

# 外泌体对骨重塑的调控作用

郭健民<sup>1</sup> 邹军<sup>2</sup> 王淼<sup>1</sup> 陈熙<sup>3\*</sup><sup>1</sup>上海体育学院运动科学学院, 上海 200438; <sup>2</sup>上海体育学院发展规划处, 上海 200438;<sup>3</sup>温州医科大学体育科学学院, 温州 325035)

**摘要** 外泌体是一类胞外囊泡, 它可以通过脂质、mRNA、microRNA、蛋白质等生物活性分子的运输, 在局部或全身细胞与细胞间的通讯中发挥重要的调控作用。外泌体通过直接与受体细胞的细胞膜融合或内吞作用来转运其携带物。外泌体在病理状态下或细胞分化的不同时期呈现不同的水平, 这使得其可以作为诊断疾病或评定细胞分化程度的生物标志物。最新研究发现, 不同细胞来源的外泌体在骨重塑中发挥重要的调控作用。外泌体可以调控骨骼中骨髓间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞的增殖、分化和凋亡, 以影响骨形成和骨吸收; 同时在骨质疏松、股骨头坏死、骨折、颅骨缺损、软骨缺损等各种骨组织损伤修复的过程中也起着关键性的作用。

**关键词** 外泌体; 骨细胞; 骨重塑

## Regulation of Exosomes on Bone Remodelling

Guo Jianmin<sup>1</sup>, Zou Jun<sup>2</sup>, Wang Miao<sup>1</sup>, Chen Xi<sup>3\*</sup><sup>1</sup>School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China; <sup>2</sup>Development and Planning Department, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438 China; <sup>3</sup>School of Sports Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035 China)

**Abstract** Exosomes are small sized vesicles released into the extracellular space, which play important roles in the regulation of cell-to-cell communication through delivery of bioactive molecules such as lipids, mRNA, microRNA and proteins. Exosomes transfer their contents by direct fusion with the membrane of recipient cells or by endocytosis. It was found that the influence of exosomes on the cells might due to pathological conditions or at different stages of differentiation. Thus, exosomes can be the biomarkers for diagnoses or assessing cell differentiation. Previous studies found that exosomes derived from different cells played a key role in regulation of bone remodelling through affecting bone formation and bone resorption by regulate the proliferation, differentiation and apoptosis of various cells in the bones. It also have been showed that exosomes play essential roles in the diseases developing of osteoporosis, femoral head necrosis, fractures, skull defects, cartilage defects.

**Keywords** exosome; bone cells; bone remodelling

骨重塑是修复骨结构的微损伤和替换老化骨组织并且终身持续发生的过程<sup>[1]</sup>。它包括破骨细胞

主导的骨吸收和成骨细胞主导的骨形成, 破骨细胞活性增加或成骨细胞生成减少会使骨重塑失败, 引

收稿日期: 2017-11-29 接受日期: 2018-03-02

温州市公益性科技计划项目(批准号: Y20170225)、浙江省高等教育学会体育专项课题(批准号: zgt201638)、国家自然科学基金项目(批准号: 81702235、81572242)和上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(上海体育学院)(批准号: 11DZ2261100)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0577-86699351, E-mail: chenab004@126.com

Received: November 29, 2018 Accepted: March 2, 2018

This work was supported by Wenzhou Public Welfare Science and Technology Plan Project (Grant No.Y20170225), the Sports Program of Zhejiang Association of Higher Education (Grant No.zgt201638), the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81702235, 81572242) and Shanghai Key Lab of Human Sport Competence Development and Maintenance (Shanghai University of Sport) (Grant No.11DZ2261100)

\*Corresponding author. Tel: +86-577-86699351, E-mail: chenab004@126.com

网络出版时间: 2018-06-01 16:38:42

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180601.1638.024.html>

起骨质疏松、骨性关节炎、类风湿性关节炎等骨疾病<sup>[2]</sup>。这些骨疾病会使患者的生活质量大大下降,同时这也是亟待解决的全球健康问题<sup>[3-4]</sup>。

