 或从脉络膜进入血液循环, 对这些体液进行 RPE-EVs 检测可有效获取疾病诊断和预后的信息, 但需要开发特异性的免疫捕获靶标来分离和鉴定体液中的 RPE-EVs<sup>[17-18]</sup>。不同生理或病理状态下, RPE-EVs 的数量和内容物有所不同, 其脂质双层膜可以保护内容物免受降解酶或化学物质的侵害。此外, RPE-EVs 具有高生物相容性、低免疫原性、低毒性、靶向性、稳定性等独特优势, 且其尺寸小, 易于穿过 BRB 等生物屏障。因此, RPE-EVs 作为药物传递的天然纳米载体具有巨大的潜力<sup>[19]</sup>。

## 4 RPE-EVs 在 AMD 发病机制中的作用

### 4.1 RPE-EVs 参与氧化应激

氧化应激是指由各种有害刺激引起的机体氧化和抗氧化

之间的不平衡。其主要特征是活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 增加, 导致细胞蛋白质、脂质和核酸的形态与功能异常<sup>[20]</sup>。由于持续暴露于自然光下, 视网膜组织特别是黄斑代谢活跃, RPE 细胞吞噬光感受器外节产生大量多不饱和脂肪酸, 从而加剧视网膜局部氧化代谢并产生大量的 ROS<sup>[21]</sup>。RPE 细胞对氧化应激敏感。在 AMD 的发生与发展中, 与年龄相关的累积氧化应激可引起 RPE 细胞进行性功能障碍, 最终导致 RPE 细胞变性和光感受器死亡。

氧化应激促进 RPE 细胞极化分泌更多的 EVs, RPE-EVs 以剂量依赖性方式降低 RPE 细胞的活力和吞噬作用, 增加细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 抑制剂 p15 和 p21 的表达, 进而诱导 RPE 细胞衰老<sup>[22]</sup>。凋亡蛋白酶激活因子 1 (apoptotic protease-activating factor 1, Apaf1) 是细胞凋亡内在通路中凋亡复合体形成的关键分子<sup>[23]</sup>。使用线粒体电子传递链复合物 I 抑制剂鱼藤酮诱导 ARPE-19 细胞氧化应激后, RPE-EVs 中 Apaf1 表达上调, 通过激活 caspase-9 通路促进 RPE 细胞凋亡、氧化损伤和炎症反应, 并抑制 RPE 细胞增殖<sup>[24]</sup>。组蛋白去乙酰化酶 6 (histone deacetylase 6, HDAC6) 是一种参与内皮细胞和上皮细胞屏障功能的酶, 通过  $\alpha$ -微管蛋白的去乙酰化损害紧密连接的完整性。在  $H_2O_2$  诱导的氧化应激条件下, RPE-EVs 中的 HDAC6 可以降低 RPE 细胞的屏障功能, 并引发 RPE 细胞的旁观者效应, 导致 RPE 细胞变性, 且此效应可被 HDAC6 抑制剂阻断<sup>[25]</sup>。因此, RPE-EVs 来源的 Apaf1 和 HDAC6 可能成为 AMD 治疗的候选分子靶点。

氧化应激可引起 RPE-EVs 中 miRNAs 的差异性表达。例如, miR-494-3p 作为一种常见的线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA), 在鱼藤酮处理的 ARPE-19 细胞释放的 EVs 中的水平升高<sup>[26]</sup>。有研究对比人氧化低密度脂蛋白组和对照组 RPE-EVs, 共筛选出 877 个显著差异表达的 miRNAs, 其中 272 个表达下调, 605 个表达上调; miR-138-5p、miR-345-5p、miR-210-5p、miR-34a-5p、miR-1908-5p、miR-1343-3p、miR-485-5p、miR-423-5p 和 miR-4488 与氧化应激和 AMD 相关<sup>[27]</sup>。这些 RPE-EVs 来源的 miRNAs 可作为 AMD 诊断和预后评估的潜在靶点。

