

骨源性外泌体在骨重建中的作用研究进展

黄凯¹ 侯红燕¹ 宋敏^{1*} 周灵通 董万涛^{1,2} 刘小钰¹ 蒋林博¹

- 1. 甘肃中医药大学,甘肃 兰州 730000
- 2. 甘肃中医药大学附属医院,甘肃 兰州 730000

中图分类号: R392. 12 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 05-0695-06

摘要: 骨代谢活动中骨吸收和骨形成在时间和空间上的紧密偶联过程称为骨重建。骨重建是一个非常精密并且程序化的过程,主要是由于骨吸收的破骨作用和骨形成的成骨作用之间在骨表面相继发生并配对调节的一过程,从而在骨损伤的相关部位产生新骨用以替代旧骨。通过这一方式,能够修复或靶向重建骨的微损伤,从而预防骨组织疲劳损伤的累积、保持骨损伤相关部位生物力学的功能及维持体内矿物质平衡。外泌体通常指的是 30 nm ~ 100 nm 的细胞外囊泡,广泛存在于生物体之中,并能参与细胞间的物质与信息交换,能够调节细胞的增殖与分化,从而控制疾病的发生与发展。以往骨重建调节研究主要集中在骨组织的自分泌、旁分泌等方面,而本文通过整理中外学者对外泌体在骨重建相关细胞的研究报道,旨在简明阐述骨源性外泌体和骨重建之间的关系。

关键词: 外泌体;骨重建;成骨细胞;破骨细胞;间充质干细胞;骨细胞

Research progress in the effect of bone-derived exosomes on bone remodeling

HUANG Kai¹, HOU Hongyan¹, SONG Min^{1*}, ZHOU Lingtong¹, DONG Wantao^{1,2}, LIU Xiaoyu¹, JIANG Linbo¹

- 1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China
- 2. The Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

* Corresponding author: SONG Min, Email: sm@gszy.edu.cn

Abstract: Bone remodeling refers to a close coupling process of bone resorption and bone formation in time and space in bone metabolic activity. Bone remodeling is a very sophisticated and procedural process. Because bone resorption and bone formation occur on the bone surface and the process is adjusted by the couple, the old bone is replaced by the new bone in the related part of the bone injury. In this way, bone micro-injury can be repaired or targeting reconstructed, thus preventing the accumulation of bone tissue fatigue damage, keeping biomechanical function and maintaining the body mineral balance at the relevant parts. Exosomes usually refer to 30 – 100 nm extracellular vesicles, which are widely exist in the body. Exosomes participate in intercellular exchange of material and information, regulate cell proliferation and differentiation, thus control the occurrence and development of the disease. Previously the study of bone remodeling mainly focuses on the autocrine and paracrine of bone tissue. This paper discuss the relationship between bone-derived exosomes and bone remodeling by arranging Chinese and foreign scholars' reports on exosomes in bone remodeling-related cells.

Key words: Exosomes; Bone remodeling; Osteoblasts; Osteoclasts; Mesenchymal stem cells; Osteocytes

引言

骨重建 (bone remodeling) 是一种由破骨细胞

(骨吸收) 去除老的或损坏的骨骼随后由成骨细胞形成新骨(骨形成)的终身性过程。在骨重建中,骨吸收和骨形成始终保持在动态平衡的状态,使得骨骼可以保持其强度和矿物质稳态,但当这种状态失衡后,就会导致骨硬化病、骨量减少、骨质疏松症等疾病的发生^[1]。影响骨重建的因素有很多,如甲状旁腺激素(PTH)、维生素 D、生长激素、类固醇、降钙素、可溶性细胞因子和生长因子(例如 M-CSF、RANKL、VEGF、IL-6 家族等)等^[2],这些因素最终

基金项目: 甘肃省自然科学基金计划(1506RJZA048);甘肃省中药现代制造工程研究院项目(YWW-2015049);甘肃省中医药防治慢性疾病重点实验室开放基金项目(GSMBKY2015-07);甘肃省财政厅基本科研业务课题(BH2010-428);甘肃省中医药管理局科研课题(GZK-2016-17)