外泌体是一类直径在30~150 nm的囊泡,它可由多种类型的细胞(包括上皮细胞、神经元细胞、脂肪细胞、免疫细胞、间充质干细胞等)释放;在大多数体液(如血液、尿液、唾液、滑液、脑脊髓液等)中均可以检测到,这表明其具有作为生物标志物的潜能<sup>[5]</sup>。外泌体可以通过刺激细胞表面的受体对靶细胞进行调控,并且可以与靶细胞相融合将自身的成分释放入细胞膜和细胞质<sup>[6]</sup>。外泌体可将活性蛋白、脂类、小分子以及RNAs由其起源细胞转运至靶细胞<sup>[7]</sup>,进而在细胞间通讯中发挥重要作用,同时对周围细胞的生理功能产生多种功效<sup>[8-9]</sup>。外泌体的功能仍在进一步的探索当中,目前相关的研究主要集中在将外泌体作为疾病诊断生物标志物的潜在应用上<sup>[10]</sup>。最新研究发现,外泌体在骨重塑中发挥重要作用(图1),本文综述国内外相关的文献报道,旨在为进一步探究外泌体对骨重塑的调控机制提供理论基础。

## 1 外泌体对骨代谢相关细胞的调控作用

骨骼中包含多种细胞,包括骨髓间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞、骨髓基质细胞、骨细胞

等,各种细胞受到严格的调控以维持骨骼的健康。

### 1.1 外泌体与骨髓间充质干细胞

骨髓间充质干细胞是具有自我更新能力的中胚层多能干细胞,可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、神经细胞和成肌细胞<sup>[11]</sup>。骨髓间充质干细胞的分化过程受到严格的调控,调控异常会引起病理性的后果<sup>[12]</sup>,如在老年人中骨量的减少常常伴随着骨髓脂肪的增加<sup>[13]</sup>。不同细胞来源的外泌体可以使相关促骨生成因子的表达增加,同时还可通过细胞表面的配体与靶细胞相结合,对靶细胞的生长和分化产生影响。Narayanan等<sup>[14]</sup>通过诱导人骨髓来源的间充质干细胞向成骨分化后提取外泌体,并将外泌体加入到人骨髓间充质干细胞培养液中,结果发现,在2D培养环境下,外泌体均可促进TGF- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1)、BMP9(bone morphogenetic protein 9)的表达;在3D培养环境下,可以促进RunX2(runt-related transcription factor 2)、Osterix的表达。此外,外泌体还可以与细胞基质蛋白I型胶原绑定,在体实验中发现,给予外泌体干预后,4周龄小鼠骨髓间充质干细胞向成骨分化增加,这表明,已分化的骨髓间充质干细胞来源外泌体可以调控其前体的成骨分化。Lu等<sup>[15]</sup>研究发现,骨髓间充质干细胞和髓核细胞可以相互吸收对方产生的外泌体,髓核细胞来源的外泌体可以促进骨髓间充

