

骨髓间充质干细胞外泌体中 miRNA 在视网膜新生血管形成中的作用及机制

张璐,王雅芬,叶亚婷,白倩,郭长梅

引用:张璐,王雅芬,叶亚婷,等. 骨髓间充质干细胞外泌体中 miRNA 在视网膜新生血管形成中的作用及机制. 国际眼科杂志 2022;22(6):936-940

基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划重点项目(No.2021JZ-30);国家自然科学基金面上项目(No.81470655);西京医院学科助推计划多学科综合诊疗项目(No.XJZT19MDT12)

作者单位:(710032)中国陕西省西安市,空军军医大学西京医院眼科 全军眼科研究所

作者简介:张璐,女,在读硕士研究生,研究方向:眼内血管增生性疾病。

通讯作者:郭长梅,女,眼科学博士,副教授,副主任医师,研究方向:眼内血管增生性疾病. gem2@163.com

收稿日期:2021-08-05 修回日期:2022-04-27

摘要

视网膜血管疾病如早产儿视网膜病变、糖尿病视网膜病变和视网膜静脉阻塞等以异常增生的视网膜新生血管为主要病理表现。骨髓间充质干细胞来源外泌体通过旁分泌作用传递生物活性分子介导细胞间的物质与信息交换。其中,miRNA 等内容物在传递信息中起关键作用,可调控缺血缺氧环境下内皮细胞的增殖、管腔形成和新生血管的形成。并且能够通过血视网膜屏障而不引起免疫、炎症反应,在眼科疾病治疗中极具潜力。本文总结骨髓间充质干细胞衍生外泌体中 miRNA 在视网膜新生血管形成中的作用和可能的作用机制,以期外泌体在眼科疾病诊治中的应用拓宽新思路。

关键词:骨髓间充质干细胞;外泌体;miRNA;视网膜新生血管

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.6.10

The role and mechanism of miRNA in exosomes of bone marrow mesenchymal stem cells in retinal neovascularization

Lu Zhang, Ya-Fen Wang, Ya-Ting Ye, Qian Bai, Chang-Mei Guo

Foundation items: Shaanxi Natural Science Basic Research Project (No. 2021JZ-30); Natural Science Foundation of China (No. 81470655); Academic Pushing Project of Xijing Hospital (No. XJZT19MDT12)

Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical of University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Chang - Mei Guo. Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical of University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. gem2@163.com

Received: 2021-08-05 Accepted: 2022-04-27

Abstract

• Retinal vascular diseases such as retinopathy of prematurity, diabetic retinopathy, and retinal vein occlusion, and other retinal vascular diseases, with abnormal proliferation of retinal neovascularization as the main pathological manifestation. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells transmit biologically active molecules through paracrine action to mediate the exchange of materials and information between cells. Among them, miRNA and other contents play key roles in transmitting information to regulate the proliferation of endothelial cells, the formation of the lumen, and new blood vessels in an ischemic and hypoxic environment. And it can cross the blood-retinal barrier without causing immune and inflammatory reactions and has great potential in the treatment of ophthalmic diseases. This article summarizes the role and possible mechanism of miRNA in bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes in retinal neovascularization, with a view to broadening new ideas for the application of exosomes in the diagnosis and treatment of ophthalmic diseases.

• KEYWORDS: bone marrow mesenchymal stem cells; exosomes; miRNA; retinal neovascularization

Citation: Zhang L, Wang YF, Ye YT, et al. The role and mechanism of miRNA in exosomes of bone marrow mesenchymal stem cells in retinal neovascularization. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(6):936-940

0 引言

视网膜血管疾病如早产儿视网膜病变 (retinopathy of prematurity, ROP)、糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 和视网膜静脉阻塞等以异常增生的视网膜新生血管为主要病理表现。在该类病变中,均有不同程度的视网膜血管损害导致的血管闭塞,进一步引起视网膜缺血而促进异常视网膜新生血管 (retinal neovascularization, RNV) 的增生^[1]。RNV 异常的细胞组成损害血视网膜屏障,血管的脆性增加易导致视网膜出血、渗出、玻璃体腔出血甚至纤维血管增殖牵拉致视网膜脱离,使视力恶化甚至丧失^[2]。现多以激光光凝、抗血管