#### 4.2 RPE-EVs 调节视网膜炎症反应

随着 AMD 的进展, 氧化或代谢应激不断加剧, 导致视网膜细胞长期持续受损, 视网膜免疫系统过度激活。RPE 细胞异常代谢产物 (如 EVs) 在 RPE 和 Bruch 膜之间异常沉积, 形成玻璃膜疣, 它起着集中免疫刺激点的作用, 可诱导巨噬细胞的募集和激活。活化的小胶质细胞为变形虫样形态, 并从视网膜内层向外层迁移, 甚至迁移到视网膜下腔, 从而加剧 RPE 变性和感光细胞死亡。病变的 RPE 细胞、浸润性巨噬细胞和活化的小胶质细胞分泌大量的促炎细胞因子和趋化因子, 过度激活补体系统, 从而引发副炎症失调<sup>[2, 28]</sup>。

RPE-EVs 介导 RPE 细胞与巨噬细胞之间的相互作用。RPE-EVs 通过激活 caspase-3/7 诱导巨噬细胞凋亡, 但此凋亡活性可以被 RPE 细胞释放的  $\alpha$ -黑色素细胞刺激激素 ( $\alpha$ -

melanocyte-stimulating hormone,  $\alpha$ -MSH) 抑制<sup>[29]</sup>。在 iPS 细胞来源的人 RPE 细胞和人单核细胞系 THP-1 细胞共培养模型中, iPS-hRPE 细胞释放含有更高水平 miR-494-3p 的 EVs, 诱导 THP-hMps 分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$ , 并促进 iPS-hRPE 细胞产生 MCP-1、IL-6、IL-8 和 VEGF, 研究表明 RPE-EVs 来源的 miR-494-3p 可能在恶性炎症循环中发挥关键作用<sup>[30-31]</sup>。此外, RPE-EVs 还介导 RPE 细胞与小胶质细胞之间的相互作用。慢性氧化应激诱导 ARPE-19 细胞顶端释放含氧化损伤 mtDNA 的 EVs, RPE-EVs 通过激活 mtDNA/ZBP1 信号通路诱导小胶质细胞的促炎表型<sup>[32]</sup>。研究表明 RPE-EVs 通过传递 miR-21 影响衰老视网膜中小胶质细胞 p53 信号通路下游基因的表达, 这可能是一种调节视网膜下小胶质细胞功能的机制<sup>[17]</sup>。RPE-EVs 来源的 miR-494-3p 和 miR-21 可能是 AMD 中调节免疫细胞活性的潜在 RNA 靶点。

RPE-EVs 和补体系统之间存在关联性。RPE-EVs 中鉴定出许多补体蛋白, 如 C4a、C4b、CFI、CFB、C1r、C1QB、C1S、C3 等<sup>[14]</sup>。RPE-EVs 还选择性富集补体调节蛋白, 如 CD46 和 CD59 等。在 AMD 相关应激源的刺激下, RPE-EVs 的补体蛋白增加并在 RPE 下腔或玻璃膜疣中积累, 募集免疫细胞进而激活补体系统和放大炎症反应<sup>[33]</sup>。最近发现核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors 3, NLRP3) 炎症小体的激活与 AMD 的发病机制有关。NLRP3 炎症小体的激活导致 caspase-1 介导的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 成熟, 最终导致细胞焦亡或凋亡。在光氧化蓝光刺激下, RPE-EVs 可能通过上调 NLRP3 炎症小体来加剧炎症反应<sup>[34]</sup>。

#### 4.3 RPE-EVs 调节新生血管生成

血流动力学研究揭示, 脉络膜血管功能障碍是 AMD 发生与发展的基础。血脂沉积和动脉粥样硬化导致血管壁增厚、血管腔狭窄以及血管顺应性降低, 进而引发脉络膜血流量减少和脉络膜血液灌注不足。脉络膜的低灌注状态可导致细胞缺氧和损伤, 继而刺激 VEGF 分泌增加<sup>[35-36]</sup>。VEGF 是调节血管生成和血管通透性的关键细胞因子, 可由 RPE 细胞、巨噬细胞、肥大细胞和活化的小胶质细胞产生, 其中 VEGF-A 是目前已知最强的促血管生成因子<sup>[37]</sup>。nAMD 的病理特征是 MNV 的形成, VEGF 的过量产生在 MNV 的形成中起着核心作用。