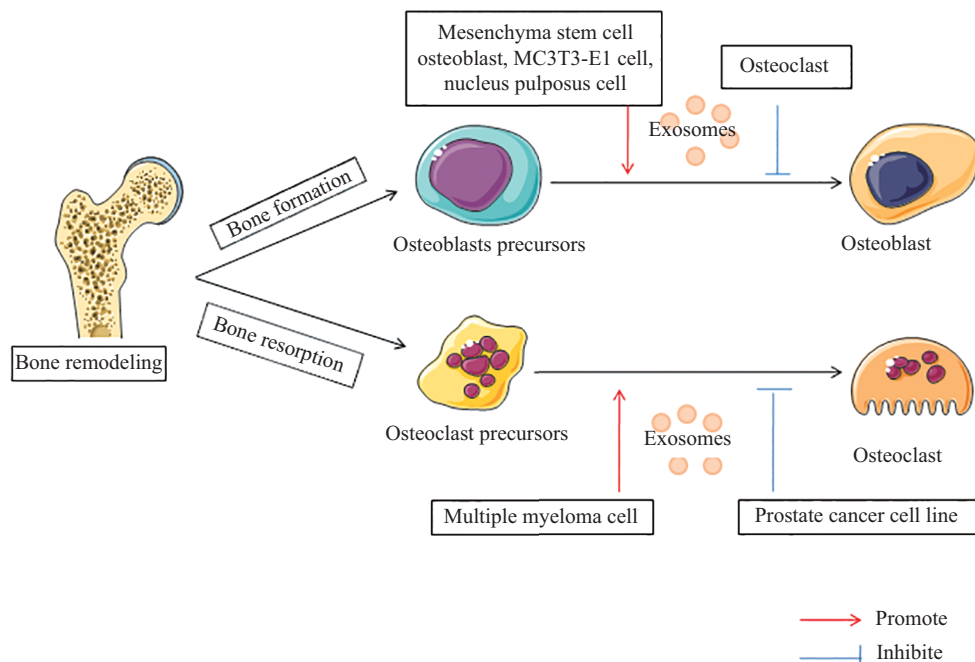


图1 外泌体对骨重塑的调控作用

Fig.1 Effect of exosomes in bone remodelling

质干细胞的迁移,同时诱导其向髓核样细胞谱系分化,该研究还发现,直接添加髓核细胞来源外泌体诱导骨髓间充质干细胞分化的效率比两种细胞共培养的效率要高,其机制可能与髓核细胞外泌体中TGF- $\beta$ 的表达较高有关。

### 1.2 外泌体与成骨细胞

骨骼的动态平衡由成骨细胞主导的骨形成和破骨细胞主导的骨吸收在精密调节下共同维持<sup>[16]</sup>。成骨细胞起源于骨髓间充质干细胞,是一类合成骨基质的单核细胞,也是骨的主要细胞成分<sup>[17]</sup>。外泌体可将microRNA由起源细胞转运至成骨细胞,并对成骨细胞中相关mRNA的表达产生影响。Sato等<sup>[18]</sup>研究发现,与野生型小鼠相比,骨细胞缺乏的小鼠血浆外泌体中有30条microRNAs表达下调,另有30条表达上调;表达下调的microRNAs中12条以及表达上调的microRNAs中的10条,与骨细胞系外泌体和心肌细胞外泌体microRNAs的表达相吻合,这表明外泌体可以释放入血液发挥相应的功能。

肌肉生长抑制素可以显著增加SOST(sclerostin)、DKK-1(dickkopf-1)、RANKL(receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand)在成骨细胞中的表达,同时可以抑制miR-218的表达以及外泌体的释放;肌肉生长抑制素修饰的骨细胞外泌体可以被MC3T3-E1细胞吸收,并且它能通过下调Wnt信号通路来抑制成骨前体细胞的成骨分化,其主要机制是外源性的miR-218可以抑制SOST在MC3T3-E1细胞中的表达,进而逆转肌肉生长抑制素对成骨分化的抑制作用,这表明骨细胞外泌体来源的miR-218可以通过激活Wnt信号通路来促进成骨分化<sup>[19]</sup>。Cui等<sup>[20]</sup>通过诱导MC3T3-E1细胞向成骨分化21天后,提取矿化成骨细胞外泌体进行检测,在被检测的1 135条microRNAs中有547条在外泌体中表达。该研究还发现,矿化成骨细胞来源外泌体可以被ST2细胞内化,并促进成骨标志物ALP、RunX2的表达使其成骨分化增加;通过筛选出部分microRNAs进行靶基因预测发现,矿化成骨细胞外泌体作用机制可能是其内含的某个microRNA通过激活Wnt信号通路来促进ST2细胞向成骨分化<sup>[20]</sup>。Lu等<sup>[21]</sup>的研究发现,脂肪组织来源的间充质干细胞(adipose tissue-derived MSCs, ASCs)产生的外泌体(ACS-derived exosomes, ASC-EXO)可以上调人成骨前体细胞中RunX2、I型胶原、OPN(osteopontin)等的表达水平,同时可以促进

细胞的增殖、迁移和成骨分化,此外,TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ )可以通过上调ASC-EXO中的Wnt-3a的表达来促进ASC-EXO的效能。

