

## 微小RNA工程化外泌体在糖尿病创面中的作用研究进展

简喜超 邓呈亮

遵义医科大学附属医院烧伤整形外科, 遵义 563003

通信作者: 邓呈亮, Email: cheliadeng@sina.com

**【摘要】** 糖尿病创面是糖尿病患者常见的并发症之一, 治疗较为困难。目前, 糖尿病创面的治疗方法包括清创、功能性敷料覆盖、负压治疗、骨水泥填充、皮肤移植等。微小RNA(miRNA)工程化外泌体具有减轻炎症、刺激血管生成、促进胶原沉积和再上皮化等功能, 在糖尿病创面修复中展现出巨大潜力, 相关研究正在积极开展。该文对糖尿病创面的病理生理特征、miRNA与外泌体的特性、外泌体负载miRNA的工程化方法和miRNA工程化外泌体促进糖尿病创面愈合的机制进行综述, 以期为miRNA工程化外泌体在糖尿病创面中的临床应用提供参考依据。

**【关键词】** 外泌体; 微RNAs; 糖尿病; 创面修复

**基金项目:** 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2021]重点011、黔科合支撑[2021]一般079、黔科合基础[2020]1Y331); 省部共建协同创新中心项目(教科科技厅函[2020]39号)

### Research advances on the role of microRNA engineered exosomes in diabetic wounds

Jian Xichao, Deng Chengliang

Department of Burns and Plastic Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China

Corresponding author: Deng Chengliang, Email: cheliadeng@sina.com

**【Abstract】** Diabetic wounds are a common complication in patients with diabetes, which is difficult to treat. Current treatment methods for diabetic wounds include debridement, functional dressing coverage, negative pressure therapy, bone cement filling, and skin grafting, etc. MicroRNA (miRNA) engineered exosomes have shown promising potential in diabetic wound repair due to the ability to alleviate inflammation, stimulate angiogenesis, and promote collagen deposition and re-epithelialization. Related researches are being actively

carried out. This paper reviews the pathophysiological characteristics of diabetic wounds, the characteristics of miRNA and exosomes, the engineering methods for exosomes loaded with miRNA, and the mechanism of miRNA engineered exosomes in promoting healing of diabetic wounds, aiming to provide a reference basis for the future clinical application of miRNA engineered exosomes in diabetic wounds.

**【Key words】** Exosomes; MicroRNAs; Diabetes mellitus; Wound repair

**Fund program:** Science and Technology Plan Project of Guizhou Province of China (No. ZK2021-011, 2021-079, 2020-1Y331); Collaborative Innovation Center of Chinese Ministry of Education (No. 2020-39)

据报道, 全球20~79岁人群中糖尿病患者约占10.5% (5.366亿人), 预计到2045年该比例将会上升至12.2% (7.832亿人), 其中中国和印度是糖尿病患者最多的2个国家<sup>[1]</sup>。糖尿病创面是糖尿病患者常见的并发症之一, 其中最严重的是糖尿病足<sup>[2]</sup>。据统计, 我国50岁以上人群糖尿病足溃疡患病率超过8.1%<sup>[3]</sup>; 全球19%~34%的糖尿病患者出现足部溃疡, 且溃疡愈合后复发率高, 愈合后1、3、5年的复发率分别为40%、60%和65%<sup>[2]</sup>。长时间创面不愈合和缺乏有效的创面治疗方法, 往往导致较高的截肢率, 糖尿病足截肢后5年的病死率甚至高于恶性肿瘤<sup>[4]</sup>。目前, 临床常见的糖尿病创面治疗方法包括清创、功能性敷料覆盖、负压治疗、骨水泥填充、皮肤移植等, 但治疗效果均欠佳<sup>[5-6]</sup>。

糖尿病创面因长期过度的慢性炎症<sup>[7]</sup>、血管生成障碍<sup>[8]</sup>及组织缺氧<sup>[9]</sup>等原因导致愈合困难。近年来研究表明, 微小RNA(microRNA, miRNA)具有抗炎、促进血管生成以及胶原蛋白沉积等功能<sup>[10]</sup>, 可能是治疗糖尿病创面的有效方法。但是, 将miRNA用于治疗糖尿病创面仍有待解决的问题, 例如保护miRNA不被降解<sup>[11]</sup>。由于裸露的miRNA

DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20230721-00011

本文引用格式: 简喜超, 邓呈亮. 微小RNA工程化外泌体在糖尿病创面中的作用研究进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2024, 40(2): 190-195. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20230721-00011.

Jian XC, Deng CL. Research advances on the role of microRNA engineered exosomes in diabetic wounds[J]. Chin J Burns Wounds, 2024, 40(2): 190-195. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20230721-00011.