RPE-EVs 介导 RPE 细胞的上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 促进 MNV 形成。在 AMD 的进展过程中, RPE 细胞发生 EMT, 失去上皮特性, 转分化为间充质细胞, 迁移至视网膜下腔或 RPE 下腔, 过表达细胞外基质成分、细胞因子和生长因子 (如血管生成因子)<sup>[37-38]</sup>。研究指出, RPE 细胞的 EMT 与 MNV 形成有关<sup>[37]</sup>。使用转化生长因子  $\beta_2$  诱导 ARPE-19 细胞发生 EMT, 发现其释放的 EVs 中 miR-543 水平显著升高, 并促进正常 ARPE-19 细胞的 EMT, 推测 RPE-EVs 来源的 miR-543 可能在 MNV 的形成中发挥作用<sup>[39]</sup>。分别使用肿瘤坏死因子- $\alpha$  和转化生长因子  $\beta_2$  诱导 ARPE-19 细胞的 EMT, 发现其释放富含血管生成因子的 EVs, 促进人脐静脉血管内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 增生、迁移和管腔形成, 这可能促使 MNV 的发展<sup>[37]</sup>。

在体外实验中, RPE-EVs 被证实具有促进血管生成的能力。ARPE-19 细胞受到氧化损伤时会释放低表达 miR-302a-3p 的 EVs, 其通过靶向 VEGF-A mRNA 促进 HUVECs 的血管生成, miR-302a-3p 在此过程中作为 VEGF-A mRNA 的阻遏物对抗血管生成<sup>[40]</sup>。氧化诱导的 ARPE-19 细胞还会释放高表达 VEGF 受体-2 (VEGF receptor 2, VEGFR-2) 的 EVs, 促进 HUVECs 管腔形成, 且此效应可被靶向 VEGFR-2 的 miRNA 抑制<sup>[41]</sup>。顶端 RPE-EVs 以剂量依赖性方式促进内皮集落形成细胞的管腔形成和血管出芽, 这可能与以 VEGF-A 为核心的血管生成信号通路的转录本增加有关<sup>[42]</sup>。这些研究提示 RPE-EVs 来源的 miR-302a-3p、VEGFR-2、VEGF-A 可能在 nAMD 的 MNV 形成中有一定作用。

## 5 总结与展望

本文阐述了 RPE-EVs 如何通过传递 RNA 和蛋白质等内容物调节氧化应激、炎症反应以及新生血管生成等 AMD 病理生理过程。具体来说, RPE-EVs 来源的 Apaf1、HDAC6、miR-494-3p、miR-138-5p 等与氧化应激相关, C4a、C3、CD46、miR-494-3p、miR-21 等与炎症反应相关, VEGF-A、VEGFR-2、miR-543、miR-302a-3p 等与新生血管生成相关。这些 RPE-EVs 来源的 miRNAs 和蛋白质具有特异性、稳定性、靶向性等优势, 可作为诊断和治疗 AMD 的候选分子靶点, 但其作用机制还需进一步的研究来证实。