### 1.3 外泌体与破骨细胞

破骨细胞是起源于造血干细胞的多核细胞<sup>[22]</sup>,其主要功能是吸收骨基质<sup>[23]</sup>,破骨细胞介导的骨吸收增加会引起骨质疏松、类风湿性关节炎等骨丢失相关的疾病<sup>[24]</sup>。肿瘤细胞来源外泌体对破骨前体细胞的分化产生影响,进而影响骨吸收过程。Karlsson等<sup>[25]</sup>的研究发现,小鼠前列腺癌细胞来源的外泌体可以被破骨细胞祖细胞吸收,并使破骨细胞祖细胞的增殖和融合下降;该研究还发现,前列腺癌细胞来源的外泌体可以使破骨细胞标志物TRAP(tartrate-resistant acid phosphatase)、MMP9、组织蛋白酶K等的表达下降,进而抑制骨髓来源的破骨细胞祖细胞向破骨分化,这为骨骼疾病骨代谢的病理调节提供潜在治疗靶点。Raimondi等<sup>[26]</sup>通过体外实验发现,多发性骨肉瘤外泌体可以促进人或鼠的破骨前体细胞的迁移,并可以直接调控破骨标志物MMP9、组织蛋白酶K的表达,此外该研究还发现,多发性骨肉瘤外泌体可以促进破骨前体细胞分化形成破骨细胞,进而增加骨吸收活动,同时还可以抑制破骨细胞的凋亡,促进其生存,这表明骨肉瘤细胞外泌体可以通过促进破骨细胞的活动,引起骨吸收和骨形成的失衡。Li等<sup>[27]</sup>的研究发现,高表达的miR-214-3p与骨形成减少相关联,miR-214-3p可以降低小鼠成骨细胞的ALP活性以及OPN、BSP(bone sialoprotein)等的表达;在体实验发现,破骨细胞外泌体来源的miR-214-3p可以抑制骨生成,在去卵巢小鼠中抑制骨细胞miR-214-3p的表达会使骨生成增加,这表明破骨细胞来源的外泌体可以对成骨细胞进行调控进而影响骨生成。

综上所述,来源于不同细胞的外泌体可对间充质干细胞和成骨细胞中成骨分化标志物或骨代谢信号通路产生调控作用,进而影响骨形成过程;同时,还可以调控破骨细胞的增殖、分化对骨吸收产生影响。因此,外泌体发挥功能的作用机制可能与外泌体携带物中特异性的非编码RNA、蛋白或细胞因子有关。

## 2 外泌体与骨组织修复

骨形成和骨吸收保持动态平衡以维持骨骼的

健康, 骨代谢平衡的紊乱会引起骨质疏松等骨相关疾病的发生。骨质疏松会导致骨密度的下降、骨微结构的恶化, 从而增加骨折的风险<sup>[28-30]</sup>。外泌体可以通过调控骨重塑来影响骨质疏松的发展进程。破骨细胞来源的外泌体可以将miR-214转运至成骨细胞并抑制其活性, 该外泌体主要通过ephrinA2/EphA2来识别成骨细胞。骨质疏松症患者与小鼠血清中破骨细胞来源的外泌体中miR-214的表达水平显著高于正常人与小鼠, 在去卵巢小鼠中抑制破骨细胞外泌体的释放, 可以提高其骨密度、骨小梁数量、骨组织的体积同时增加成骨细胞的活性, 其机制主要是通过下调Rab27a的水平来实现<sup>[31]</sup>。Qi等<sup>[32]</sup>通过体外实验发现, 人诱导的多能干细胞来源的间充质干细胞外泌体可以促进骨质疏松大鼠骨髓间充质干细胞的增殖, 提高ALP活性以及OPN、RunX2、I型胶原等的表达水平, 进而促进其成骨分化与骨生成; 该研究还通过在去卵巢大鼠中建立颅骨缺损模型并给予该外泌体干预, 发现外泌体可以有效促进成骨标志物OCN、OPN的表达, 同时促进缺损部位血管的生成, 这表明该外泌体可以通过促进血管生成以及骨生成来促进骨质疏松大鼠的骨重建。

