

细胞外囊泡与自噬在骨关节炎中的研究进展

李慧¹ 张苗¹ 吴伟¹ 郭健民¹ 邹军^{1,2} 王淼^{1,3*}

(¹上海体育学院运动科学学院, 上海 200438; ²上海体育学院运动发展规划处, 上海 200438;

³上海体育学院运动医学康复中心, 上海 200438)

摘要 骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种慢性关节疾病,其特征为关节软骨的退化、丧失,滑膜和软骨下骨增生,严重影响患者的生活质量。已有研究表明,OA的发病机制与年龄、关节生物力学变化、炎症因子侵蚀、免疫反应、关节创伤有关。然而,其具体发病机制尚未完全解释。近来有研究发现,细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)和自噬在OA的发生发展中起到重要的作用,但缺乏系统而完整的论述。因此,该文从软骨细胞、滑膜细胞和间充质干细胞来源的EVs在OA软骨细胞增殖、分化中的作用和自噬调节软骨细胞稳态等角度出发,综述两者在OA中的最新研究进展,以为OA的诊断和治疗提供充足的理论依据和可能的应用策略。

关键词 骨关节炎; 细胞外囊泡; 自噬

Advance in Extracellular Vesicles and Autophagy for Osteoarthritis

Li Hui¹, Zhang Miao¹, Wu Wei¹, Guo Jianmin¹, Zou Jun^{1,2}, Wang Miao^{1,3*}

(¹School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China;

²Development and Planning Office, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China;

³Department of Sport Rehabilitation, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Abstract Osteoarthritis (OA) is a chronic joint disease characterized by the degeneration and loss of articular cartilage, synovial and subchondral bone hyperplasia, which seriously affect the quality of patients life. Previous studies have shown that the pathogenesis of OA is related to age, joint biomechanical changes, inflammatory factor erosion, immune response and joint trauma. However, the specific pathogenesis of OA has not been explained. Recent studies have found that both extracellular vesicles (EVs) and autophagy play important role in the proliferation and homeostasis of OA, but lack systematic and completely discussion. Therefore, in this work, the effect on the proliferation and differentiation of OA chondrocytes and autophagy to regulate the homeostasis of chondrocytes of EVs, which derive from chondrocytes, synovial cells and mesenchymal stem cells are reviewed. We aims to review the latest research progress in OA from the aspect of EVs and autophagy, which may provide possible theoretical basis and strategies for the diagnosis and treatment of OA.

Keywords osteoarthritis; extracellular vesicles; autophagy

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是当今全球范围内最常见的关节疾病,表现为软骨退行性丧失,继而软骨变性、软骨下骨破坏、骨质增生边缘骨赘形成

及关节间隙变窄引发关节疼痛及功能障碍等,患者有关节疼痛、僵硬、活动能力下降等症状,严重者可导致活动功能障碍,给个人、家庭和社会造成严

收稿日期: 2018-07-05 接受日期: 2018-09-25

国家自然科学基金(批准号: 81170323)和运动健身科技省部共建教育部重点实验室(上海体育学院)(批准号: 11DZ2261100)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13817499749, E-mail: thomask88@126.com

Received: July 5, 2018

Accepted: September 25, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81170323) and Shanghai Key Lab of Human Sport Competence Development and Maintenance (Shanghai University of Sport) (Grant No.11DZ2261100)

*Corresponding author. Tel: +86-13817499749, E-mail: thomask88@126.com

网络出版时间: 2018-11-26 16:58:50

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20181126.1658.004.html>

重的负担^[1-2]。流行病学数据表明, 成年人OA发病率超过22%, 其中65岁以上老年人发病率已上升至49%^[3]。大量研究表明, OA的发病机制与年龄、关节生物力学变化、炎症因子侵蚀、免疫反应、关节创伤有关, 但其具体的发病机制仍需进一步研究^[4-5]。由于发病机制不明确, 其治疗手段也存在缺陷。当前, 针对OA的治疗分为保守治疗和手术治疗两种, 前者多采用药物延缓其恶化, 并不能治愈, 且副作用较大, 后者多采用关节置换, 存在风险高、花费多, 创伤面大等弊端。因此, 全面透彻的研究OA的发病机制, 发现新的治疗靶点迫在眉睫。近年来, 细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)和自噬对OA在内的众多疾病的调控作用成为研究的热点, 这为OA的防治指出了新的研究方向。