* 通讯作者: 宋敏, Email: sm@gszy.edu.cn

导致成骨细胞诱导的骨形成和破骨细胞诱导的骨吸收之间的平衡被打破,从而产生相关疾病。近年来由于科学技术的进步以及分子生物学的大力发展,骨重建的机制研究也越来越向微观邻域发展,而外泌体由于其特殊的膜结构及纳米直径,可通过多种途径调控细胞的凋亡、增殖和分化,因此能够在骨重建的相关细胞中发挥重要作用。

1 外泌体的生物学特性

外泌体(Exosomes)在现阶段通常是指一种直径为 30 nm ~ 100 nm 的细胞外囊泡。早在 1983 年,Harding 等^[3]在大鼠的网织红细胞中发现类似溶酶体样的囊泡结构,发现转铁蛋白通过内陷小窝和囊泡内化的方式,使之及其受体在胞吞后被循环回质膜,随后在 1987 年,Johnstone 等^[4]发现其在体外培养的绵羊红细胞的培养基中也发现此类囊泡样结构,后将该类囊泡被命名为外泌体。外泌体是细胞外囊泡的一种,其形成主要是由于细胞摄入外来物质后在细胞内经过复杂的反应使之内陷形成多囊泡小体,后者在选择性接受细胞内的蛋白质、核酸、脂质等物质形成多泡内核体,其与细胞膜融合后将外泌体释放到胞外基质中^[5]。目前研究表明,外泌体可由树突细胞,肥大细胞,B 淋巴细胞,神经元,脂肪细胞,内皮细胞和上皮细胞分泌释放^[6-8],并发现在血液,羊水,尿,恶性腹水,脑脊髓液,乳汁,唾液,淋巴,胆汁等体液环境中广泛存在^[9-11]。外泌体的组成成分复杂,不同的细胞其分泌的外泌体也不尽相同。根据 Exocarta 数据库(<http://www.exocarta.org/>)所示,目前来自各种生物体和各种细胞类型的外泌体中蛋白质 9 769 个、脂质 1 116 个、mRNA 3 408 个、miRNA 2 838 个^[12]。尽管外泌体中蛋白质的种类众多,但也有一些蛋白质是所有类型的外泌体所共有的,例如热休克蛋白(Hsp60、Hsp70、Hsp90、sHSPs 等)、细胞骨架蛋白(如肌动蛋白和微管蛋白)、四跨膜超家族(tetraspanin)蛋白(CD9、CD63、CD81 和 CD82)、参与 MVB 形成的蛋白质(ALIX、TSG101)、膜运输蛋白(如 Rab 蛋白)等^[7],而这些蛋白也将作为外泌体特异性的标志物,从而使外泌体从细胞中分离纯化以用于鉴定。

在现行的研究中,外泌体主要发挥两个作用,一是外泌体可以作为疾病潜在的特异标志物,二是外泌体可以作为潜在的药物输送系统或治疗靶点^[13],这是因为外泌体特殊的纳米级分子直径、脂质双分子层及其表面特异的膜蛋白或脂质配体所造成的。

由于外泌体的分子直径为 30 ~ 100 nm,因此可以避免体内大部分的免疫应答反应,使外泌体的内含物可以悄悄地“偷渡”出去而不被发现,而且由于其被脂质双分子层包裹,因此可以避免外泌体被体内各种酶所降解。外泌体的传输系统很复杂,到目前为止科学界认为主要有一下两种方式进行传输:一是外泌体可以通过其表面特异的膜蛋白或脂质配体与相应细胞表面特异性受体相结合,从而将其内含物传递给受体细胞;二是外泌体直接与受体细胞通过质膜融合的方式将其内含物送入细胞^[5]。由于外泌体特殊的生物学特性,因此外泌体可以作为骨质疏松病、骨量减少、骨质疏松症等临床疾病潜在的诊断指标及靶向治疗方式。

2 外泌体与成骨细胞

骨的生长和发育与成骨细胞密切相关。成骨细胞是人体骨组织的重要组成部分,也是参与骨形成的主要功能细胞,在骨骼生长发育及骨量维持方面扮演着关键角色。成骨细胞来源于具有多向分化潜能的 MSCs,经细胞增殖、细胞外基质合成、成熟及矿化后最终发展成为骨细胞,从而促进骨形成及维持骨量的动态平衡^[14]。