内皮生长因子药物或手术治疗^[3],但均有不同程度的限制性和并发症。近年来有研究表明,骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)通过旁分泌作用释放的外泌体(exosomes, Exo)可有效降低氧诱导视网膜病变模型小鼠(oxygen-induced retinopathy, OIR)视网膜缺血的程度。本文阐明了 BMSCs 及其衍生 Exo-miRNA 对 RNV 形成的作用及机制。

1 骨髓间充质干细胞和外泌体及外泌体源性 miRNA 概述

1.1 骨髓间充质干细胞概述

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种来源于骨髓、脂肪、脐带和胎盘组织,以炎症分解、伤口愈合和维持具有高异质性的内稳态而闻名的祖细胞^[4],具有塑性黏附性和多谱系分化特性,而且还能表达特定的表面标记^[5]。被认为在疾病治疗方面极具潜力,但近来研究表明,玻璃体腔内直接注射 MSCs 可能诱导正常和病变视网膜的血管扩张、白内障和视网膜炎症反应,这表明使用干细胞治疗视网膜疾病存在一定风险^[6]。然而其旁分泌效应产生的营养和免疫抑制因子等,能够通过血视网膜屏障而无明显免疫、炎症反应,可以作为葡萄膜炎、青光眼、视网膜和眼表疾病细胞治疗的新型治疗药物^[7]。因此,在新生血管性视网膜疾病中,BMSCs 对损伤视网膜的旁分泌营养效应可能是一种比直接细胞治疗视网膜功能障碍更安全有效的方法^[8]。

1.2 外泌体概述

Exo 是细胞内多囊泡体与细胞膜融合后释放到胞外基质中,以旁分泌等途径到达受体细胞,通过细胞表面结合蛋白或膜融合传递物质的一类直径约为 30~100nm 的膜性囊泡^[9-10]。其来源和分布广泛,可由多种细胞所分泌。Exo 的内容物丰富,含有细胞因子、蛋白、RNA、miRNA 和脂质等,参与了如免疫应答、细胞间通讯、蛋白质和 RNA 转运等多种生理过程,是一种重要的细胞间物质和信息交流的工具^[11-12]。

1.3 外泌体源性 miRNA 概述

MicroRNA 是一种小分子量单链非编码 RNA,可以通过抑制 mRNA 翻译或促进 mRNA 降解来下调靶基因的表达,作为负性调节蛋白质编码基因而促进生理和病理血管生成^[13-14]。Exo 对疾病的作用与 miRNA 有着密切的关系。心肌缺血等疾病中,BMSCs 分泌包含有 miR-125b 的 Exo 可通过靶向 SIRT7 途径保护心肌细胞以免受缺血再灌注损伤^[15]。卵巢疾病中,携带有 miR-644-5p 的 BMSCs-Exo 通过靶细胞的 p53 来改善卵泡形态、抑制卵巢颗粒细胞的凋亡,对卵巢功能早衰恢复卵巢功能具有潜在治疗效果^[16]。同样,Exo 在眼部疾病中的作用与 miRNA 的重要关系也已被证实。青光眼中,BMSCs 衍生的 Exo 对视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)及轴突的神经保护作用,正是通过 Exo 成功地将多种 miRNA 递送到视网膜内层,与效应分子 Argonaute-2 相互作用促进 RGC 的存活及其轴突的再生^[17]。