1 骨关节炎与细胞外囊泡

1.1 细胞外囊泡的结构与功能

EVs是细胞分泌的膜连接微粒, 广泛存在于组织中, 包括滑膜和血液^[6-7]。EVs可以出芽的方式直接从细胞膜分离, 也可经内体多囊体与质膜融合后释放^[8]。目前, EV大致分为三类: 第I类由质膜或裂变出芽产生的微泡/微粒/内体(microvesicle, MV), 直径为100~1 000 nm; 第II类是外泌体(exosome, EXOs), 是由直径小于100 nm的多囊泡融合所产生; 第III类是凋亡小体(apoptotic bodies, ABs), 即在凋亡过程中释放的囊泡^[9]。

自1964年首次被发现以来, 越来越多的研究证实, EVs是细胞间长距离信号传递的载体, 有可能是疾病循环生物标志物丰富且稳定的来源^[10-12]。EVs不仅是生物活性信号分子载体(例如蛋白质、酶、mRNA、miRNA、DNA和脂质), 而且其膜上还存在着一些配体。一方面, EVs可以通过细胞膜上的信号通路发挥间接作用; 另一方面, 它可与细胞膜融合, 将信号分子转移到细胞质中, 从而直接激活或抑制细胞内的相关信号途径。此外, EVs可以通过内吞的方式进入细胞并将其内容物释放至靶细胞器。因此, EVs是很好的细胞间“通讯员”, 对其进行深入研究可能会得到有价值的、新颖的发现。

1.2 细胞外囊泡对骨关节炎的影响

早在1969年, 有科学家发现, 在生长板发育阶段分泌一种特殊类型的EVs, 存在于软骨内骨钙化的起始位点, 作用于骨钙化^[7]。在此过程中, 软骨细

胞和成骨细胞来源的EVs从细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中吸收无机磷酸盐和钙, 然后在管腔中矿化成羟基磷灰石晶体。随后, ECM中的羟基磷灰石晶体沉积进一步细化, 最终形成软骨^[13]。由于EVs中含有多种生长因子和蛋白质, 如骨形态发生蛋白和血管内皮生长因子^[14], 因此, 有科学家推测, EVs可能参与血管生成、软骨细胞和成骨细胞的分化。近年来, 软骨细胞、滑膜细胞和间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在OA的发生发展中的作用已逐渐被证实, 其分泌的细胞外囊泡在其中发挥了不可或缺的作用^[15]。

1.2.1 关节软骨细胞来源的细胞外囊泡对骨关节炎的作用

骨关节炎主要表现为软骨细胞功能异常导致的关节软骨病变。关节软骨具有一套独特的功能体系结构为关节活动提供终生服务, 防止关节间的磨损, 缓冲相连骨在走路、跳跃及其他运动时的震动和冲击。关节软骨功能的发挥主要依靠软骨细胞维持其正常的生理代谢, 因此, 其分化、增生和肥大等直接影响关节软骨的功能继而影响骨关节炎进程^[16]。

