

· 综述 ·

外泌体在骨代谢中的作用

符灵芝 刘鸿飞 谢芬 戴如春

【摘要】 外泌体是多种细胞在生理或病理状态下主动分泌到细胞外的纳米级囊泡,富含蛋白质、核酸、脂质等生物活性物质,参与细胞间信息交流与传递。目前已有研究表明,外泌体能够通过信号蛋白、miRNAs 等调控成骨细胞、破骨细胞及骨髓间充质干细胞的增殖、分化,介导骨生成和骨吸收过程,在多种骨代谢疾病的发生、发展中起重要作用。

【关键词】 外泌体;成骨细胞;破骨细胞;骨髓间充质干细胞;骨代谢疾病

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81670804,81270960);教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-11-0507);中华国际医学交流基金会(医基发[2014]14号);中南大学(中大医字[2013]15号-86)

Role of exosomes in bone metabolism Fu Lingzhi, Liu Hongfei, Xie Fen, Dai Ruchun. The Second Xiangya Hospital of Central South University, Institute of Metabolism and Endocrinology, National Clinical Research Center for Metabolic Diseases, Changsha 410011, China; Department of Endocrinology and Metabolism, The Third People's Hospital of Chenzhou, Chenzhou 423000, China
Corresponding author: Dai Ruchun, Email: dairuchun@qq.com

【Abstract】 Exosomes are nanoscale membrane vesicles that are proactively released by various cell types into the extracellular microenvironment on physiological or pathological conditions, their components are heavily enriched in the bioactive proteins, nucleic acid, lipids etc., with the function of intercellular information communication and transfer. Recently research demonstrated that exosomes could regulate proliferation and differentiation of osteoblasts, osteoclasts, bone marrow mesenchymal stem cells through signaling proteins and miRNAs, mediate bone formation and bone resorption, and play important roles in the occurrence and development of various bone metabolic diseases.

【Key words】 Exosomes; Osteoblasts; Osteoclasts; Bone marrow mesenchymal stem cells; Bone metabolic diseases

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81670804, 81270960); New Century Excellent Talents by Ministry of Education of China (NCET-11-0507); China International Medical Foundation ([2014]14); Central South University ([2013]15-86)

外泌体(exosomes)是一种由双层脂质膜包被的微小囊泡,首次于体外培养的绵羊网织红细胞上清液中发现,当时认为外泌体是一种将多余分子排到细胞外的膜碎片,随着研究进展,目前认为外泌体是细胞积极主动分泌的具有生物学活性的亚细胞囊泡结构,作为跨膜受体和遗传信息交换的生物分子“货物装载箱”参与细胞间高效的信息交流,并介导体内生理及病理过程,与肿瘤发生、发展、自身免疫

调节、组织损伤修复等密切相关^[1-3]。近期研究发现,外泌体能够通过信号蛋白、miRNAs等方式调控成骨细胞、破骨细胞及骨髓间充质干细胞(BMSC)的增殖、分化,介导骨生成和骨吸收过程^[4]。其在骨质疏松、肿瘤骨转移、多发性骨髓瘤、骨肉瘤等多种骨代谢疾病的发生、发展中起重要作用,并可成为潜在的临床诊断标志物及治疗靶点,现就外泌体在骨代谢中的研究进展进行综述。

1 外泌体的生物学特性

1.1 外泌体的特性和形成过程 外泌体直径约30~100 nm,在蔗糖悬液中的密度为1.13~1.19 g/ml,电镜下观察其形状呈双凹圆盘状或杯口状,可由机体内多种细胞如BMSC、成骨细胞、破骨

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.05.007

作者单位:410011 长沙,中南大学湘雅二医院,代谢内分泌研究所,国家代谢性疾病临床医学研究中心(符灵芝,谢芬,戴如春); 423000 郴州市第三人民医院内分泌科(符灵芝,刘鸿飞)