易被 RNA 酶降解,导致 miRNA 不能直接用于创面治疗。研究表明,外泌体能够保护 miRNA 使其避免被降解,并且参与细胞间通信和细胞内信号转导<sup>[12]</sup>,是将 miRNA 递送到靶组织或细胞的优良载体。近年来,研究人员利用工程化方法成功将 miRNA 载入外泌体中,该方法在糖尿病创面治疗中展现出潜力,这为糖尿病创面的治疗提供了新的思路和方向。

该文总结了糖尿病创面的病理生理特征、miRNA 与外泌体的特性、外泌体负载 miRNA 的工程化方法和 miRNA 工程化外泌体促进糖尿病创面愈合的机制,以期 miRNA 工程化外泌体在糖尿病创面中的临床应用提供参考依据。

## 1 糖尿病创面的病理生理特征

生理情况下,机体会遵循正常的创面愈合过程,包括止血、炎症、增殖和重塑 4 个重要阶段,各阶段相互作用和重叠<sup>[13]</sup>。然而,当创面愈合过程不断受到异常因素的刺激或影响时,就会导致创面愈合困难,如糖尿病创面。糖尿病创面具有以下特点:(1)慢性炎症。糖尿病创面由于促炎性细胞因子的过量表达以及抗炎细胞因子的缺乏,导致 M1 型巨噬细胞过度积累<sup>[7]</sup>。如果炎症得不到控制,炎症细胞持续存在于创面部位,可能会导致慢性炎症。(2)血管生成障碍。糖尿病创面持续高糖水平会干扰创面愈合微环境,使创面外周血管病变和缺乏促血管生成因子,引起血管生成过程受损和微血管并发症<sup>[8]</sup>。(3)组织缺氧。在正常的创面愈合过程中,局部缺氧可导致组织中缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )的稳定表达,该因子可促进血管生成<sup>[9]</sup>。糖尿病创面会消耗更多的氧气,而血管生成受损会加重创面组织缺氧,过度的缺氧又进一步阻碍血管生成,形成恶性循环<sup>[14]</sup>。(4)胶原沉积和重塑受阻。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)负责降解胶原蛋白并调节 KC 的迁移。然而,糖尿病创面长期的炎症环境引起 MMP-9 过度表达,组织金属蛋白酶抑制物(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)降低,ECM 过度降解,导致胶原沉积和重塑受阻,延缓糖尿病患者创面愈合<sup>[15]</sup>。(5)外周神经病变。糖尿病患者长期的高血糖往往导致外周末梢神经发生感觉、运动和自主神经功能障碍,引起皮肤的抗压、抗热及血管舒张功能异常,容易形成皮肤创面<sup>[16]</sup>。

## 2 miRNA 与外泌体的特性

### 2.1 miRNA

1993 年,研究人员在线虫中发现了 1 个名为 *lin-4* 的基因(该基因编码了一类具有反义互补序列的小 RNA 分子),通过分子生物学和基因组学技术检测到 *lin-4* 编码的小 RNA 可以与另一个靶基因 *lin-14* 的 mRNA 序列相互作用;而且 *lin-4* 编码的小 RNA 的表达与线虫的生长和发育密切相关,表明 *lin-4* 基因具有时间和空间上的表达调控模式<sup>[17]</sup>。此后不久,有报道表示 *lin-4* 代表了在蠕虫、苍蝇和哺乳动物中发现的数量非常多的内源性小 RNA(被命名为

miRNA),为后续 miRNA 的深入研究奠定了基础<sup>[17]</sup>。

具有调节基因表达活性的 miRNA 是 I 组由内源性基因编码的、具有 22 个核苷酸的非编码 RNA 分子,在基因表达调控过程中发挥重要的作用<sup>[11]</sup>。在动物基因组中至少有 100 个不同 miRNA,少数 miRNA 的功能是已知的<sup>[18]</sup>。这些功能在调控动物生长发育和生理过程中起着重要作用,包括调控细胞的生长、分化、增殖、代谢和凋亡等<sup>[11]</sup>。miRNA 首先在细胞核中以初级 miRNA 转录本的形式产生,随后被 RNA 酶 3 切割为前体 miRNA,最后前体 miRNA 被 RNA 内切酶切割后转化为成熟的 miRNA;成熟 miRNA 通常与目标 mRNA 的 3'-非翻译区结合,抑制 mRNA 翻译或促进 mRNA 的降解,从而调节靶基因表达<sup>[11]</sup>。