已有研究表明,肿瘤细胞的 Exo 能够调控免疫功能、促进肿瘤血管新生和侵袭而参与肿瘤的发生、发展和转移^[18-19]。由于肿瘤形成发展过程伴随着含 miRNA 的 Exo 向胞外基质的释放,并且在所有的生物体液中几乎均可发现由各类细胞衍生的 Exo,使它们作为微创性液体活检的一种方式极具吸引力^[20]。如体循环 Exo-miR-21 升高与胶质细胞瘤、胰腺癌、结直肠癌、乳腺癌、卵巢癌和食管癌有关,尿源性 Exo-miR-21 升高与膀胱癌和前列腺癌有关^[21]。因此,对体液中 Exo 及 Exo-miRNA 的检测将为肿

瘤的临床诊断和预后评估提供新的方式^[22]。与肿瘤类似,新生血管性视网膜疾病中,也有血管异常增生的现象,且在眼部疾病中,Exo 及 Exo-miRNA 越来越被认为是调节视觉系统中细胞间通信的重要因子,并且现在正作为生物标志物、治疗剂和药物递送载体被广泛探索^[23]。

由于目前眼科研究中,视网膜新生血管形成相关研究大多以人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)作为视网膜内皮细胞的替代,故本文通过介绍 BMSCs 来源 Exo-miRNA 对 HUVECs 的作用,说明在视网膜血管疾病中可能的作用及机制。

2 BMSCs 调控新生血管形成的作用及机制

2.1 BMSCs 直接调控新生血管形成

既往已有研究证实 BMSCs 释放血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、IL-6 等血管生长因子来促进新生血管形成^[24]。对比骨髓和人胎盘来源 MSCs 条件培养基中的血管生长因子,可见 BMSCs 来源培养基中,VEGF、肝细胞生长因子、胰岛素样生长因子结合蛋白 IGFBP2 和 IGFBP6 的水平明显较高^[25]。Hou 等^[26]已证明了 BMSCs 在眼内对脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)病变所产生的影响,缺氧诱导 miR-188-5p 的降低直接上调基质金属蛋白酶 2(MMP-2)和基质金属蛋白酶 13(MMP-13)的表达促进 BMSCs 等骨髓来源干细胞向 CNV 病变发生处迁移,从而促进了脉络膜中病理性新生血管的形成而增加 CNV 病变的严重程度。

2.2 巨噬细胞介导 BMSCs 调控新生血管形成

BMSCs 还可在巨噬细胞的介导下促进新生血管形成。BMSCs 可在 M2 型巨噬细胞通过 VEGF 和趋化因子基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)等细胞因子介导下发生动员、迁移并募集至缺氧的视网膜中,进一步分化为血管内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞等血管细胞及结缔组织细胞促进新生血管形成,而参与 RNV 的形成^[27-28]。

去除 OIR 小鼠模型玻璃体内的巨噬细胞可减缓 RNV 病变程度,表明缺血缺氧引发的病理性新生血管与巨噬细胞的聚集有关^[29]。OIR 小鼠模型中,在该过程中起主要作用的色素上皮衍生因子(PEDF)是一种天然的病理性血管生成抑制剂,通过调节 MAPKs 的磷酸化来介导巨噬细胞的极化。MAPKs 的激活影响 M2 型巨噬细胞极化,而 Notch1 途径影响 M1 型巨噬细胞极化,虽然 M1 和 M2 型巨噬细胞在体内外均可促进新生血管形成,但与 HUVECs 的共培养中,M2 型巨噬细胞在促进细胞增殖中更具潜力^[30]。对比 M1 和 M2 型巨噬细胞与人视网膜内皮细胞共培养后对内皮细胞的增殖程度和管腔形成的提高效果,可见 M2 型巨噬细胞增加的程度更为显著^[31]。