通信作者:戴如春,Email: dairuchun@qq.com

细胞、软骨细胞、肿瘤细胞、免疫细胞、神经细胞、网织红细胞、血小板等分泌,广泛分布于外周血、尿液、唾液、乳汁、羊水、关节滑液、脑脊液、胆汁、精液、卵泡液、恶性肿瘤渗出液、肺泡及鼻腔灌洗液等多种生物体液中^[5-11]。

外泌体是细胞经过“内吞-融合-外排”等一系列调控过程而形成,主要依靠转运必需内吞体分选复合物的作用,多为持续性释放。细胞以内吞作用形成早期核内体,在演变为晚期核内体的过程中不断以向细胞内出芽的方式积累大量腔泡,同时选择性摄入胞浆蛋白质、核酸形成多泡体,后者与细胞质膜融合排出细胞外并释放其内部的腔泡形成外泌体,或是多泡体移动到细胞核周围的区域与溶酶体直接融合,形成混合细胞器后被降解^[12]。

1.2 外泌体的组成成分 外泌体内主要含有蛋白质、核酸及脂质,其分子组成可因来源细胞的表型和功能的不同而有差异,并且相同细胞在不同状态下分泌的外泌体组成成分及功能也随之变化^[13]。

外泌体内含有大量的蛋白质,其中非特异性的共有蛋白主要包括四跨膜蛋白超家族(CD9、CD63、CD81、CD82)、多泡体产生相关蛋白(Alix、TSG101)、G蛋白、热休克蛋白等^[14-15]。此外,外泌体内也存在与来源细胞相关的特异性蛋白,如破骨细胞源性的外泌体内含有核因子- κ B受体活化因子(RANK),肿瘤细胞源性的外泌体内则含有大量肿瘤特异性抗原^[2]。

外泌体中的核酸种类丰富,包含DNA、mRNAs、miRNAs、lncRNAs、circRNAs、siRNAs等,在细胞间的遗传物质信息传递过程中发挥重要作用。外泌体miRNAs的传递可干预靶细胞内目标mRNAs的转录及蛋白质的生成,诱导靶细胞短暂或持续性的表型变化,参与调节多种生理和病理过程。研究还发现,miRNAs在外泌体中所占比例高于来源细胞,认为miRNAs不是随机整合进入外泌体,且外泌体miRNAs的表达水平在不同生理条件下会随之变化^[16]。

目前外泌体膜的脂质成分研究相对偏少,其与来源细胞膜成分有所不同,主要富含鞘磷脂、甘油磷酸酯、神经酰胺、脂筏、神经节苷脂等以维持结构的稳定性,因膜结构的脂质高度浓缩而具有一定的刚度^[17]。外泌体的脂质双分子层结构不仅可保护其内的蛋白质及RNAs不被蛋白水解酶、RNA酶、其他化学物质消化降解,还可和靶细胞的胞膜脂质双分子层融合,参与生物学过程及细胞间通讯^[18-19]。

1.3 外泌体的功能和作用方式 外泌体的特异性功能与所含的蛋白质、miRNAs及所处的微环境密切

相关,正常细胞来源外泌体能改变受损细胞的表型及功能,而病变细胞来源外泌体也能向正常细胞传递有害的生物信息并改变其功能^[6]。

外泌体发挥作用的重要前提是与靶细胞的相互识别,通过结合和传递自身携带的信号分子进入靶细胞来调节靶细胞功能。现阶段普遍认可的外泌体与靶细胞的作用方式主要有3种:外泌体表面信号蛋白分子或生物活性脂质配体与靶细胞表面受体相结合,产生信号复合体并激活细胞内信号通路;外泌体膜蛋白在细胞外被蛋白酶裂解,其裂解片段作为可溶性配体结合到靶细胞表面受体,进而激活靶细胞内的信号级联;通过膜融合及内吞的非选择性方式进入靶细胞,释放并传递其携带的蛋白质、核酸等生物活性分子到靶细胞内,激活靶细胞内相关信号通路^[20]。