### 2.2 外泌体

外泌体是一类存在于细胞外的囊泡,其结构为双层膜,直径为 30~200 nm,由细胞质膜向内出芽形成,通过与供体细胞表面融合而释放,在细胞间通信和信号转导中发挥作用<sup>[12]</sup>。外泌体的吞噬或摄取过程取决于受体细胞,其进入细胞的方式有与质膜直接融合、内吞作用或巨噬细胞胞饮作用等。外泌体中含有蛋白质、核酸(mRNA、miRNA 和 DNA)和脂质等物质,但其物质成分受到细胞的类型、生物发生过程(代谢活动、分泌途径等)、生理状态(应激、炎症等)以及培养条件(营养、氧气等)的影响<sup>[19]</sup>。通过细胞通信和信号转导的方式,外泌体中含有的生物活性分子可通过直接结合细胞表面配体、转移激活的受体至细胞内以及传递功能蛋白、脂质和 RNA 对受体细胞进行表观遗传重编程等影响靶细胞<sup>[19]</sup>。通常可以通过超速离心、沉淀、超滤过或使用商业试剂盒等方式从培养细胞的上清液或培养基中分离出外泌体,其表面的标志物包括 CD9、CD63、CD81 和热休克蛋白 70 等<sup>[19-20]</sup>。

## 3 外泌体负载 miRNA 的工程化方法

靶向递送是一种将治疗性分子(miRNA、药物等)有选择性地送至特定的细胞或组织的方法,具有提高疗效、增强生物可用性、降低毒性和不良反应以及个体化治疗的优点<sup>[21]</sup>。为了将治疗性 miRNA 递送至靶细胞或组织,可以使用直接或间接方法工程化外泌体,实现主动靶向递送 miRNA。

### 3.1 直接法:外泌体产生后的工程化方法

直接法指的是从供体细胞分离出外泌体后直接进行外泌体工程化改造,而不进行任何基因操作。直接法旨在增加外泌体中相关 miRNA 的数量,可以使用物理方法或化学方法将 miRNA 负载到外泌体中<sup>[22]</sup>。常见使外泌体负载 miRNA 的物理方法包括以下 4 种:(1)电穿孔,指在高压电脉冲的作用下使外泌体膜不稳定,导致外泌体膜产生瞬时的亲水孔,允许 miRNA 进入外泌体,是最常用的使外泌体负载 miRNA 的方法<sup>[23]</sup>。然而,电穿孔会导致外泌体的聚集和形态变化,以及 miRNA 的沉淀和聚集<sup>[24-25]</sup>。(2)孵化,即将外泌体与 miRNA 在室温下一起孵育,使 miRNA 能够在一定

时间内逐渐进入外泌体,是一种简单且经济的方法,但负载率较低<sup>[24,26]</sup>。(3)超声处理,即通过应用声波能量瞬时破坏外泌体膜,使 miRNA 进入外泌体中,其负载率较高<sup>[24]</sup>。(4)冻融循环,即将 miRNA 与外泌体在室温下孵育一定时间后,通过快速液氮冷冻和室温解冻的循环处理方法,降低外泌体的免疫原性,且 1 次冷冻和解冻循环不会显著改变外泌体的数量和形态<sup>[27]</sup>。

以下化学方法也可使外泌体负载 miRNA:(1)改良氯化钙转染,包括在氯化钙溶液中孵育和热休克,使更多的 miRNA 进入外泌体,其负载率较高<sup>[28]</sup>。(2)皂苷(一种类似洗涤剂的分子)透化,通过皂苷与胆固醇的相互作用使外泌体膜形成瞬时孔,从而使 miRNA 进入外泌体<sup>[25]</sup>。(3)脂质体转染。外泌体和脂质体结构相似,易于融合,使用脂质体包裹 miRNA,可增加 miRNA 稳定性,并促使 miRNA 进入外泌体<sup>[29]</sup>。(4)化学修饰,通过对 miRNA 进行化学修饰,如修改 miRNA 的磷酸化状态或 miRNA 核苷酸修饰,以增加 miRNA 稳定性和进入外泌体的效率<sup>[30]</sup>。(5)磁性纳米颗粒转染,是一种利用磁性纳米颗粒对外泌体进行修饰的方法,其是将超顺磁纳米颗粒与外泌体结合,并负载药物(如 miRNA),具有高效性和可控性等优点<sup>[30]</sup>。

### 3.2 间接法:外泌体产生前的工程方法

间接法是对产生外泌体的供体细胞进行基因工程处理的方法,目前最常用的方法是病毒转染。简而言之,就是使用携带目标 miRNA 的慢病毒感染供体细胞,使目标 miRNA 在供体细胞中稳定表达,然后从供体细胞中分离出携带目标 miRNA 的外泌体,旨在获得富含特定、有效 miRNA 的外泌体,是一种常用、方便和负载稳定的外泌体工程化方法。该方法的不足是存在潜在的不安全性<sup>[25,31]</sup>。