成骨细胞的分化受到多种因素、信号通路、miRNA 等因素的调控,因此成骨细胞分泌的外泌体也能促进或抑制成骨细胞的分化。Yong 等人总结了 Mineralizing MC3T3 - E1 细胞系(矿化的小鼠胚胎成骨细胞前体细胞)分泌的外泌体内 miRNA 的作用,其中 miR - 30 d-5p、miR-133b-3p、miR-140-3p 的上调抑制了成骨细胞的分化能力,Let-7、miR-335-3P、miR-378b 的上升增强了成骨细胞的分化,miR-677-3p 的上调促进了间充质干细胞成骨分化,miR-503-3p 的上调抑制了 RANKL 诱导的破骨细胞分化^[15]。Deng 等人用甲状旁腺激素(PTH)诱导的 UAMS-32P 细胞系(一种成骨细胞系)^[16]中提取的 MVs 与小鼠 RAW264.7 细胞系一起诱导培养,发现 RAW264.7 细胞系分化破骨细胞的能力增强,这是由于 PTH 诱导 UAMS-32P 细胞所形成的微囊泡(Microvesicles, MVs)中富含 RANKL 蛋白,而 RAW264.7 细胞系表面又有 RANK 受体,二者特异性相结合从而增强 RAW264.7 细胞分化破骨细胞的能力^[17]。Cui 等人证明了矿化前成骨细胞 MC3T3-E1 细胞的外泌体可以促进骨髓基质细胞(ST2)分化为成骨细胞,并且 Cui 等人发现矿化的成骨细胞外泌体内上调的 miRNA(miR-667-3p,

miR-6769b-5p, miR-7044-5p, miR-7668-3p 和 miR-874-3p)能够靶向抑制 Axin1 的表达,同时 ST2 细胞中 β -连环蛋白表达增加,激活 Wnt 信号通路促进 ST2 细胞成骨分化^[18]。Ge 等人在小鼠 Mc3t3 细胞的外泌体中分离了 1 069 个蛋白质,其中有 786 个与 ExoCarta 数据库重叠,通过 GO 分析检测到 Rho GTP 酶(RhoA、Rac1 和 Cdc42),而 RhoA 信号通路在骨重建中起重要作用^[19],通过蛋白质数据 IPA 分析发现成骨细胞衍生的外泌体内蛋白质与成骨相关的信号通路高度相关,并且成骨细胞分泌的外泌体中的 EIF2 也可能诱导 MSC 分化为成骨细胞^[20]。

3 外泌体与破骨细胞

骨质吸收由破骨细胞介导,破骨细胞是目前唯一明确有降解骨量功能的细胞,过度活动的破骨细胞导致骨丢失和骨质疏松^[21]。破骨细胞来源于造血干细胞,也可由单核前体细胞通过多种方式融合形成,是一种高度分化的多核巨细胞。破骨细胞具有丰富的溶酶体、线粒体、大量的高尔基体和强大的细胞骨架系统^[22]。

破骨细胞的分化受多种细胞及其产物的调节,其中 M-CSF 与 RANKL 的作用尤为关键,而 Zhao 等人通过在 M-CSF 与 RANKL 诱导下使骨髓单核细胞(BMMs)向破骨细胞方向增殖,并检测到其细胞内 miR-214 含量增加,由此发现 miR-214 通过 PI3k/Akt 途径靶向作用于磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN)促进破骨细胞增殖^[23]。Shi 等人发现 MiR-214 通过靶向作用于成骨细胞特异性转录因子 Osterix 从而抑制 C2C12 成肌细胞的成骨分化^[24]。Wang 等人的研究发现了 miR-214 可以瞄准 ATF4(一个重要的成骨转录因子),抑制骨形成^[25]。Li 和 Sun 等人在体内外实验中均发现破骨细胞分泌的外泌体内含有 miR-214/miR-214-3p,其外泌体能够特异性的与成骨细胞相结合从而抑制成骨细胞的活性。Sun 等人还发现了破骨细胞分泌 ephrinA2 蛋白,而且在其外泌体中也大量存在,而成骨细胞表面有 EphA2(ephreinA2 的受体),因此破骨细胞衍生的外泌体通过 ephreinA2/EphA2 特异性的识别成骨细胞,从而将 miR-214/miR-214-3p 释放到成骨细胞中从而降低其分化能力。Li 等人还发现老年骨折妇女的血清外胚层 miR-214-3p 含量与破骨细胞 miR-214-3p 之间血清外胚层 miR-214-3p 含量与骨内 miR-214-3p 含量呈正相关^[26,27]。这表明 miR-214-3p 可以作为骨量减少、骨质疏松症等疾病潜在的血