2 外泌体对骨代谢的影响及机制

2.1 外泌体与成骨细胞 成骨细胞起源于BMSC,是骨形成的主要功能细胞,其分泌的外泌体内鉴定出1 069种蛋白质,主要通过真核起始因子2(EIF2)信号通路调控成骨作用,其机制为内质网激活使EIF2 α 发生磷酸化,上调编码活化转录因子4的mRNAs翻译水平,从而促进成骨细胞分化和骨形成^[7]。此外,矿化的成骨细胞分泌的外泌体内高度表达成骨相关的miRNAs(如miRNA-1192、miRNA-680和miRNA-302),并可通过内部miRNAs的转移来促进BMSC的成骨分化。Cui等^[21]研究显示,矿化的成骨细胞分泌的外泌体与BMSC共培养后,检测到BMSC细胞表面的成骨标志基因runt相关转录因子2(RUNX2)和碱性磷酸酶显著上调,基质矿化增强,说明该类外泌体能明显促进BMSC分化为成骨细胞。外泌体转移进入BMSC后,细胞内的miRNAs表达谱发生显著改变,引起Axin1表达抑制及 β -catenin表达增强,由此激活Wnt信号通路来促进BMSC的成骨分化。成骨细胞分泌的外泌体不仅通过信号蛋白、miRNAs调控自身及BMSC的成骨分化,还可进一步调控破骨细胞的分化及活性。有研究发现,成骨细胞来源的外泌体表达RANK配体(RANKL)蛋白,通过与破骨细胞前体细胞表面上的RANK靶向结合,激活细胞内RANKL-RANK信号通路,促进破骨分化及骨吸收活性^[22]。

综上,BMSC分化为成骨细胞,成骨细胞分泌的外泌体再进一步诱导自身及BMSC的成骨分化,从而形成成骨过程中的正反馈循环机制,说明外泌体介导成骨微环境中细胞间的通讯交流及骨重建机制。而靶向激活成骨细胞分泌的外泌体内PERK-EIF2 α -活化转录因子4信号通路,则有可能应用于成骨能

力受损及骨肿瘤等骨代谢性疾病的临床治疗,其内部EIF2 α 的磷酸化水平亦可用于评估骨疾病的严重程度及类型。此外,外泌体还可作为一种工具来修复成骨细胞与破骨细胞间的生物反应或开发替代药物来治疗相关骨代谢疾病。

2.2 外泌体与破骨细胞 破骨细胞来源于造血干细胞,通过分泌蛋白酶及酸性物质溶解骨质进行骨吸收活动,其分泌的外泌体能够调控破骨生成功能。Huynh等^[23]研究发现,破骨细胞前体细胞来源的外泌体能促进破骨生成,而成熟破骨细胞来源的外泌体却抑制破骨生成。成熟破骨细胞分泌的外泌体含有RANK,损耗该类富含RANK的外泌体可显著降低对破骨细胞生成的抑制作用,表明该类外泌体可能通过RANK竞争性的结合RANKL(类似于骨保护素负向调节破骨细胞功能的方式),从而抑制破骨细胞RANK信号通路的激活。此外,破骨细胞分泌的外泌体内富含miRNAs,并可通过miRNAs调控成骨细胞的活性及骨生成功能。Li等^[8]研究发现,破骨细胞来源的外泌体miRNA-214-3p可靶向进入成骨细胞中,抑制体外的成骨细胞活性及减少体内的骨形成,靶向抑制该类外泌体miRNA-214-3p的表达则可促进衰老的骨质疏松小鼠体内的骨形成。另有研究也得出类似的结果,Sun等^[24]研究显示,破骨细胞分泌的外泌体通过膜上ephrinA2配体和EphA2受体之间的相互作用特异性识别成骨细胞,外泌体miRNA-214靶向性转移至成骨细胞内而抑制成骨功能,通过Rab27a小干扰RNAs来抑制外泌体的分泌,可减轻卵巢切除诱导的骨质疏松大鼠体内成骨细胞功能障碍。