创伤导致的血管中断、酒精以及糖皮质激素的过度使用导致的脂肪栓塞、血管内凝血导致的血栓闭塞等缺血条件下, 可引起股骨头完整性的缺失和骨坏死<sup>[33]</sup>。间充质干细胞来源的外泌体可以通过激活相关的信号通路或促进成骨标志物的表达来改善股骨头坏死的情况。Liu等<sup>[34]</sup>将间充质干细胞分泌的外泌体注射入类固醇诱导的大鼠股骨头坏死模型体内, 结果发现, 该外泌体可以抑制股骨头坏死大鼠骨小梁变薄、分离度变大进而减少骨量的流失, 其作用机制被认为是通过激活PI3K/Akt信号通路来促进内皮细胞的增殖和迁移, 进而改善股骨头坏死的情况。Guo等<sup>[35]</sup>的研究发现, 人滑膜衍生的间充质干细胞外泌体可以提高股骨头坏死大鼠的骨小梁厚度、增加骨小梁数量、降低骨小梁分离度, 同时提高成骨标志物OCN的表达、减少细胞凋亡; 体外实验发现, 该外泌体可以被骨髓间充质干细胞吸收, 并且可以促进骨髓间充质干细胞的增殖、减少其细胞凋亡。

Zhang等<sup>[36]</sup>的研究发现, 间充质干细胞来源的外泌体可以提高颅骨缺陷模型大鼠缺陷区域的骨

量, 同时提高该区域的骨密度; 体外实验发现, 该外泌体还可以促进人骨髓间充质干细胞的增殖、迁移和成骨标志物ALP的表达; 通过芯片分析和验证实验发现, 其主要是通过激活PI3K/Akt信号通路来实现的。CD9是一个扩膜蛋白, 它通过细胞黏附、迁移、信号转导等与血管相关联, 同时还通过细胞融合参与受精、破骨细胞的发生以及肌肉的生成过程。Furuta等<sup>[37]</sup>的研究发现, 在CD9敲除的小鼠中股骨骨折的愈合延缓, 注射骨髓间充质干细胞培养液或骨髓间充质干细胞外泌体可以促进CD9敲除小鼠骨折的愈合, 而在野生型小鼠中只有骨髓间充质干细胞外泌体可以促进其骨折的愈合, 这表明骨髓间充质干细胞外泌体可以有效的促进骨生成。Zhang等<sup>[38]</sup>通过将人胚胎间充质干细胞外泌体注射入软骨缺损的大鼠模型中发现, 在6周时与对照组相比, 注射外泌体的大鼠软骨缺损部位被新的组织填充, 软骨表面整合度良好; 在12周时注射外泌体的大鼠缺损部位完全修复与正常大鼠无异, 其机制可能与骨髓间充质干细胞来源外泌体中的某些蛋白或microRNAs相关联。

在骨质疏松、股骨头坏死、骨折、颅骨缺损、软骨缺损等病理情况下, 不同细胞来源的外泌体可以促进相关成骨标志物的表达, 使骨生成增加。此外, 外泌体还可通过促进病变部位血管的新生, 有效地加速骨组织的修复, 这为临床骨疾病的康复提供了潜在治疗手段。

### 3 小结与展望

外泌体通过其携带的蛋白、miRNA等对骨骼中的骨髓间充质干细胞、成骨细胞、破细胞的活性及分化产生调控, 进而对骨形成和骨吸收产生影响。同时, 在各类骨组织损伤修复的过程中, 外泌体能够通过促进受损部位的血管新生和骨生成, 来加快组织修复过程, 这为临床相关骨疾病的治疗提供可行的方法。由于外泌体在病理状态下内容物表达水平有所不同, 因此利用外泌体作为早期骨骼疾病的诊断成为一种可能。由于外泌体的双层脂质包裹膜可以保护蛋白质和miRNA免受降解<sup>[39]</sup>, 因此, 可将外泌体作为特异性药物运输的载体<sup>[40]</sup>。此外, 运动作为一种常见防治骨质疏松的方法, 是否会对骨骼中各细胞外泌体的组分产生影响, 进而影响其在骨重塑中的作用也将成为我们未来的研究方向。