清诊断方法。

4 外泌体与间充质干细胞

随着医学技术的不断进步及精准医学的提倡,最近十几年,越来越多的科学家对干细胞疗法进行研究,而间充质干细胞,一类来源于中胚层的具有高度自我更新能力与多向分化潜能的多能干细胞^[28],也受到学者们的关注。

目前研究表明,间充质干细胞具有促进组织修复能力^[29]、神经保护作用^[30]、多向分化潜能^[31]、免疫调节能力^[32]等,但其作用方式却众说纷纭,而在近期的研究中发现外泌体可能是一重要原因。根据现有研究,MSCs 分泌的外泌体具有神经再生^[33]、促进肿瘤增殖^[34]、修复肾脏损伤^[35]、抑制血管生成^[36]、增加血管内皮细胞增殖、迁移和血管的形成^[37]、修复肝脏损伤^[38]等作用。

在骨组织相关研究里,Xu 等人通过对 BMSCs 成骨分化时其外泌体内 miRNA 的表达谱进行研究,发现有 9 个 miR 显著表达(let-7a, miR-199b, miR-218, miR-148a, miR-135b, miR-203, miR-219, miR-299-5p 和 miR-302b),并且检测到 7 个 mRNA(RPS2, DGKA, ACIN1, DKK2, Xsox17, DDX6 和 Lsm2)在成骨分化的 BSMC 外泌体中显着差异表达^[39],这些都与成骨细胞的增殖分化有密切关系。Yong 等人总结了 BMSCs 分泌的外泌体内 miRNA 的作用,其中 Let-7、miR-218、miR-196 a 的上调以及 miR-118a 的下调能够增强 BMCs 向成骨细胞分化的能力,这可能是由于靶向 AXIN2、SOST、DKK2 SFRP2、HOXC8、TGF-BI、T β R-I、RGS4、GATA6 等基因所导致的。miR-221、miR-885-5p 的下调抑制了 BMCs 向成骨细胞分化的能力,这可能是由于这两种 miRNA 靶向 RUNX2 基因所导致的。miR-148 a 的上调能够靶向 MAFB 基因,从而促进破骨细胞的分化^[15]。Qi 等人将人诱导的多能干细胞的间充质干细胞分泌的外泌体(hiPSC-MSC-Exos)与去卵巢的骨质疏松大鼠骨髓间充质干细胞(rBMSCs-OVX)一起培养,发现 hiPSC-MSC-Exos 能够有效地刺激了 rBMSCs-OVX 的增殖和增强的成骨分化,并且随着外泌体浓度的增加,成骨分化效应也随之增加^[40]。Qin 等人通过细胞实验检测到 BMSCs 分泌的 EVs(可能是外泌体)支持成骨细胞的活动和分化,并且发现细胞外囊泡通过 miR-196a 调节成骨细胞分化和基因表达^[41],这与 Kim 等人的发现相同^[42]。

单核细胞是血液中的最大的血细胞,其内含许多的非特异性脂酶,并且具有很强的吞噬作用。在过往的研究中,单核细胞总与破骨细胞的增殖分化相关联,而 Ekström 等人将 LPS 刺激后单核细胞释放的外泌体与 MSCs 相接种,检测到成骨基因在 MSCs 中高表达,发现了单核细胞和间充质干细胞信号传导的新途径,表明单核细胞分泌的外泌体可以作为信使有选择性的使 MSCs 成骨分化能力增强^[43]。