当然,也有研究者将细胞纳米孔技术和细胞生态位工程应用于外泌体负载 miRNA。细胞纳米孔技术是使用光刻蚀和深反应离子刻蚀相结合的工艺,制成含纳米孔道的生物芯片,加载瞬时电脉冲后,使质粒从缓冲液穿梭到附着在生物芯片的细胞中,以刺激细胞产生和释放外泌体,同时增加内源性 miRNA 含量<sup>[32]</sup>。细胞生态位工程是一种通过改变供体细胞的培养环境(如氧分压、营养物质浓度、pH 值等),从而调节外泌体中 miRNA 的含量和外泌体的数量的方法<sup>[33]</sup>。此外,随着成簇规律间隔短回文重复序列及其相关蛋白 9 [clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated protein-9, CRISPR-Cas9] 基因编辑技术的成熟,可通过引入 CRISPR-Cas9 系统和相应的目标序列,实现对供体细胞中 miRNA 的定点编辑,从而调整外泌体中 miRNA 的含量和类型<sup>[34]</sup>。

### 3.3 miRNA 工程化外泌体结合生物材料

糖尿病创面愈合往往需要较长时间,因此需要一种新的方法使 miRNA 工程化外泌体在创面表面保留更长的时间。近年来,1 种新型生物材料已被证明可以减轻炎症,促进血管形成,从而加速糖尿病患者创面愈合<sup>[35]</sup>。目前,已有

研究者将 miRNA 工程化外泌体与生物材料,如基于壳聚糖或藻酸盐的凝胶敷料相结合。一项研究报道,含有过表达 miRNA-126 的滑膜间充质干细胞外泌体的壳聚糖敷料,以剂量依赖性方式刺激人真皮 Fb 和人真皮微血管内皮细胞的增殖、迁移和血管形成;在糖尿病大鼠创面模型中,这种敷料可加速创面再上皮化、刺激血管生成及促进体内胶原蛋白成熟<sup>[36]</sup>。另一项研究报道,将 miRNA-146a 工程化外泌体与丝纤维素贴片结合,可提高外泌体的结合率、稳定性和负载 miRNA-146a 的效率。miRNA-146a 工程化外泌体与丝纤维素贴片的结合在减轻炎症反应、促进胶原沉积和刺激血管生成方面优于单独使用 miRNA-146a 工程化外泌体<sup>[31]</sup>,这可能归因于丝纤维素贴片使 miRNA 工程化外泌体持续缓慢释放,阻止了 miRNA 工程化外泌体被快速清除,从而延长其在创面中的作用时间。此外,理想的生物材料还能够吸收创面渗出液,有助于适当的气体交换,并减少微生物感染<sup>[37]</sup>。然而,生物材料存在制作较为复杂和成本较高,以及缺乏统一的临床使用标准等问题。希望在未来能够探索出一种制作简单、价格低且具有统一临床使用标准的生物材料,从而促进 miRNA 工程化外泌体的临床转化应用。

综上,直接和间接外泌体工程化方法都为外泌体负载 miRNA 提供了较为理想的方法。然而,每种方法都有其优点和不足,未来,研究人员可根据实际情况选择合适的工程化方法从而获得 miRNA 工程化外泌体。相对于自身含有丰富 miRNA 的外泌体而言,miRNA 工程化外泌体具有可控制性、稳定性和功能增强等优势。此外,通过与生物材料的结合,调控 miRNA 工程化外泌体在创面的释放,进一步提高了 miRNA 工程化外泌体在糖尿病小鼠创面中的治疗效果<sup>[31]</sup>。然而,尽管 miRNA 工程化外泌体具有这些优势,但目前的研究仍处于早期阶段,许多方面仍需进一步探索和优化,如 miRNA 传递效率、外泌体的规模化生产和纯化标准,以及 miRNA 工程化外泌体生物安全性等,这些可能是限制 miRNA 工程化外泌体临床转化应用的重要因素<sup>[29]</sup>。当然,随着研究的不断深入,相信目前所面临的问题和挑战终会得到有效解决。

## 4 miRNA 工程化外泌体促进糖尿病创面愈合的机制

研究表明,外泌体具有低免疫原性、稳定性和高运载能力,因此工程化外泌体是一种理想的药物递送工具<sup>[38]</sup>。近年来的相关研究显示,将产生富含有效 miRNA 或 miRNA 抑制剂的工程化外泌体输送至糖尿病创面,可通过多种途径发挥促进糖尿病创面愈合的作用。