目前, 研究者主要在细胞和动物模型中探讨 RPE-EVs 在 AMD 发病机制中的作用, 而对 RPE-EVs 在 AMD 治疗中的作用研究很少<sup>[43]</sup>。Wang 等<sup>[44]</sup>创新性地将 RPE-EVs 递送到视网膜变性小鼠的视网膜下腔, 发现 RPE-EVs 对视觉损伤和光感受器死亡有治疗作用。虽然 RPE 细胞在实验室中易于大规模培养, 但目前尚缺乏一种标准的分离纯化方法能够同时保证 RPE-EVs 的纯度、含量和生物活性。因此, 明确 RPE-EVs 内容物的具体成分及其作用机制, 进而针对性地对 RPE-EVs 进行工程化改造, 显得尤为重要。此外, 利用 miRNA 模拟物和 miRNA 抑制剂调节内源性 miRNA 的表达, 使用 miRNA 调节剂修饰 RPE-EVs 可以为 AMD 的治疗提供新策略<sup>[45]</sup>。RPE-EVs 已被证实小鼠视网膜下腔递送引起的机械破坏较少并有效保护视网膜正常结构, 但其长期安全性和有效性仍需大量系统的体内研究来验证<sup>[44]</sup>。随着 EVs 研究领域的迅猛发展, 相信在不久的将来, RPE-EVs 在 AMD 治疗中的临床应用将成为可能, 为 AMD 患者的视力改善带来新的希望。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

[1] Bharti K, den Hollander AI, Lakkaraju A, et al. Cell culture models to study retinal pigment epithelium-related pathogenesis in age-related macular degeneration [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2022, 222 : 109170 [2023-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35835183/>. DOI: 10.1016/j.exer.2022.109170.

[2] Fleckenstein M, Keenan T, Guymer RH, et al. Age-related macular degeneration [J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7 (1) : 31 [2023-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33958600/>. DOI: 10.

1038/s41572-021-00265-2.

[3] Stahl A. The diagnosis and treatment of age-related macular degeneration [J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2020, 117 (29-30) : 513-520. DOI: 10.3238/arztebl.2020.0513.

[4] Lakkaraju A, Umapathy A, Tan LX, et al. The cell biology of the retinal pigment epithelium [J/OL]. *Prog Retin Eye Res*, 2020, 78 : 100846 [2023-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32105772/>. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2020.100846.

[5] Yang S, Zhou J, Li D. Functions and diseases of the retinal pigment epithelium [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 12 : 727870 [2023-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34393803/>. DOI: 10.3389/fphar.2021.727870.

[6] Baba K, Goyal V, Tosini G. Circadian regulation of retinal pigment epithelium function [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (5) : 2699 [2023-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35269840/>. DOI: 10.3390/ijms23052699.

[7] Zhou M, Geathers JS, Grillo SL, et al. Role of epithelial-mesenchymal transition in retinal pigment epithelium dysfunction [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8 : 501 [2023-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32671066/>. DOI: 10.3389/fcell.2020.00501.

[8] Rajoul Dezfily A, Safaei A, Salehi H. Therapeutic effects of mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles' miRNAs on retinal regeneration; a review [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12 (1) : 530 [2023-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34620234/>. DOI: 10.1186/s13287-021-02588-z.

[9] Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines [J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7 (1) : 1535750 [2023-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30637094/>. DOI: 10.1080/20013078.2018.1535750.

[10] Rudraprasad D, Rawat A, Joseph J. Exosomes, extracellular vesicles and the eye [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2022, 214 : 108892 [2023-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34896308/>. DOI: 10.1016/j.exer.2021.108892.

[11] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19 (4) : 213-228. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.

[12] Kargutkar N, Hariharan P, Nadkarni A. Dynamic interplay of microRNA in diseases and therapeutic [J]. *Clin Genet*, 2023, 103 (3) : 268-276. DOI: 10.1111/cge.14256.

[13] Hu W, Liu C, Bi ZY, et al. Comprehensive landscape of extracellular vesicle-derived RNAs in cancer initiation, progression, metastasis and cancer immunology [J/OL]. *Mol Cancer*, 2020, 19 (1) : 102 [2023-05-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32503543/>. DOI: 10.1186/s12943-020-01199-1.

[14] Flores-Bellver M, Mighty J, Aparicio-Domingo S, et al. Extracellular vesicles released by human retinal pigment epithelium mediate increased polarised secretion of drusen proteins in response to AMD stressors [J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10 (13) : e12165 [2023-05-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34750957/>. DOI: 10.1002/jev2.12165.