关节软骨囊泡(articular cartilage vesicles, ACVs)是由正常的关节软骨以出芽方式分泌的膜连接EVs, 直径在50~250 nm, 包括微泡和线粒体。ACVs最初在骨关节炎患者的关节软骨中被发现^[17], 随后被证实也存在于正常关节软骨中^[18]。ACVs中含有细胞外基质组分、磷脂结合蛋白、酶和细胞骨架组分(包括肌动蛋白)等。其中, ACVs除了在软骨中形成病理性钙晶体外, 还含有骨关节炎患者所特有的免疫蛋白和血清补体成分^[19], 并可通过调控RNA转录和蛋白质表达影响正常软骨细胞的表型分化^[20]。此外, 骨关节炎患者的关节软骨囊泡中蛋白聚糖含量降低, 其中蛋白聚糖减少是软骨降解的一个标志性指标。骨关节炎早期, 基质降解酶释放的ACVs可直接与软骨细胞发生反应, 导致软骨细胞肥大^[13]。总的来说, OA的发病可影响关节软骨囊泡的释放, 反之, 关节软骨囊泡影响正常软骨细胞, 进一步促进OA的发展。

1.2.2 滑膜细胞来源的细胞外囊泡对骨关节炎的作用

骨关节炎的发生不仅局限于软骨, 还包括软骨下骨、滑膜、半月板和韧带等。其中, 滑膜细胞是构成滑膜层的最大细胞群体, 是维持关节正常功能的重要组织结构。一方面, 滑膜细胞可以产生润滑

液,减少关节磨损;另一方面,滑膜细胞增生会分泌大量的效应因子促进炎症和关节损坏。

滑膜细胞分泌的EVs与软骨细胞分泌的ACVs所含成分不同^[21],表明细胞类型不同所分泌的EVs也不同。滑膜分泌的EVs可用于检测自身免疫性疾病,如类风湿性关节炎和青少年特发性关节炎^[22]。由此推测,滑膜分泌的EVs在骨关节炎中也存在某些作用。研究发现,骨关节炎影响滑膜细胞来源的EVs的组成,使之出现异常的矿物质和晶体沉积,并影响软骨细胞中的基因表达^[23]。滑膜液中的EVs可能直接来源于滑膜细胞或软骨细胞,由血浆间接转化形成。值得注意的是,OA患者滑膜液来源的EVs所含miRNA出现了特异性的变化^[24],并存在性别差异,提示雌激素可能在miRNA的表达中扮演着重要的角色。据此,可推测滑膜液中细胞外囊泡在OA中发挥重要作用,其miRNA可能是OA新的生物标志物。

1.2.3 间充质干细胞来源的细胞外囊泡对骨关节炎的作用 MSCs是干细胞家族的重要成员,属于多能干细胞,体外分离特定条件培养下可分化为软骨细胞、成骨细胞和成脂细胞,众多离体实验和临床疗效观察已证明其对OA软骨修复有积极作用^[25-28]。

MSCs分泌的EVs在关节软骨的发育和OA进程中发挥了重要的作用。Lucienne等^[29]发现,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)分泌的EVs可抑制炎症介质对软骨稳态的破坏,并促进体外软骨再生。研究表明,EVs中的微泡和外泌体对OA软骨损伤修复有积极作用^[30]。在OA小鼠关节内注射BMSCs分泌的微泡和线粒体可有效抑制胶原酶诱导的OA,进一步证实EVs可能是MSCs发挥保护作用的主要成分^[31-32]。以上研究可以证明,MSCs分泌的EVs可作为OA研究和治疗的有效途径。

综上所述,EVs广泛参与了OA的发生发展过程,此过程中软骨细胞、滑膜细胞和MSCs均可分泌EVs并起到关键性作用。因此,从细胞分泌的EVs角度出发发现,其调控骨关节炎的机制是研究和治疗OA的有效前景靶点。

2 骨关节炎与自噬

2.1 自噬的功能及作用

除EVs外,自噬也广泛地参与了细胞间的信息

传递,在维持正常细胞稳态的过程中发挥重要作用。自噬是在各种应激条件下诱导的高度保守的分解代谢程序。在正常情况下,细胞吞噬多余的蛋白质和损伤的细胞器形成自噬体,自噬体与溶酶体融合后将这些蛋白质和细胞器清除。当自噬缺乏时,可导致细胞内有害物质堆积、基因异常表达,最终引起细胞死亡。有研究发现,抑制自噬基因表达可引起细胞死亡,间接证明自噬可维持细胞生存、正常运转和代谢。目前已有研究证实自噬可影响OA的发生发展。