### 4.1 减轻炎症反应

正常愈合过程中,炎症反应对于促进创面愈合有重要作用。然而,在糖尿病患者创面中,促炎性细胞因子(TNF- $\alpha$  和 IL-6)的过量表达,以及抗炎细胞因子(IL-10 和 TGF- $\beta$  等)的缺乏,导致促炎的 M1 型巨噬细胞不能转化为抗炎的 M2 型巨噬细胞,从而延缓创面愈合进程<sup>[7]</sup>。研究表明,miRNA 工程化外泌体可以调控炎症因子的表达,并诱导

巨噬细胞的极化。Ge 等<sup>[39]</sup>在糖尿病小鼠创面(直径 1 cm)周围注射 miRNA-132 工程化脂肪干细胞外泌体,观察到该外泌体通过核因子  $\kappa$ B 信号通路诱导巨噬细胞向 M2 型极化,减轻了局部炎症反应,促进了糖尿病创面愈合。类似地, Li 等<sup>[31]</sup>利用慢病毒将 miRNA-146a 转染到胎盘间充质干细胞外泌体中,并将该外泌体应用到糖尿病小鼠创面中,观察到 miRNA-146a 工程化外泌体通过抑制 Toll 样受体 4/核因子  $\kappa$ B 通路,诱导巨噬细胞向 M2 型极化,并降低 IL 受体相关激酶、IL-6 等炎症因子的表达,从而减轻炎症反应,促进创面愈合。miRNA-155 可通过靶向细胞因子信号转导抑制因子 1、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 和含蛋白质结合酶 2 结构域的肌醇 5' 磷酸酶,于糖尿病患者创面发挥促炎作用<sup>[10]</sup>。因此,下调 miRNA-155 有助于减轻创面炎症反应。Gondaliya 等<sup>[28]</sup>使用改良的氯化钙转染方法将 miRNA-155 抑制剂负载到间充质干细胞外泌体中,再将工程化外泌体注射至糖尿病小鼠创面周围皮下,观察到炎症标志物如 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、可溶性 TNF 受体 1 以及趋化因子配体 5 表达下降,且创面愈合速度明显加快。由于长期的炎症反应和巨噬细胞向 M2 型极化受阻导致糖尿病创面难以愈合,而 miRNA 工程化外泌体表现出良好的减轻炎症和诱导巨噬细胞向 M2 型极化的能力,有望用于临床糖尿病创面的治疗。

#### 4.2 刺激血管生成,减轻组织缺氧

毛细血管长入创面床对于组织再生至关重要,因为它们可提供氧气和营养物质,维持细胞存活并促进创面愈合<sup>[16]</sup>。研究表明,内皮细胞中一些特定 miRNA 在调控血管生成过程中发挥重要作用。其中, miRNA-126 在血管内皮细胞内高度富集,这对于血管生成和血管完整性而言至关重要<sup>[10]</sup>。在糖尿病溃疡患者外周血中, miRNA-126 的水平较低,且血管网络发芽密度与 miRNA-126 水平呈正相关<sup>[18]</sup>。Tao 等<sup>[36]</sup>通过慢病毒转染将 miRNA-126-3p 负载到滑膜间充质干细胞外泌体中,并将其局部外用于糖尿病大鼠创面,结果显示, miRNA-126-3p 工程化外泌体通过血管内皮细胞中的 MAPK/胞外信号调节激酶和磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路,促进血管生成,显著提高了创面愈合率。此外, HIF-1 也是血管生成的重要介质。正常氧条件下细胞内 HIF-1 $\alpha$  维持在较低水平,但在缺氧条件下 HIF-1 $\alpha$  的降解受到抑制,使其能够进入细胞核诱导促血管生成因子的表达,从而促进血管生成<sup>[40]</sup>。Yan 等<sup>[41]</sup>观察到,在糖尿病小鼠皮肤创面中 miRNA-31-5p 的表达水平降低,通过电穿孔合成负载 miRNA-31-5p 的牛奶外泌体,并用该外泌体处理血管内皮细胞,观察到细胞中 miRNA-31-5p 上调,而靶基因 *HIF-1 $\alpha$*  抑制剂下调,从而促进血管生成,减轻组织缺氧。由于糖尿病创面血管生成受损和组织缺氧会相互促进,形成恶性循环,而 miRNA 工程化外泌体可刺激血管生成,进而减轻组织缺氧,从而促进糖尿病创面愈合。