## 参考文献 (References)

- 1 Henriksen K, Karsdal MA, Martin TJ. Osteoclast-derived coupling factors in bone remodeling. *Calcif Tissue Int* 2014; 94(1): 88-97.
- 2 Sucur A, Katavic V, Kelava T, Jajic Z, Kovacic N, Grcevic D. Induction of osteoclast progenitors in inflammatory conditions: key to bone destruction in arthritis. *Int Orthop* 2014; 38(9): 1893-903.
- 3 Kowada T, Kikuta J, Kubo A, Ishii M, Maeda H, Mizukami S, *et al.* *In vivo* fluorescence imaging of bone-resorbing osteoclasts. *J Am Chem Soc* 2011; 133(44): 17772-6.
- 4 Liu W, Yang LH, Kong XC, An LK, Wang R. Meta-analysis of osteoporosis: fracture risks, medication and treatment. *Minerva Med* 2015; 106(4): 203-14.
- 5 El-Saghir J, Nassar F, Tawil N, El-Sabban M. ATL-derived exosomes modulate mesenchymal stem cells: potential role in leukemia progression. *Retrovirology* 2016; 13(1): 73.
- 6 Yanez-Mo M, Siljander PR, Andreu Z, Zavec AB, Borrás FE, Buzas EI, *et al.* Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* 2015; 4: 27066.
- 7 Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9(6): 654-9.
- 8 Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics* 2010; 73(10): 1907-20.
- 9 Wang X, Xu C, Hua Y, Sun L, Cheng K, Jia Z, *et al.* Exosomes play an important role in the process of psoralen reverse multidrug resistance of breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2016; 35(1): 186.
- 10 Kumar D, Gupta D, Shankar S, Srivastava RK. Biomolecular characterization of exosomes released from cancer stem cells: Possible implications for biomarker and treatment of cancer. *Oncotarget* 2015; 6(5): 3280-91.
- 11 Stecklum M, Wulf-Goldenberg A, Purfurst B, Siegert A, Keil M, Eckert K, *et al.* Cell differentiation mediated by co-culture of human umbilical cord blood stem cells with murine hepatic cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2015; 51(2): 183-91.
- 12 Duque G. Bone and fat connection in aging bone. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20(4): 429-34.
- 13 Meunier P, Aaron J, Edouard C, Vignon G. Osteoporosis and the replacement of cell populations of the marrow by adipose tissue. A quantitative study of 84 iliac bone biopsies. *Clin Orthop Relat Res* 1971; 80: 147-54.
- 14 Narayanan R, Huang CC, Ravindran S. Hijacking the cellular mail: exosome mediated differentiation of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Int* 2016; 2016: 3808674.
- 15 Lu K, Li HY, Yang K, Wu JL, Cai XW, Zhou Y, *et al.* Exosomes as potential alternatives to stem cell therapy for intervertebral disc degeneration: *in-vitro* study on exosomes in interaction of nucleus pulposus cells and bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8(1): 108.
- 16 Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3 Suppl 3: S131-9.
- 17 Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; 89(5): 747-54.
- 18 Sato M, Suzuki T, Kawano M, Tamura M. Circulating osteocyte-derived exosomes contain miRNAs which are enriched in exosomes from MLO-Y4 cells. *Biomed Rep* 2017; 6(2): 223-31.
- 19 Qin Y, Peng Y, Zhao W, Pan J, Ksiezak-Reding H, Cardozo C, *et al.* Myostatin inhibits osteoblastic differentiation by suppressing osteocyte-derived exosomal microRNA-218: A novel mechanism in muscle-bone communication. *J Biol Chem* 2017; 292(26): 11021-33.
- 20 Cui Y, Luan J, Li H, Zhou X, Han J. Exosomes derived from mineralizing osteoblasts promote ST2 cell osteogenic differentiation by alteration of microRNA expression. *FEBS Lett* 2016; 590(1): 185-92.
- 21 Lu Z, Chen Y, Dunstan C, Roohani-Esfahani S, Zreiqat H. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor-alpha preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration. *Tissue Eng Part A* 2017; 23(21/22): 1212-20.
- 22 Xing L, Schwarz EM, Boyce BF. Osteoclast precursors, RANKL/RANK, and immunology. *Immunol Rev* 2005; 208: 19-29.
- 23 Kikuta J, Ishii M. Osteoclast migration, differentiation and function: novel therapeutic targets for rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2013; 52(2): 226-34.
- 24 Goldring SR, Gravallesse EM. Mechanisms of bone loss in inflammatory arthritis: diagnosis and therapeutic implications. *Arthritis Res* 2000; 2(1): 33-7.
- 25 Karlsson T, Lundholm M, Widmark A, Persson E. Tumor cell-derived exosomes from the prostate cancer cell line TRAMP-C1 impair osteoclast formation and differentiation. *PLoS One* 2016; 11(11): e0166284.
- 26 Raimondi L, De Luca A, Amodio N, Manno M, Raccosta S, Taverna S, *et al.* Involvement of multiple myeloma cell-derived exosomes in osteoclast differentiation. *Oncotarget* 2015; 6(15): 13772-89.
- 27 Li D, Liu J, Guo B, Liang C, Dang L, Lu C, *et al.* Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation. *Nat Commun* 2016; 7: 10872.
- 28 Bliuc D, Alarkawi D, Nguyen TV, Eisman JA, Center JR. Risk of subsequent fractures and mortality in elderly women and men with fragility fractures with and without osteoporotic bone density: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. *J Bone Miner Res* 2015; 30(4): 637-46.
- 29 Bliuc D, Nguyen ND, Nguyen TV, Eisman JA, Center JR. Compound risk of high mortality following osteoporotic fracture and refracture in elderly women and men. *J Bone Miner Res* 2013; 28(11): 2317-24.
- 30 NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention Diagnosis, Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001; 285(6): 785-95.
- 31 Sun W, Zhao C, Li Y, Wang L, Nie G, Peng J, *et al.* Osteoclast-derived microRNA-containing exosomes selectively inhibit osteoblast activity. *Cell Discov* 2016; 2: 16015.
- 32 Qi X, Zhang J, Yuan H, Xu Z, Li Q, Niu X, *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. *Int J Biol Sci* 2016; 12(7): 836-49.