除自身促进血管生成的效应外,M2 型巨噬细胞还可在缺氧条件下促进 BMSCs 的迁移和分化。将 BMSCs 注射入心肌中,邻近 BMSCs 的巨噬细胞表现出 M2 标记物精氨酸酶-1(Arg1)的强表达。体外实验 BMSCs 共培养骨髓源性巨噬细胞,诱导型一氧化氮合酶(iNOS)等 M1 标志物明显减少,Arg1 等 M2 标志物显著增加^[32]。用 M2 型巨噬细胞的培养基培养 BMSCs,可检测到 SDF-1、CXCR4、VEGF 和 MMP-9 的表达增高,表明 M2 型巨噬细胞通过 SDF-1/CXCR4 信号通路在促进 BMSCs 的迁移分化,进而促进新生血管形成的过程中发挥重要作用。

3 BMSCs-Exo 调控新生血管形成的作用及机制

近年来研究表明,在心血管疾病中,内皮细胞功能改变在疾病发展不同阶段起关键作用^[33]。该进程由 BMSCs 通过旁分泌释放 Exo 调控, BMSCs-Exo 在体外促进 HUVECs 的管腔形成,而且在心肌梗死小鼠模型中,也具有增强心脏血管密度和募集心脏祖细胞能力^[34]。另外, BMSCs-Exo 可通过调控 miR-494 等 miRNA 的含量增强血管生成^[35]。

Bian 等^[36]发现缺氧刺激下 BMSCs 可释放细胞外囊泡,迅速被 HUVECs 摄取,能够以剂量依赖性的方式促进 HUVECs 的增殖、迁移和管腔形成。体外模拟外周动脉疾病, MSCs 释放 Exo 的剂量与新生血管形成之间形成剂量依赖关系,当浓度最高达到 100ng/mL 时促血管生成能力降低^[37]。其机制与 NF- κ B 信号通路有关, NF- κ B 信号通路可调节细胞生长分化和存活发育,是重要的血管生成调节通路^[38]。在抑制了 NF- κ B 信号通路之后 Exo 诱导管腔形成的能力显著下降,证明了 NF- κ B 信号通路在 Exo 介导的新生血管形成中的重要作用,且该作用具有显著的剂量依赖效应^[37]。

4 BMSCs 来源 Exo-miRNA 调控新生血管形成的作用及机制

4.1 Exo-miRNA 促进新生血管形成的作用及机制 Gong 等^[39]学者的研究发现 MSCs-Exo 可促进 HUVECs 管腔结构的形成。在抑制 Exo 中 miR-30b 的表达后,血管生成的能力显著降低。这证明了 MSCs 通过释放 Exo 将 miR-30b、miR-30c、miR-424、let-7f 转移至内皮细胞来动员内皮细胞增殖、迁移和形态改变而促进血管生成。此外, MSCs-Exo 所包含的生长因子、细胞因子和趋化因子也可能参与血管生成。

新生血管性视网膜疾病主要改变是病理性增生的 RNV, RNV 的形成与缺氧有密不可分的关系。在缺氧环境中,会产生更多的活性氧(reactive oxygen species, ROS)来介导缺氧诱导的细胞反应,当 ROS 的产生超过内源性抗氧化剂的能力时,就会发生氧化应激^[40]。检测缺氧刺激后的 OIR 小鼠视网膜可见 ROS 的大量积累,组织缺氧和 ROS 使得 VEGF-A 和缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)表达明显增加而介导新生血管的形成^[41]。HIF-1 α 在 100 多个基因的转录控制中起关键作用,这些基因调控血管生成、葡萄糖和能量代谢、红细胞生成、细胞增殖和活力等功能^[42]。Sun 等^[43]将 HIF-1 α 过表达的 BMSCs-Exo 与缺氧处理的 HUVECs 共培养,可显著提高新生血管管腔的长度和数量。