因此,不同类型破骨细胞分泌的外泌体可调控不同的破骨生成作用,并有其相应的临床应用潜力,如破骨细胞前体细胞分泌的外泌体可用于增强骨折愈合中必要的骨重建,而成熟破骨细胞分泌的外泌体则可用于治疗骨质疏松相关的骨丢失。并且,破骨细胞来源的外泌体miRNAs在成骨细胞活性、骨生成功能的调节中亦起重要作用,外泌体miRNA-214、miRNA-214-3p不仅可作为骨质流失的生物标志物,靶向抑制其表达,而且可成为骨形成减少等相关骨代谢疾病的新治疗靶点。

2.3 外泌体与 BMSC 成骨分化 BMSC 可向成骨、成软骨等方向分化,在骨、软骨、关节组织损伤的临床应用中起重要作用^[25]。目前已有研究显示,多种特定细胞或组织来源的外泌体可促进BMSC的成骨分化,但具体机制仍未阐明。Ekström等^[26]发现,人单核细胞分泌的外泌体对BMSC具有促成骨分化作用,该类外泌体与BMSC共培养后,其细胞表面的成

骨标志基因RUNX2、骨形态发生蛋白-2的表达与对照培养基相比显著增加,而骨钙素的表达无明显差异。人树突状细胞来源的外泌体对BMSC的成骨分化亦有显著促进作用,经其作用后的BMSC碱性磷酸酶的活性增强,成骨分化特异性转录调节因子Runx2表达增加^[27]。此外,还有研究显示,牛奶来源的外泌体可促进人BMSC的增殖及成骨分化,通过增强未成熟成骨细胞的特异性基因表达、加速后期分化转型为骨细胞来促进骨形成,但同时出现矿化作用增强、基质胶原蛋白合成及沉积减少,予以该类外泌体饲喂小鼠,发现小鼠胫骨小梁区骨细胞数量及编织骨组织形成增加,使骨组织更脆,这表明牛奶来源的外泌体可促进成骨作用,但同时损害骨基质的形成^[28]。

BMSC 分泌的外泌体内含 79 种miRNAs,占人体总miRNAs的8.84%,并参与调控 BMSC 的成骨分化功能。Xu等^[29]发现人 BMSC 在成骨分化的不同阶段中,其分泌的外泌体miRNAs表达谱亦随之改变,其中 let-7a、miRNA-199b、miRNA-218、miRNA-148a、miRNA-135b、miRNA-203、miRNA-219、miRNA-299-5p、miRNA-302b 显著上调,而 miRNA-221、miRNA-155、miRNA-885-5p、miRNA-181a、miRNA-320c 显著下调,且Wnt通路信号分子的富集与成骨相关的外泌体miRNAs差异化分布同步,这表明BMSC分泌的外泌体miRNAs调控其成骨分化功能。Qin等^[30]研究显示,人BMSC来源的外泌体通过内吞作用进入成骨细胞内并传递成骨相关的miRNAs,其中miRNA-196a对调节成骨基因碱性磷酸酶、骨钙素、骨桥蛋白、RUNX2的表达及对成骨细胞的活性、分化具有正向调控作用。予以BMSC来源的外泌体对颅骨缺损大鼠进行骨形成刺激,与对照组相比,骨形成发生的更早、更多。另有研究发现,BMSC来源的外泌体是一种新的旁分泌信号因子,在骨组织修复过程中起重要作用,Furuta等^[31]将BMSC培养基来源的外泌体注入肱骨骨折的CD9^{-/-}小鼠体内(该类小鼠相较于肱骨骨折的野生型小鼠,其外泌体分泌量减少、愈伤组织形成延迟及骨愈合率低下),结果显示,BMSC来源的外泌体能显著加速CD9^{-/-}小鼠的骨折愈合,而注入缺乏外泌体的培养基则未出现这种情况。此外,相对于BMSC培养基,外泌体中骨修复关键因子如单核细胞趋化蛋白-1、-3和基质细胞衍生因子-1的水平均较低,表明外泌体成分如miRNAs可能参与了骨修复。综上表明,BMSC来源的外泌体及其装载的miRNAs在骨代谢平衡起重要调节作用,将有望成为促进骨再生修复的新型临床治疗策略。