5 外泌体与骨细胞

骨细胞是成骨细胞分化的终末细胞,是成熟骨组织中最常见的细胞,约占整个骨组织细胞的 95% 以上,其平均半衰期为 25 年^[44]。成熟的骨细胞将会嵌入在矿化的骨质中,而在嵌入的过程中,骨细胞通过细胞突在骨基质中形成一通道(小管),使骨细胞能够与骨表面的成骨细胞和破骨细胞之间形成高度连通的通信网络,并且通过这一网络,骨细胞可以作为机械感应细胞,在骨重建的起始中起关键作用^[45]。

已经证明,骨细胞能够释放各种信号因子,如核因子- κ B 配体的受体激活剂(RANKL)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、骨硬化蛋白、NO 和 ATP,从而影响成骨细胞和破骨细胞的活性^[45]。肌肉与骨量之间关系密切,已有大量研究表明肌肉活动在保持骨形成和骨吸收之间的平衡方面起着至关重要的作用^[46,47]。Qin 等人用肌肉生长抑制素处理的 Ocy454 细胞(一种骨细胞)产生的外泌体与成骨细胞相接种,发现肌肉生长抑制素能够降低外泌体内 miR-218 的含量,使成骨细胞分化的能力降低,这或许可以作为肌肉与骨之间新的通讯机制^[48]。

6 小结与展望

自从外泌体的发现直到 2013 年诺贝尔医学奖授予细胞囊泡运输调控系统后,外泌体的研究就从未中断过。由于外泌体特殊的生物学特性,其在疾病的诊断和治疗上提供了许多新的研究靶点。通过对全文的小结,我们可以发现这种骨源性外泌体调节骨代谢的机制十分复杂,例如破骨细胞分泌的外泌体能够抑制成骨细胞的分化能力,但同样的破骨细胞分泌的外泌体也能抑制破骨细胞的分化能力^[49],而成骨细胞分泌的外泌体不仅能够增强或抑制其成骨分化能力,同样的其还能够增强或抑制破骨细胞的分化能力。

从以往的研究中可以发现骨的生长不仅与成骨

细胞、破骨细胞、间充质骨细胞等细胞有关,而且与细胞因子、内皮细胞、血管生成、甲状旁腺激素(PTH)、甲状腺激素、类固醇、维生素 D、生长因子等因素密切相关^[50],有研究表明 MSCs 分泌的外泌体能够使血管内皮细胞增殖及 VEGF 上升,通过增加血管形成的方式从而刺激骨的生长及再生^[51]。

在过去,骨量减少或骨质疏松症等疾病的研究主要集中在刺激相关细胞功能上,但是对于细胞与细胞之间的通讯没有很好的研究,而外泌体通过囊泡传输系统将不同的细胞相互关联,进行物质及信息的转运及传输,从而调控相关细胞的增殖与分化。因此,能够使成骨细胞增殖分化的外泌体可以成为治疗骨量减少或骨质疏松症的潜在靶点。

到目前为止,物质从细胞内的选择性的转运至外泌体内的具体机制还是一个未解之谜,并且同种细胞分泌的外泌体其内含物也可能由于时间等因素的作用而不尽相同,但是,由于外泌体特殊的纳米级生物膜结构,并能够避免体内大部分的免疫排斥反应,因此在未来可能成为临床上诊断和治疗骨硬化病、骨量减少和骨质疏松症等疾病的新方向。

【 参 考 文 献 】

[1] Feng X, Mcdonald J M. Disorders of bone remodeling. Annu Rev Pathol, 2011, 6(1):121.

[2] 张萌萌. 骨重建中的骨代谢指标. 中国骨质疏松杂志, 2013, 19(8):866-873.

ZHANG Mengmeng. Bone Metabolism Indexes in Bone Reconstruction. Chin J Osteoporos, 2013,19 (08): 866-873

[3] Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. Journal of Cell Biology, 1983, 97(2):329.

[4] Johnstone R M, Adam M, Hammond J R, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(19):9412-20.

[5] 贝毅桦, 喻溥蛟, 肖俊杰. 小囊泡中的大学问——外泌体的前世今生. 自然杂志, 2017, 39(3):191-200.

BEI Yihua, YU Pujiao, XIAO Junjie. Big knowledge in small vesicles: preexistence and this life of exosomes. Chinese Journal of Nature, 2017, 39(3):191-200.