Zhu 等^[34]对 BMSCs 缺氧处理诱导细胞中 HIF-1 α 升高,升高的 HIF-1 α 通过直接调控中性鞘磷脂酶-2(nSMase2)的表达使其较常氧环境下显著增加,增强 BMSCs-Exo 释放及囊泡活性,而上调 Exo-miR-210 含量,进而提高 HUVECs 中 VEGF 含量以促进血管生成,增强血管内皮细胞的管腔形成能力及心脏保护作用。这可能是由于 HIF-1 α 调控异质性胞核糖核蛋白(hnRNPs)的表达,使得 miR-210 通过与 RNA 结合蛋白结合形成复合物呈 hnRNPs 依赖性途径运输到 Exo 中,以保持稳定性并发挥生物合成及信息交换等关键作用^[44-45]。另一方面, HIF-1 α 通过结合鞘磷脂酶二酯酶 3(SMPD3)基因启动子序列中假定的缺氧反应元件(HREs)导致下游靶点

nSMase2 表达增加了神经酰胺的产生,进一步促进包含有 miR-210 的 Exo 装载释放^[34]。

其中,Exo 随旁分泌到达靶细胞后通过与特定表面蛋白的受体结合,触发融合作用而直接与质膜融合,或由靶细胞内吞作用将其内容物释放到目标细胞质中^[9]。BMSCs-Exo 中所含的 Jagged1 作为关键参与者介导该过程。Jagged1 是 Notch 信号的配体,随 HIF-1 α 升高而在细胞与 BMSCs-Exo 中均有显著升高,通过介导 HUVECs 中 Notch 信号靶基因 HES1 和 HEY2 的表达促进血管形成^[46]。

王雅芬等^[47]收集缺氧条件下的 BMSCs 条件培养基,与视网膜脉络膜组合细胞(RF/6A)共培养后检测细胞的迁移能力和管腔形成能力,均可见明显提升。也就是说 BMSCs 对 RF/6A 可起到相同的促进内皮细胞迁移和管腔形成作用,该作用通过 BMSCs 的条件培养基产生,说明很可能同样由 Exo 及其中的 miRNA 介导,故进一步探索 Exo-miRNA 在 RNV 和 CNV 形成中的作用及机制具有重要意义。

4.2 Exo-miRNA 抑制新生血管形成的作用及机制

Exo-miRNA 不仅可以促进 RNV 形成参与视网膜血管疾病的发生发展过程,还可以抑制 RNV 形成对该类疾病起治疗效果。如在 DR 中,高糖诱导内皮细胞中 ROS 增加发生氧化应激,继之视网膜微血管内皮细胞损伤而 RNV 形成是 DR 的病理生理学表现之一^[48]。此过程中可检测到视网膜 Müller 细胞中的 VEGF 等促进新生血管形成相关因子增加。Li 等^[49]检测 DR 视网膜细胞中各项指标的变化情况,发现 miR-486-3p 的表达量显著降低以及 TLR4、NF- κ B 的表达量显著上调。miR-486-3p 具有抗氧化应激,减少 ROS 的作用,在肿瘤细胞、2 型糖尿病、PM2.5 导致的肺泡上皮细胞损伤中均有所降低^[50-52]。TLR4、NF- κ B 则与抑制视网膜内皮细胞氧化应激及炎症相关,TLR4 在伴随微血管并发症的糖尿病患者单核细胞中表达增高^[53]。将 BMSCs 来源的 Exo-miR-486-3p 与 Müller 细胞共培养后,VEGF 等促血管形成相关因子的表达量有所下降,从而抑制了高糖环境中视网膜新生血管的形成。同时,miR-486-3p 可通过 TLR4/NF- κ B 信号通路减少氧化应激造成的细胞损伤^[49]。由此可见, BMSCs 来源 Exo-miRNA 不仅在疾病的发生中起作用,还可在视网膜血管疾病的治疗中发挥积极效应。