2.4 外泌体与骨代谢疾病 骨质疏松是多种原因引起的骨密度和骨质量下降,骨微结构破坏,造成脆性增加并易于骨折的全身性骨病。研究显示,BMSC来源的外泌体可有效改善骨质疏松症状,促进BMSC增殖、成骨分化及骨再生。Liu 等^[32]研究发现,功能正常的BMSC分泌的外泌体可靶向调控狼疮所致骨质疏松表型小鼠BMSC的功能与活性,有效改善骨质疏松症状。进一步研究显示,正常BMSC分泌的外泌体含有 Fas 蛋白(而疾病小鼠缺乏 Fas 蛋白),将其转移到疾病小鼠BMSC内,可显著降低胞内miRNA-29b的含量,提高胞内甲基化酶Dnmt1的活性,进而提高Notch启动子甲基化水平,降低Notch基因的表达,最终可恢复疾病小鼠BMSC的功能和成骨分化能力,增加小鼠的股骨骨密度及骨体积分数,促进骨再生,改善小鼠骨质疏松症状。另有研究也得出类似的结果,Qi 等^[33]在体外应用人类诱导多能干细胞来源的间充质干细胞分泌的外泌体(hiPSC-MSC-Exos)可增强骨质疏松大鼠BMSC的增殖能力,上调成骨相关基因碱性磷酸酶、骨钙素、骨桥蛋白、RUNX2的mRNAs和蛋白表达水平,从而促进成骨分化;进一步在骨质疏松合并颅骨缺损大鼠模型体内,使用hiPSC-MSC-Exos + 载体 β -TCP支架可显著刺激颅骨缺损的骨再生和血管生成,且效果随外泌体浓度的增加而增强。这些研究使用BMSC分泌的外泌体成功治疗骨质疏松动物模型,为人类骨质疏松的临床治疗提供了新的思路和有效方法。

另有研究报道,骨质疏松患者及年龄大于 55 岁捐赠者的血浆中miRNA-31水平较年龄小于 25 岁捐赠者显著升高,进一步发现衰老内皮细胞来源的外泌体通过传递其内的miRNA-31至BMSC,干预BMSC的成骨分化及抑制骨形成,介导骨质疏松的发展,说明外泌体miRNA-31可能部分调控年龄相关的骨愈合下降及骨质疏松的病理过程^[34]。结合前文所述,鼠类破骨细胞来源的外泌体miRNA-214及miRNA-214-3p可作为骨质疏松的生物标志物,靶向抑制其表达可改善骨质疏松鼠体内的成骨细胞功能障碍并促进骨形成,将成为人类骨质疏松等相关骨代谢疾病的新治疗靶点^[8, 24]。

3 外泌体的应用前景与展望

外泌体作为纳米级的生物膜结构,广泛分布并稳定存在于各种体液中,携带和传递重要的信号分子,形成了一种全新的细胞间信息传递系统,影响细胞的生理状态并与多种疾病的发生与进程密切相关,在体内有较长的半衰期且不易被灭活,能够顺利通过各种生物屏障并避免机体的免疫排斥,同时较好地保证了内容物的完整性及生物活性,这些优势