[6] Yáñez-Mó M, Siljander R M, Andreu Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. Journal of Extracellular Vesicles, 2015, 4:27066.

[7] Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. Nature Reviews Immunology, 2009, 9(8):581.

[8] Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. Nature Reviews Immunology, 2002, 2

- (8):569.
- [9] Taylor D D, Gerceltaylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 2008, 110(1):13.
 - [10] Simpson R J, Lim J W, Moritz R L, et al. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev Proteomics*, 2009, 6(3):267-283.
 - [11] Gallo A, Tandon M, Alevizos I, et al. The majority of microRNAs detectable in serum and saliva is concentrated in exosomes. *PLoS one*, 2012, 7(3): e30679.
 - [12] Mathivanan S, Fahner C J, Reid G E, et al. ExoCarta 2012: database of exosomal proteins, RNA and lipids. *Nucleic acids research*, 2011, 40(D1): D1241-D1244.
 - [13] M H R, Bayraktar E, G K H, et al. Exosomes: From Garbage Bins to Promising Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(3):538.
 - [14] 徐练, 孔清泉. 调控成骨细胞分化及骨形成关键信号通路的研究进展. *中国修复重建外科杂志*, 2014(12):1484-1489.
XU Lian, KONG Qingquan. Research progress of key signaling pathways in osteoblast differentiation and bone formation regulation. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2014(12):1484-1489.
 - [15] Xie Y, Chen Y, Zhang L, et al. The roles of bone - derived exosomes and exosomal microRNAs in regulating bone remodeling. *Journal of Cellular & Molecular Medicine*, 2016, 21(5).
 - [16] Fu Q, Manolagas S C, O'Brien C A. Parathyroid Hormone Controls Receptor Activator of NF- κ B Ligand Gene Expression via a Distant Transcriptional Enhancer. *Molecular & Cellular Biology*, 2006, 26(17):6453.
 - [17] Deng L, Wang Y, Peng Y, et al. Osteoblast-derived microvesicles: A novel mechanism for communication between osteoblasts and osteoclasts. *Bone*, 2015, 79:37-42.
 - [18] Cui Y, Luan J, Li H, et al. Exosomes derived from mineralizing osteoblasts promote ST2 cell osteogenic differentiation by alteration of microRNA expression. *Febs Letters*, 2016, 590(1):185.
 - [19] Parri M, Chiarugi P. Rac and Rho GTPases in cancer cell motility control. *Cell Communication & Signaling*, 2010, 8(1):23.
 - [20] Ge M, Ke R, Cai T, et al. Identification and proteomic analysis of osteoblast-derived exosomes. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2015, 467(1):27-32.
 - [21] Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis. *Lancet*, 2006, 367(9527):2010-2018.
 - [22] Charles J F, Aliprantis A O. Osteoclasts: more than 'bone eaters'. *Trends in Molecular Medicine*, 2014, 20(8):449-59.
 - [23] Zhao C, Sun W, Zhang P, et al. miR-214 promotes osteoclastogenesis by targeting Pten/PI3k/Akt pathway. *Rna Biology*, 2015, 12(3):343-53.
 - [24] Shi K, Lu J, Zhao Y, et al. MicroRNA-214 suppresses osteogenic differentiation of C2C12 myoblast cells by targeting Osterix. *Bone*, 2013, 55(2):487-94.
 - [25] Wang X, Guo B, Li Q, et al. miR-214 targets ATF4 to inhibit bone formation. *Nature Medicine*, 2013, 19(1):93.
 - [26] Li D, Liu J, Guo B, et al. Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation. *Nature Communications*, 2016, 7:10872.
 - [27] Sun W, Zhao C, Li Y, et al. Osteoclast-derived microRNA-containing exosomes selectively inhibit osteoblast activity. *Science Foundation in China*, 2016, 2(4):16015.
 - [28] Yu B, Zhang X, Li X. Exosomes derived from mesenchymal stem cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(3):4142-4157.
 - [29] Reinshagen H, Auwhaedrich C, Sorg R V, et al. Corneal surface reconstruction using adult mesenchymal stem cells in experimental limbal stem cell deficiency in rabbits. *Acta Ophthalmologica*, 2011, 89(8):741.
 - [30] Johnson T V, Bull N D, Hunt D P, et al. Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2010, 51(4):2051-9.
 - [31] Aurich H, Sgodda M, Kaltwasser P, et al. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells from human adipose tissue in vitro promotes hepatic integration in vivo. *Gut*, 2009, 58(4):570.
 - [32] G Li, L Yuan, X Ren, et al. The effect of mesenchymal stem cells on dynamic changes of T cell subsets in experimental autoimmune uveoretinitis. *Clinical & Experimental Immunology*, 2013, 173(1):28-37.
 - [33] Xin H, Li Y, Buller B, et al. Exosome - mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth. *Stem cells*, 2012, 30(7):1556-1564.
 - [34] Zhu W, Huang L, Li Y, et al. Mesenchymal stem cell-secreted soluble signaling molecules potentiate tumor growth. *Cell Cycle*, 2011, 10(18):3198-207.
 - [35] Reis L A, Borges F T, Simões M J, et al. Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Repaired but Did Not Prevent Gentamicin-Induced Acute Kidney Injury through Paracrine Effects in Rats. *Plos One*, 2012, 7(9):e44092.
 - [36] Lee J K, Park S R, Jung B K, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells suppress angiogenesis by down-regulating VEGF expression in breast cancer cells. *Plos One*, 2013, 8(12):e84256.
 - [37] Lai R C, Chen T S, Lim S K. Mesenchymal stem cell exosome: a novel stem cell-based therapy for cardiovascular disease. *Regenerative Medicine*, 2011, 6(4):481.
 - [38] Lou G, Chen Z, Zheng M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. *Experimental & Molecular Medicine*, 2017, 49(6):e346.
 - [39] Xu J F, Yang G H, Pan X H, et al. Altered microRNA expression profile in exosomes during osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Plos One*,