5 小结与展望

Exo 作为一种性质较为稳定的物质,其易保存和运输的特性极大提升了在治疗等领域的应用价值。近期 Yao 等^[54]为拓宽 Exo 在心肌缺血治疗方面的应用,开创了一种内含 Exo 的微创喷雾制剂来在最大限度保留 Exo 生物功能的基础上避免开胸手术等创伤性治疗方式,达到增强心脏功能,减少心肌梗死面积的疗效。同样,在眼科疾病的诊断与治疗过程中,Exo 及 Exo 来源 miRNA 与角膜损伤、DR、青光眼和葡萄膜黑色素瘤等疾病存在密切关系^[55-56]。Moisseive 等^[57]将 BMSCs-Exo 注射入 OIR 小鼠玻璃体腔,可显著减缓视网膜缺血严重程度和视网膜新生血管的发展,而无炎症及免疫反应的发生。这与部分体外实验中 BMSCs-Exo 对内皮细胞的作用相反,可能与其所处的微环境相关。因此,本文简要概述 BMSCs 来源 Exo-miRNA 在 RNV 形成的发病机制中所起的作用及机

制,有利于为全面认识其应用方式以及潜在治疗效果提供帮助。故进一步探索 BMSCs-Exo 在 RNV 和 CNV 等新生血管性眼病中的作用及机制,以及不同作用效果产生的微环境及条件对于 BMSCs-Exo 以安全、有效的方式运用于临床实践具有重要的意义。

参考文献

- 1 Campochiaro PA. Ocular neovascularization. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91(3):311-321
- 2 Zhang SX, Ma JX. Ocular neovascularization: implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Prog Retin Eye Res* 2007;26(1):1-37
- 3 Dogra MR, Katoch D, Dogra M. An update on retinopathy of prematurity (ROP). *Indian J Pediatr* 2017;84(12):930-936
- 4 Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell* 2013;13(4):392-402
- 5 Maqsood M, Kang MZ, Wu XT, et al. Adult mesenchymal stem cells and their exosomes: Sources, characteristics, and application in regenerative medicine. *Life Sci* 2020;256:118002
- 6 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
- 7 Joe AW, Gregory-Evans K. Mesenchymal stem cells and potential applications in treating ocular disease. *Curr Eye Res* 2010; 35(11): 941-952
- 8 Park SS, Moisseiev E, Bauer G, et al. Advances in bone marrow stem cell therapy for retinal dysfunction. *Prog Retin Eye Res* 2017; 56: 148-165
- 9 Cocucci E, Meldolesi J. Ectosomes and exosomes: shedding the confusion between extracellular vesicles. *Trends Cell Biol* 2015;25(6): 364-372
- 10 Harrell CR, Simovic Markovic B, Fellabaum C, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes in the treatment of eye diseases. *Adv Exp Med Biol* 2018;1089:47-57
- 11 Anand S, Samuel M, Kumar S, et al. Ticket to a bubble ride: cargo sorting into exosomes and extracellular vesicles. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom* 2019;1867(12):140203
- 12 Tang MKS, Wong AST. Exosomes: Emerging biomarkers and targets for ovarian cancer. *Cancer Lett* 2015;367(1):26-33
- 13 Anand S, Majeti BK, Acevedo LM, et al. microRNA-132-mediated loss of p120RasGAP activates the endothelium to facilitate pathological angiogenesis. *Nat Med* 2010;16(8):909-914
- 14 Dews M, Homayouni A, Yu DN, et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a myc-activated microRNA cluster. *Nat Genet* 2006;38(9):1060-1065
- 15 Chen Q, Liu Y, Ding XY, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-secreted exosomes carrying microRNA - 125b protect against myocardial ischemia reperfusion injury via targeting SIRT7. *Mol Cell Biochem* 2020;465(1-2):103-114
- 16 Sun B, Ma YJ, Wang F, et al. miR - 644 - 5p carried by bone mesenchymal stem cell - derived exosomes targets regulation of p53 to inhibit ovarian granulosa cell apoptosis. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10(1):360
- 17 Mead B, Ahmed Z, Tomarev S. Mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles promote neuroprotection in a genetic DBA/2J mouse model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(13):5473-5480
- 18 Syn N, Wang LZ, Sethi G, et al. Exosome-mediated metastasis: from epithelial - mesenchymal transition to escape from immunosurveillance. *Trends Pharmacol Sci* 2016;37(7):606-617