#### 4.3 促进胶原沉积和再上皮化

胶原蛋白是一种结构蛋白,能为皮肤提供结构支持、调

控细胞信号以及促进 ECM 重塑与修复。创面上皮化依赖于 KC 的增殖和迁移,而胶原蛋白的纤维状结构为 KC 提供了支撑,使其能够紧密排列并形成连续的上皮层<sup>[16]</sup>。然而,在糖尿病患者创面中, MMP-9 表达增加, TIMP 表达减少,导致创面 ECM 的过度降解,胶原沉积和重塑受阻,创面再上皮化困难<sup>[15]</sup>。研究显示, miRNA 工程化外泌体可降低 MMP-9 的表达,增加 TIMP 的表达,从而促进胶原沉积和 KC 的增殖和迁移;而 miRNA-21 的表达升高可增强 MMP-9 的表达,抑制 TIMP-1 和 TIMP-2 的表达,从而促进胶原沉积与 KC 的增殖和迁移<sup>[42]</sup>。因此, Lv 等<sup>[23]</sup>通过电穿孔将 miRNA-21-5p 模拟物加载到脂肪干细胞外泌体中,该 miRNA-21-5p 工程化外泌体通过 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路促进 KC 的增殖和迁移,在糖尿病大鼠模型中通过促进再上皮化、胶原沉积和重塑等,加速创面愈合过程。

## 5 总结与展望

糖尿病所引发的创面愈合困难问题,迫切需要得到解决。有研究报道, miRNA 能有效促进糖尿病创面的修复。然而,裸露的 miRNA 易被降解,导致 miRNA 不能直接用于创面治疗,需要一种安全有效的载体将其递送到创面。外泌体是一种可用于递送 miRNA 的优良载体,它可保护 miRNA 使其避免被降解,并且参与细胞通信。研究表明, miRNA 工程化外泌体可通过减轻炎症反应、刺激血管生成、促进胶原沉积和再上皮化,从而促进糖尿病创面愈合,为糖尿病创面的治疗提供了新的选择,有望为糖尿病患者带来福音。

尽管许多研究报道,基于外泌体的疗法已取得成功,但在临床试验之前仍需解决一些问题,例如研究和开发用于生产高效、富集大规模外泌体的方法。此外,尽管已有关于 miRNA 工程化外泌体促进糖尿病创面愈合的研究,但其促进创面愈合机制仍不够明确,期待未来开展更多的相关研究,进一步探索 miRNA 工程化外泌体促进糖尿病创面愈合的机制。值得注意的是,由于糖尿病创面愈合延迟,往往导致反复的创面感染,从而进一步导致糖尿病创面愈合困难<sup>[43]</sup>,但与之相关的 miRNA 和 miRNA 工程化外泌体的研究处于空白阶段,可开展相关研究探索与糖尿病创面感染相关的 miRNA,为早日实现临床转化提供更多的理论支撑。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119. DOI: 10.1016/j.diabres. 2021. 109119.
- [2] Armstrong DG, Boulton A, Bus SA. Diabetic foot ulcers and their recurrence[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(24): 2367-2375. DOI: 10.1056/NEJMra1615439.
- [3] 中国医疗保健国际交流促进会糖尿病足病分会, 国际血管联盟中国分部糖尿病足病专家委员会. 中国糖尿病足诊治指