[15] Morris DR, Bounds SE, Liu H, et al. Exosomal miRNA transfer between retinal microglia and RPE [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (10) : 3541 [2023-05-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32429541/>. DOI: 10.3390/ijms21103541.

[16] Nicholson C, Shah N, Ishii M, et al. Mechanisms of extracellular vesicle uptake in stressed retinal pigment epithelial cell monolayers [J/OL]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866 (3) : 165608 [2023-05-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31740401/>. DOI: 10.1016/j.bbdis.2019.165608.

[17] Klingeborn M, Skiba NP, Stamer WD, et al. Isolation of retinal exosome biomarkers from blood by targeted immunocapture [J/OL]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1185 : 21-25 [2023-05-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31884583/>. DOI: 10.1007/978-3-030-27378-1\_4.



- [18] Zhang H, Zhang X, Li X. Intraocular exosomes in eye diseases[J]. *Curr Mol Med*, 2022, 22(6): 540-548. DOI: 10.2174/1566524021666210901122948.
- [19] Marcu IC, Eberhard N, Yerly A, et al. Isolation of human small extracellular vesicles and tracking of their uptake by retinal pigment epithelial cells *in vitro* [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 3799 [2023-05-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32471212/>. DOI: 10.3390/ijms21113799.
- [20] Tong Y, Wang S. Not all stressors are equal; mechanism of stressors on RPE cell degeneration [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 591067 [2023-05-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33330470/>. DOI: 10.3389/fcell.2020.591067.
- [21] Zhang ZY, Bao XL, Cong YY, et al. Autophagy in age-related macular degeneration; a regulatory mechanism of oxidative stress [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 2896036 [2023-05-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32831993/>. DOI: 10.1155/2020/2896036.
- [22] Yang C, Shani S, Tahiri H, et al. Extracellular microparticles exacerbate oxidative damage to retinal pigment epithelial cells [J/OL]. *Exp Cell Res*, 2020, 390(1): 111957 [2023-05-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32173468/>. DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.111957.
- [23] Ohta E, Itoh M, Ueda M, et al. Cullin-4B E3 ubiquitin ligase mediates Apaf-1 ubiquitination to regulate caspase-9 activity [J/OL]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0219782 [2023-05-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31329620/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0219782.
- [24] Ke Y, Fan X, Rui H, et al. Exosomes derived from RPE cells under oxidative stress mediate inflammation and apoptosis of normal RPE cells through Apaf1/caspase-9 axis [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(12): 4849-4861. DOI: 10.1002/jcb.29713.
- [25] Shah N, Ishii M, Brandon C, et al. Extracellular vesicle-mediated long-range communication in stressed retinal pigment epithelial cell monolayers [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(8): 2610-2622. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.04.016.
- [26] Ahn JY, Datta S, Bandeira E, et al. Release of extracellular vesicle miR-494-3p by ARPE-19 cells with impaired mitochondria [J/OL]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2021, 1865(4): 129598 [2023-05-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32240720/>. DOI: 10.1016/j.bbagen.2020.129598.
- [27] Mao K, Wu X. Microarray analysis of small extracellular vesicle-derived miRNAs involved in oxidative stress of RPE cells [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 7658921 [2023-05-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33194007/>. DOI: 10.1155/2020/7658921.
- [28] Ambati J, Atkinson JP, Gelfand BD. Immunology of age-related macular degeneration [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(6): 438-451. DOI: 10.1038/nri3459.
- [29] Sanjiv N, Osathanugrah P, Fraser E, et al. Extracellular soluble membranes from retinal pigment epithelial cells mediate apoptosis in macrophages [J/OL]. *Cells*, 2021, 10(5): 1193 [2023-05-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34068205/>. DOI: 10.3390/cells10051193.