- 19 Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer. *J Clin Invest* 2016;126(4):1208-1215
- 20 Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science* 2020;367(6478):eaau6977
- 21 Salehi M, Sharifi M. Exosomal miRNAs as novel cancer biomarkers: challenges and opportunities. *J Cell Physiol* 2018;233(9):6370-6380
- 22 Guo L, Guo N. Exosomes: Potent regulators of tumor malignancy and potential bio-tools in clinical application. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 95(3):346-358
- 23 van der Merwe Y, Steketee MB. Extracellular vesicles: biomarkers, therapeutics, and vehicles in the visual system. *Curr Ophthalmol Rep* 2017;5(4):276-282
- 24 Wang CY, Yang HB, Hsu HS, et al. Mesenchymal stem cell - conditioned medium facilitates angiogenesis and fracture healing in diabetic rats. *J Tissue Eng Regen Med* 2012;6(7):559-569
- 25 Komaki M, Numata Y, Morioka C, et al. Exosomes of human placenta-derived mesenchymal stem cells stimulate angiogenesis. *Stem Cell Res Ther* 2017;8(1):219
- 26 Hou HY, Gao F, Liang HL, et al. microRNA - 188 - 5p regulates contribution of bone marrow-derived cells to choroidal neovascularization development by targeting MMP-2/13. *Exp Eye Res* 2018;175:115-123
- 27 Hou HY, Liang HL, Wang YS, et al. A therapeutic strategy for choroidal neovascularization based on recruitment of mesenchymal stem cells to the sites of lesions. *Mol Ther* 2010;18(10):1837-1845
- 28 Wang YF, Chang TF, Wu T, et al. M2 macrophages promote vasculogenesis during retinal neovascularization by regulating bone marrow-derived cells via SDF-1/VEGF. *Cell Tissue Res* 2020;380(3): 469-486
- 29 Kataoka K, Nishiguchi KM, Kaneko H, et al. The roles of vitreal macrophages and circulating leukocytes in retinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(3):1431-1438
- 30 Gao S, Li CW, Zhu YJ, et al. PEDF mediates pathological neovascularization by regulating macrophage recruitment and polarization in the mouse model of oxygen - induced retinopathy. *Sci Rep* 2017; 7:42846
- 31 Zhou YD, Yoshida S, Nakao S, et al. M2 macrophages enhance pathological neovascularization in the mouse model of oxygen - induced retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(8):4767-4777
- 32 Cho DI, Kim MR, Jeong HY, et al. Mesenchymal stem cells reciprocally regulate the M1/M2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. *Exp Mol Med* 2014;46(1):e70
- 33 Sanz-Rubio D, Khalyfa A, Qiao ZH, et al. Cell-selective altered cargo properties of extracellular vesicles following *in vitro* exposures to intermittent hypoxia. *Int J Mol Sci* 2021;22(11):5604
- 34 Zhu JY, Lu K, Zhang N, et al. Myocardial reparative functions of exosomes from mesenchymal stem cells are enhanced by hypoxia treatment of the cells via transferring microRNA - 210 in an nMse2 - dependent way. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2018;46(8):1659-1670
- 35 Nakamura Y, Miyaki S, Ishitobi H, et al. Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration. *FEBS Lett* 2015;589(11):1257-1265
- 36 Bian SY, Zhang LP, Duan LF, et al. Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model. *J Mol Med (Berl)* 2014;92(4): 387-397
- 37 Anderson JD, Johansson HJ, Graham CS, et al. Comprehensive proteomic analysis of mesenchymal stem cell exosomes reveals modulation of angiogenesis via nuclear factor-KappaB signaling. *Stem Cells* 2016;34