- 南[J].中国临床医生杂志,2020,48(1):19-27.DOI:10.3969/j.issn.2095-8552.2020.01.007.
- [4] 海峡两岸医药卫生交流协会烧伤创面修复专委会. 负压伤口疗法在糖尿病足创面治疗中的应用全国专家共识(2021 版)[J]. 中华烧伤杂志, 2021, 37(6): 508-518. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210107-00010.
- [5] Wei P, Zhong C, Yang X, et al. Exosomes derived from human amniotic epithelial cells accelerate diabetic wound healing via PI3K-AKT-mTOR-mediated promotion in angiogenesis and fibroblast function[J/OL]. Burns Trauma, 2020, 8: tkaa020[2023-07-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32923490/>. DOI: 10.1093/burnst/tkaa020.
- [6] Soheilifar MH, Masoudi-Khoram N. Wound dressings incorporating microRNAs: innovative therapy for diabetic wound treatment[J]. Iran J Basic Med Sci, 2022, 25(9): 1042-1044. DOI:10.22038/IJBMS.2022.67236.14739.
- [7] Moura J, Madureira P, Leal EC, et al. Immune aging in diabetes and its implications in wound healing[J]. Clin Immunol, 2019, 200: 43-54. DOI:10.1016/j.clim.2019.02.002.
- [8] Chen T, Song P, He M, et al. Sphingosine-1-phosphate derived from PRP-Exos promotes angiogenesis in diabetic wound healing via the S1PR1/AKT/FN1 signalling pathway [J/OL]. Burns Trauma, 2023, 11: tkad003[2023-07-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37251708/>. DOI: 10.1093/burnst/tkad003.
- [9] Catrina SB, Zheng X. Disturbed hypoxic responses as a pathogenic mechanism of diabetic foot ulcers[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2016, 32 Suppl 1: 179-185. DOI: 10.1002/dmrr.2742.
- [10] Petkovic M, Sørensen AE, Leal EC, et al. Mechanistic actions of microRNAs in diabetic wound healing[J]. Cells, 2020, 9(10):2228. DOI:10.3390/cells9102228.
- [11] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5.
- [12] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes[J]. Annu Rev Biochem, 2019, 88:487-514. DOI:10.1146/annurev-biochem-013118-111902.
- [13] Gualdi G, Costantini E, Reale M, et al. Wound repair and extremely low frequency-electromagnetic field: insight from in vitro study and potential clinical application[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(9):5037. DOI:10.3390/ijms22095037.
- [14] Desmet CM, Pr at V, Gallez B. Nanomedicines and gene therapy for the delivery of growth factors to improve perfusion and oxygenation in wound healing[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2018, 129: 262-284. DOI: 10.1016/j.addr.2018.02.001.
- [15] Jones JI, Nguyen TT, Peng Z, et al. Targeting MMP-9 in diabetic foot ulcers[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2019, 12(2): 79. DOI:10.3390/ph12020079.
- [16] Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot[J]. Lancet, 2005, 366(9498): 1736-1743. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67700-8.
- [17] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233. DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
- [18] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell, 2005, 120(1): 15-20. DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.035.
- [19] Zhang Y, Liu Y, Liu H, et al. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential[J]. Cell Biosci, 2019, 9:19. DOI: 10.1186/s13578-019-0282-2.
- [20] Martins TS, Vaz M, Henriques AG. A review on comparative studies addressing exosome isolation methods from body fluids[J]. Anal Bioanal Chem, 2023, 415(7): 1239-1263. DOI: 10.1007/s00216-022-04174-5.
- [21] Manzari MT, Shamay Y, Kiguchi H, et al. Targeted drug delivery strategies for precision medicines[J]. Nat Rev Mater, 2021, 6(4): 351-370. DOI: 10.1038/s41578-020-00269-6.
- [22] Choi H, Choi Y, Yim HY, et al. Biodistribution of exosomes and engineering strategies for targeted delivery of therapeutic exosomes[J]. Tissue Eng Regen Med, 2021, 18(4): 499-511. DOI:10.1007/s13770-021-00361-0.
- [23] Lv Q, Deng J, Chen Y, et al. Engineered human adipose stem-cell-derived exosomes loaded with miR-21-5p to promote diabetic cutaneous wound healing[J]. Mol Pharm, 2020, 17(5):1723-1733. DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.0c00177.
- [24] Esmaeili A, Hosseini S, Baghaban Eslaminejad M. Engineered-extracellular vesicles as an optimistic tool for microRNA delivery for osteoarthritis treatment[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(1):79-91. DOI:10.1007/s00018-020-03585-w.
- [25] Pomatto M, Bussolati B, D'Antico S, et al. Improved loading of plasma-derived extracellular vesicles to encapsulate antitumor miRNAs[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2019, 13: 133-144. DOI:10.1016/j.omtm.2019.01.001.
- [26] Zhang D, Lee H, Zhu Z, et al. Enrichment of selective miRNAs in exosomes and delivery of exosomal miRNAs in vitro and in vivo[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 312(1): L110-L121. DOI:10.1152/ajplung.00423.2016.
- [27] Akers JC, Ramakrishnan V, Yang I, et al. Optimizing preservation of extracellular vesicular miRNAs derived from clinical cerebrospinal fluid[J]. Cancer Biomark, 2016, 17(2):125-132. DOI:10.3233/CBM-160609.
- [28] Gondaliya P, Sayyed AA, Bhat P, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes loaded with miR-155 inhibitor ameliorate diabetic wound healing[J]. Mol Pharm, 2022, 19(5): 1294-1308. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.1c00669.
- [29] Mondal J, Pillarisetti S, Junnuthula V, et al. Hybrid exosomes, exosome-like nanovesicles and engineered exosomes for therapeutic applications[J]. J Control Release, 2023, 353: 1127-1149. DOI:10.1016/j.jconrel.2022.12.027.
- [30] Yao Y, Jiang Y, Song J, et al. Exosomes as potential functional nanomaterials for tissue engineering[J]. Adv Healthc Mater, 2023, 12(16):e2201989. DOI:10.1002/adhm.202201989.
- [31] Li Q, Hu W, Huang Q, et al. MiR146a-loaded engineered exosomes released from silk fibroin patch promote diabetic wound healing by targeting IRAK1[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1):62. DOI:10.1038/s41392-022-01263-w.
- [32] 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.
- [33] Cha JM, Shin EK, Sung JH, et al. Efficient scalable production of therapeutic microvesicles derived from human mesenchymal stem cells[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 1171. DOI: 10.1038/s41598-018-19211-6.
- [34] Bi H, Fei Q, Li R, et al. Disruption of miRNA sequences by TALENs and CRISPR/Cas9 induces varied lengths of miRNA production[J]. Plant Biotechnol J, 2020, 18(7): 1526-1536. DOI:10.1111/pbi.13315.