2014, 9(12):e114627.

[40] Xin Q, Zhang J, Hong Y, et al. Exosomes Secreted by Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Repair Critical-Sized Bone Defects through Enhanced Angiogenesis and Osteogenesis in Osteoporotic Rats. *International Journal of Biological Sciences*, 2016, 12(7):836-849.

[41] Qin Y, Wang L, Gao Z, et al. Bone marrow stromal/stem cell-derived extracellular vesicles regulate osteoblast activity and differentiation in vitro and promote bone regeneration in vivo. *Scientific Reports*, 2016, 6(12):21961.

[42] Kim Y J, Bae S W, Yu S S, et al. miR-196a regulates proliferation and osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Journal of Bone & Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone & Mineral Research*, 2009, 24(5):816-825.

[43] Ekström K, Omar O, Granéli C, et al. Monocyte exosomes stimulate the osteogenic gene expression of mesenchymal stem cells. *Plos One*, 2013, 8(9):e75227.

[44] Tate M L K, Adamson J R, Tami A E, et al. The osteocyte. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2004, 36(1): 1-8.

[45] Prideaux M, Findlay D M, Atkins G J. Osteocytes: The master cells in bone remodeling. *Current Opinion in Pharmacology*, 2016, 28:24.

[46] Karinkanta S, Piirtola M, Sievänen H, et al. Physical therapy approaches to reduce fall and fracture risk among older adults. *Nature Reviews Endocrinology*, 2010, 6(7):396-407.

[47] Rittweger J, Beller G, Ehrig J, et al. Bone-muscle strength indices for the human lower leg. *Bone*, 2000, 27(2):319-26.

[48] Qin Y, Peng Y, Zhao W, et al. Myostatin Inhibits Osteoblastic Differentiation by Suppressing Osteocyte-derived Exosomal microRNA-218: A Novel Mechanism in Muscle-Bone Communication. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(26):jbc.M116.770941.

[49] Huynh N, Vonmoss L, Smith D, et al. Characterization of Regulatory Extracellular Vesicles from Osteoclasts. *Journal of Dental Research*, 2016, 95(6):673.

[50] Eriksen E F. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 2010, 11(4):219-227.

[51] Zhang H C, Liu X B, Huang S, et al. Microvesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells stimulated by hypoxia promote angiogenesis both in vitro and in vivo. *Stem Cells & Development*, 2012, 21(18):3289-97.

(收稿日期: 2017-09-24;修回日期: 2017-10-20)