使得外泌体可成为潜在的生物标志物、非侵入性的临床疾病诊断工具及疾病进展预后指标,并可作为天然的药物递送载体及靶向基因治疗载体。

BMSC 因具有多向分化潜能和强大增殖能力的特性而成为组织损伤修复治疗的研究热点,并且BMSC是目前被认为产生外泌体能力最强的细胞^[35]。BMSC分泌的外泌体的功能与其类似,越来越多的证据表明BMSC来源的外泌体比 BMSC 更具有保护和修复作用,很多与BMSC移植有关的安全性问题和限制可以被减轻,可避免BMSC移植后分化为成骨细胞潜能的同时出现其他组织骨化及钙化的风险;可避免成瘤性的安全问题;可避免BMSC静脉输注时由于细胞体积相对较大而引起的滞留及血循环远端的微脉管系统堵塞;可因外泌体能够穿过质膜进入靶细胞内而减轻免疫排斥反应。外泌体可通过大规模生产BMSC提纯获取,可在-20℃储存6个月而不改变生物活性,有着便于储存和运输的优点^[17]。因此 BMSC 来源的外泌体可成为骨组织再生修复的一种具有良好应用前景的新型治疗策略。

目前外泌体的应用大部分还仅限于研究阶段,尽管在动物模型中已证实外泌体对促进骨形成、抑制骨吸收具有一定的效果,但将外泌体应用于骨代谢疾病的临床治疗还面临许多尚未解决的难题。例如,如何规范化、高效的生产纯度及生物活性均有保证的外泌体,静脉注射后如何使其准确定位到靶组织或靶细胞等。尽管目前外泌体的研究还处在初始阶段,但随着对外泌体研究的深入,将更系统和准确地了解其与靶细胞之间的信号机制,对优化疾病的诊治和预防具有重要的临床意义,它未来的应用前景非常广阔。

参 考 文 献

- [1] Yu B, Zhang X, Li X. Exosomes derived from mesenchymal stem cells[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(3):4142-4157. DOI:10.3390/ijms15034142.
- [2] Whiteside TL. Exosomes and tumor-mediated immune suppression[J]. J Clin Invest, 2016, 126(4):1216-1223. DOI: 10.1172/JCI81136.
- [3] Rani S, Ritter T. The exosome-a naturally secreted nanoparticle and its application to wound healing[J]. Adv Mater, 2016, 28(27):5542-5552. DOI:10.1002/adma.201504009.
- [4] Qin Y, Sun R, Wu C, et al. Exosome: a novel approach to stimulate bone regeneration through regulation of osteogenesis and angiogenesis[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(5): pii: E712. DOI:10.3390/ijms17050712.
- [5] Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends[J]. J Cell Biol, 2013, 200(4):373-383. DOI:10.1083/jcb.201211138.