- [35] Da Silva J, Leal EC, Carvalho E, et al. Innovative functional biomaterials as therapeutic wound dressings for chronic diabetic foot ulcers[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12):9900. DOI: 10.3390/ijms24129900.
- [36] 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/sctm.2016-0275.
- [37] Sathyaraj WV, Prabakaran L, Bhoopathy J, et al. Therapeutic efficacy of polymeric biomaterials in treating diabetic wounds-an upcoming wound healing technology[J]. *Polymers (Basel)*, 2023, 15(5):1205. DOI:10.3390/polym15051205.
- [38] Zhao X, Fu L, Zou H, et al. Optogenetic engineered umbilical cord MSC-derived exosomes for remodeling of the immune microenvironment in diabetic wounds and the promotion of tissue repair[J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21(1): 176. DOI:10.1186/s12951-023-01886-3.
- [39] Ge L, Wang K, Lin H, et al. Engineered exosomes derived from miR-132-overexpressing adipose stem cells promoted diabetic wound healing and skin reconstruction[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1129538. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1129538.
- [40] Manuelli V, Pecorari C, Filomeni G, et al. Regulation of redox signaling in HIF-1-dependent tumor angiogenesis[J]. *FEBS J*, 2022, 289(18):5413-5425. DOI:10.1111/febs.16110.
- [41] Yan C, Chen J, Wang C, et al. Milk exosomes-mediated miR-31-5p delivery accelerates diabetic wound healing through promoting angiogenesis[J]. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 214-228. DOI:10.1080/10717544.2021.2023699.
- [42] Yang C, Luo L, Bai X, et al. Highly-expressed microRNA-21 in adipose derived stem cell exosomes can enhance the migration and proliferation of the HaCaT cells by increasing the MMP-9 expression through the PI3K/AKT pathway[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 681: 108259. DOI: 10.1016/j.abb.2020.108259.
- [43] Rodríguez-Rodríguez N, Martínez-Jiménez I, García-Ojalvo A, et al. Wound chronicity, impaired immunity and infection in diabetic patients[J]. *MEDICC Rev*, 2022, 24(1): 44-58. DOI: 10.37757/MR2021.V23.N3.8.

(收稿日期:2023-07-21)

## · 科技快讯 ·

## 从 5 步模型到 3 步模型:细菌生物膜形成模型的扩展

引用格式: Sauer K, Stoodley P, Goeres DM, et al. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(10):608-620. DOI: 10.1038/s41579-022-00767-0.

细菌生物膜是附着于生物或非生物表面的细菌群落,与慢性创面的感染密切相关。经典的细菌生物膜形成模型是基于铜绿假单胞菌所建立的 5 步模型(可逆附着-不可逆附着-成熟 I-成熟 II-扩散),该模型易于理解并被广泛应用。但该研究成员认为前述经典模型形成于实验室系统,忽略了外部系统的复杂性和细菌生物膜内部微环境变化,不能涵盖细菌生物膜形成的多种场景(如在囊性纤维化患者的肺部感染中细菌在非生物表面附着也可形成生物膜),因而推广应用受到许多限制。为了实现更高效的抗生物膜治疗,该研究把细菌聚集看作细菌生物膜形成的核心特征,提出了更加全面的细菌生物膜形成扩展模型,即 3 步模型:聚集-生长-分离。该新模型更加简单、包容,能够代表更广泛的细菌生物膜系统形成过程,适用于自然界各种场景。

侯曙光,编译自《*Nat Rev Microbiol*》, 2022, 20(10):608-620;官浩,审校

## 广告目次

辽宁味邦生物制药有限公司	封二
南海朗肽制药有限公司	对中文目次 1
上海腾瑞制药股份有限公司	对英文目次 1
浙江医学科技开发有限公司	对英文目次 2
珠海亿胜生物制药有限公司	封三
武汉维斯第医用科技股份有限公司	封底