- [30] Mukai A, Otsuki Y, Ito E, et al. Mitochondrial miRNA494-3p in extracellular vesicles participates in cellular interplay of iPS-Derived human retinal pigment epithelium with macrophages [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2021, 208: 108621 [2023-05-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34000275/>. DOI: 10.1016/j.exer.2021.108621.
- [31] Otsuki Y, Ito E, Mukai A, et al. CD63<sup>+</sup> extracellular vesicles from retinal pigment epithelial cells participate in crosstalk with macrophages in the innate inflammatory axis [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2021, 205: 108496 [2023-05-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33610602/>. DOI: 10.1016/j.exer.2021.108496.
- [32] Saada J, McAuley RJ, Marcatti M, et al. Oxidative stress induces Z-DNA-binding protein 1-dependent activation of microglia via mtDNA released from retinal pigment epithelial cells [J/OL]. *J Biol Chem*, 2022, 298(1): 101523 [2023-05-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34953858/>. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.101523.
- [33] Chatterjee A, Singh R. Extracellular vesicles: an emerging player in retinal homeostasis [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1059141 [2023-05-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37181750/>. DOI: 10.3389/fcell.2023.1059141.
- [34] Zhang W, Ma Y, Zhang Y, et al. Photo-Oxidative blue-light stimulation in retinal pigment epithelium cells promotes exosome secretion and increases the activity of the NLRP3 inflammasome [J]. *Curr Eye Res*, 2019, 44(1): 67-75. DOI: 10.1080/02713683.2018.1518458.
- [35] Deng Y, Qiao L, Du M, et al. Age-related macular degeneration; epidemiology, genetics, pathophysiology, diagnosis, and targeted therapy [J]. *Genes Dis*, 2022, 9(1): 62-79. DOI: 10.1016/j.gendis.2021.02.009.
- [36] Song D, Liu P, Shang K, et al. Application and mechanism of anti-VEGF drugs in age-related macular degeneration [J/OL]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 943915 [2023-05-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36213057/>. DOI: 10.3389/fbioe.2022.943915.
- [37] Fukushima A, Takahashi E, Saruwatari J, et al. The angiogenic effects of exosomes secreted from retinal pigment epithelial cells on endothelial cells [J/OL]. *Biochem Biophys Res*, 2020, 22: 100760 [2023-05-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32420462/>. DOI: 10.1016/j.bbrep.2020.100760.
- [38] Shu DY, Butcher E, Saint-Geniez M. EMT and EndMT: emerging roles in age-related macular degeneration [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4271 [2023-05-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32560057/>. DOI: 10.3390/ijms21124271.
- [39] Zhang Y, Wang K, Pan J, et al. Exosomes mediate an epithelial-mesenchymal transition cascade in retinal pigment epithelial cells; implications for proliferative vitreoretinopathy [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(22): 13324-13335. DOI: 10.1111/jcmm.15951.
- [40] Ultra M, Martínez-Santos M, Ybarra M, et al. Oxidative-induced angiogenesis is modulated by small extracellular vesicle miR-302a-3p cargo in retinal pigment epithelium cells [J/OL]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(5): 818 [2023-05-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35624680/>. DOI: 10.3390/antiox11050818.
- [41] 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.
- [42] Kurzawa-Akanbi M, Whitfield P, Burté F, et al. Retinal pigment epithelium extracellular vesicles are potent inducers of age-related macular degeneration disease phenotype in the outer retina [J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(12): e12295 [2023-05-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36544284/>. DOI: 10.1002/jev2.12295.
- [43] 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.
- [44] Wang Y, Zhang Q, Yang G, et al. RPE-derived exosomes rescue the photoreceptors during retina degeneration; an intraocular approach to deliver exosomes into the subretinal space [J]. *Drug Deliv*, 2021, 28(1): 218-228. DOI: 10.1080/10717544.2020.1870584.
- [45] Ho PTB, Clark IM, Le LTT. MicroRNA-based diagnosis and therapy [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7167 [2023-05-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35806173/>. DOI: 10.3390/ijms23137167.

(收稿日期: 2023-08-31 修回日期: 2024-06-22)

(本文编辑: 张宇 骆世平)