- 33 Mont MA, Hungerford DS. Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1995; 77(3): 459-74.
- 34 Liu X, Li Q, Niu X, Hu B, Chen S, Song W, *et al.* Exosomes secreted from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells prevent osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis. *Int J Biol Sci* 2017; 13(2): 232-44.
- 35 Guo SC, Tao SC, Yin WJ, Qi X, Sheng JG, Zhang CQ. Exosomes from human synovial-derived mesenchymal stem cells prevent glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in the rat. *Int J Biol Sci* 2016; 12(10): 1262-72.
- 36 Zhang J, Liu X, Li H, Chen C, Hu B, Niu X, *et al.* Exosomes/tricalcium phosphate combination scaffolds can enhance bone regeneration by activating the PI3K/Akt signaling pathway. *Stem Cell Res Ther* 2016; 7(1): 136.
- 37 Furuta T, Miyaki S, Ishitobi H, Ogura T, Kato Y, Kamei N, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model. *Stem Cells Transl Med* 2016; 5(12): 1620-30.
- 38 Zhang S, Chu WC, Lai RC, Lim SK, Hui JH, Toh WS. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 2016; 24(12): 2135-40.
- 39 Trokovic N, Pollanen R, Porola P, Stegaev V, Hetzel U, Tivesten A, *et al.* Exosomal secretion of death bullets: a new way of apoptotic escape? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 303(8): E1015-24.
- 40 Ohno S, Kuroda M. Exosome-mediated targeted delivery of miRNAs. *Methods Mol Biol* 2016; 1448: 261-70.