- [6] Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 255-289. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122326.
- [7] Ge M, Ke R, Cai T, et al. Identification and proteomic analysis of osteoblast-derived exosomes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467 (1): 27-32. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.09.135.
- [8] Li D, Liu J, Guo B, et al. Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10872. DOI: 10.1038/ncomms10872.
- [9] Lässer C, O'Neil SE, Ekerljung L, et al. RNA-containing exosomes in human nasal secretions [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25 (2): 89-93. DOI: 10.2500/ajra.2011.25.3573.
- [10] Malda J, Boere J, van de Lest CH, et al. Extracellular vesicles: new tool for joint repair and regeneration [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12 (4): 243-249. DOI: 10.1038/nrrheum.2015.170.
- [11] Kato T, Miyaki S, Ishitobi H, et al. Exosomes from IL-1 β stimulated synovial fibroblasts induce osteoarthritic changes in articular chondrocytes [J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16 (4): R163. DOI: 10.1186/ar4679.
- [12] Tetta C, Ghigo E, Silengo L, et al. Extracellular vesicles as an emerging mechanism of cell-to-cell communication [J]. *Endocrine*, 2013, 44 (1): 11-19. DOI: 10.1007/s12020-012-9839-0.
- [13] Aliotta JM, Pereira M, Li M, et al. Stable cell fate changes in marrow cells induced by lung-derived microvesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2012, 1. DOI: 10.3402/jev.v1i0.18163.
- [14] Franzen CA, Simms PE, Van Huis AF, et al. Characterization of uptake and internalization of exosomes by bladder cancer cells [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 619829. DOI: 10.1155/2014/619829.
- [15] Subra C, Grand D, Laulagnier K, et al. Exosomes account for vesicle-mediated transcellular transport of activatable phospholipases and prostaglandins [J]. *J Lipid Res*, 2010, 51 (8): 2105-2120. DOI: 10.1194/jlr.M003657.
- [16] Zhang J, Li S, Li L, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function [J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2015, 13 (1): 17-24. DOI: 10.1016/j.gpb.2015.02.001.
- [17] Lai RC, Chen TS, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosome: a novel stem cell-based therapy for cardiovascular disease [J]. *Regen Med*, 2011, 6 (4): 481-492. DOI: 10.2217/rme.11.35.
- [18] Lai RC, Arslan F, Lee MM, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Stem Cell Res*, 2010, 4 (3): 214-222. DOI: 10.1016/j.scr.2009.12.003.
- [19] de Gassart A, Geminard C, Fevrier B, et al. Lipid raft-associated protein sorting in exosomes [J]. *Blood*, 2003, 102 (13): 4336-4344. DOI: 10.1182/blood-2003-03-0871.
- [20] Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication [J]. *J Proteomics*, 2010, 73 (10): 1907-1920. DOI: 10.1016/j.jprot.2010.06.006.
- [21] Cui Y, Luan J, Li H, et al. Exosomes derived from mineralizing osteoblasts promote ST2 cell osteogenic differentiation by alteration of microRNA expression [J]. *FEBS Lett*, 2016, 590 (1): 185-192. DOI: 10.1002/1873-3468.12024.
- [22] Deng L, Wang Y, Peng Y, et al. Osteoblast-derived microvesicles: a novel mechanism for communication between osteoblasts and osteoclasts [J]. *Bone*, 2015, 79: 37-42. DOI: 10.1016/j.bone.2015.05.022.
- [23] Huynh N, VonMoss L, Smith D, et al. Characterization of regulatory extracellular vesicles from osteoclasts [J]. *J Dent Res*, 2016, 95 (6): 673-679. DOI: 10.1177/0022034516633189.
- [24] Sun W, Zhao C, Li Y, et al. Osteoclast-derived microRNA-containing exosomes selectively inhibit osteoblast activity [J]. *Cell Discov*, 2016, 2: 16015. DOI: 10.1038/celldisc.2016.15.
- [25] Lai RC, Yeo RW, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosomes [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40: 82-88. DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.03.001.
- [26] Ekström K, Omar O, Granéli C, et al. Monocyte exosomes stimulate the osteogenic gene expression of mesenchymal stem cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9): e75227. DOI: 10.1371/journal.pone.0075227.
- [27] 王姿, 丁丽, 郑晓丽, 等. 树突状细胞外泌体诱导间充质干细胞而成骨细胞分化 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22 (3): 600-604. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2014.03.005.
- [28] Oliveira MC, Arntz OJ, Blaney Davidson EN, et al. Milk extracellular vesicles accelerate osteoblastogenesis but impair bone matrix formation [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 30: 74-84. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2015.11.017.
- [29] Xu JF, Yang GH, Pan XH, et al. Altered microRNA expression profile in exosomes during osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (12): e114627. DOI: 10.1371/journal.pone.0114627.
- [30] 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* [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21961. DOI: 10.1038/srep21961.
- [31] Furuta T, Miyaki S, Ishitobi H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5 (12): 1620-1630. DOI: 10.5966/sctm.2015-0285.
- [32] Liu S, Liu D, Chen C, et al. MSC transplantation improves osteopenia via epigenetic regulation of notch signaling in lupus [J]. *Cell Metab*, 2015, 22 (4): 606-618. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.08.018.
- [33] Qi X, Zhang J, Yuan H, 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 [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12 (7): 836-849. DOI: 10.7150/ijbs.14809.
- [34] Weilner S, Schraml E, Redl H, et al. Secretion of microvesicular miRNAs in cellular and organismal aging [J]. *Exp Gerontol*, 2013, 48 (7): 626-633. DOI: 10.1016/j.exger.2012.11.017.
- [35] 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.

(收稿日期: 2016-09-26)