- (3):601-613
- 38 Hou YJ, Li F, Karin M, *et al.* Analysis of the IKKbeta/NF-kappaB signaling pathway during embryonic angiogenesis. *Dev Dyn* 2008; 237(10):2926-2935
- 39 Gong M, Yu B, Wang JC, *et al.* Mesenchymal stem cells release exosomes that transfer miRNAs to endothelial cells and promote angiogenesis. *Oncotarget* 2017;8(28):45200-45212
- 40 Gu Q, He Y, Ji JF, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) and reactive oxygen species (ROS) mediates radiation - induced invasiveness through the SDF-1 α /CXCR4 pathway in non-small cell lung carcinoma cells. *Oncotarget* 2015;6(13):10893-10907
- 41 Wang S, Ji LY, Li L, *et al.* Oxidative stress, autophagy and pyroptosis in the neovascularization of oxygen-induced retinopathy in mice. *Mol Med Rep* 2019;19(2):927-934
- 42 Tekin D, Dursun AD, Xi L. Hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) and cardioprotection. *Acta Pharmacol Sin* 2010;31(9):1085-1094
- 43 Sun JC, Shen H, Shao LB, *et al.* HIF-1 α overexpression in mesenchymal stem cell-derived exosomes mediates cardioprotection in myocardial infarction by enhanced angiogenesis. *Stem Cell Res Ther* 2020; 11(1):373
- 44 Zhang XN, Sai BQ, Wang F, *et al.* Hypoxic BMSC-derived exosomal miRNAs promote metastasis of lung cancer cells via STAT3-induced EMT. *Mol Cancer* 2019;18(1):40
- 45 Bowler E, Porazinski S, Uzor S, *et al.* Hypoxia leads to significant changes in alternative splicing and elevated expression of CLK splice factor kinases in PC3 prostate cancer cells. *BMC Cancer* 2018; 18(1):355
- 46 Gonzalez-King H, Garcia NA, Ontoria-Oviedo I, *et al.* Hypoxia inducible factor-1 α potentiates jagged 1-mediated angiogenesis by mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Stem Cells* 2017; 35(7): 1747-1759
- 47 王雅芬, 苏静波, 王雨生, 等. 缺氧条件下骨髓间充质干细胞对血管内皮细胞迁移和管腔形成的影响. *国际眼科杂志* 2020;20(1): 16-20
- 48 Zhao HJ, He YH. Lysophosphatidylcholine offsets the protective effects of bone marrow mesenchymal stem cells on inflammatory response and oxidative stress injury of retinal endothelial cells via TLR4/NF- κ B signaling. *J Immunol Res* 2021;2021:2389029
- 49 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- κ B axis repression. *J Endocrinol Invest* 2021;44(6):1193-1207
- 50 Li J, Zhou QL, Liang YJ, *et al.* miR-486 inhibits PM_{2.5}-induced apoptosis and oxidative stress in human lung alveolar epithelial A549 cells. *Ann Transl Med* 2018;6(11):209
- 51 Ye HQ, Yu XL, Xia JY, *et al.* miR-486-3p targeting ECM1 represses cell proliferation and metastasis in cervical cancer. *Biomed Pharmacother* 2016;80:109-114
- 52 Yang ZP, Chen HM, Si HQ, *et al.* Serum miR-23a, a potential biomarker for diagnosis of pre-diabetes and type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2014;51(5):823-831
- 53 Wang YX, Tao JX, Jiang MF, *et al.* Apocynin ameliorates diabetic retinopathy in rats: involvement of TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Int Immunopharmacol* 2019;73:49-56
- 54 Yao JL, Huang K, Zhu DS, *et al.* A minimally invasive exosome spray repairs heart after myocardial infarction. *ACS Nano* 2021 [Online ahead of print]
- 55 罗家伟, 张国伟, 康丽华, 等. 外泌体在眼科疾病中的研究进展. *国际眼科杂志* 2021;21(5):805-809
- 56 朱妍, 姚牧笛, 孟祥瑞, 等. 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
- 57 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