2.2 自噬作用于骨关节炎

自噬作为“明星”机制,在多种疾病中发挥着无可替代的作用。自噬最初被认为是细胞内非选择性降解和回收胞内物质的代谢站。随着研究进一步深入,人们发现,自噬是一种高度选择性的过程,在很大程度上参与了细胞的一个或多个生理过程,对于维持细胞生存至关重要^[33]。随着年龄的增加,基础自噬活性减弱,胞内大分子蛋白聚集逐渐增多,最终导致细胞退行性改变、功能丧失,甚至凋亡^[34]。这种特性与因年龄因素导致的退行性OA中软骨退化不谋而合。目前已有证据表明,自噬是OA发病机制中的关键因素。OA患者软骨细胞缺乏自噬活性,并伴随软骨细胞死亡和组织损伤^[35]。在一项动物研究中,雷帕霉素通过激活自噬途径减轻了OA中软骨的损伤程度,因此提出自噬的激活可作为OA治疗方法的观点^[36]。Matsuzaki等^[37]发现,在OA软骨细胞中,Forkhead转录因子FoxO1(forkhead box protein O1)的过度表达减少了炎症介质和软骨降解酶的分泌,表明FoxO1转录因子通过调节软骨稳态和OA中的自噬,在软骨发育、成熟和内环境稳定中发挥关键作用,最终起到防止OA软骨损伤的作用。He等^[38]发现,miR-20在OA患者软骨中高表达,其机制是通过PI3K/AKT/mTOR信号通路靶向调控ATG10来抑制自噬,从而抑制软骨细胞的增殖,最终影响OA进程。综上所述,自噬在OA中发挥重要作用,将是研究OA发病机制和临床药物开发的潜在突破点。

3 细胞外囊泡结合自噬在骨关节炎的作用机制

研究发现,ACVs的分泌可由压力或凋亡引起^[39],而OA的发生与软骨细胞凋亡有关,因此推测,关节软骨受压或软骨细胞凋亡可分泌ACVs参与OA的

发展。一方面, 在内皮细胞中, 当自噬和细胞凋亡同时被激活时, EVs将通过细胞应激被释放; 另一方面, 有研究将微泡的矿化特征归因于凋亡小体, 因为他们认为凋亡小体可以矿化, 并且这是病理性矿化的起始^[40]。但也有研究表明, 微泡并不受细胞破坏或细胞凋亡的影响, 细胞凋亡不会导致ACVs分泌增多, 且成分不发生改变, 不增加钙化程度^[41]。

组织内的细胞数量和细胞的增殖与凋亡密切相关, 而存活信号途径[包括Ras/Raf/MEK/ERK(MAPK)和PTEN/PI3K/AKT/mTOR]的活化或抑制可显著改变细胞的增殖速率, 这直接决定了OA中受损组织的愈合速度^[42]。在关节软骨中, 由于软骨细胞增殖率低, 因此自噬在维持其稳态和功能方面显得尤为重要。OA和包括类风湿性关节炎在内的所有关节疾病的病理特征是相似的, 它们的共同特征是在合成和分解代谢之间失去平衡, 破坏了细胞外基质的完整性。而缺乏自噬可能引起细胞内稳态和细胞外基质的破坏。当稳态失衡时, 滑膜液中可溶性分子(细胞因子、生长因子和酶)的含量发生变化, 这与EVs内容物改变的程度是一致的。研究表明, 病理过程(如细胞死亡或损伤)会促进EVs的分泌。在内皮细胞中, 当自噬和细胞凋亡程序同时被激活时, EVs将以细胞应激的方式被分泌。例如人类内皮细胞的营养素缺乏可引起微泡的异常分泌^[43]。越来越多的研究表明, 自噬与ACVs的分泌有关^[44], 缺乏自噬可导致OA的发生。雷帕霉素可激活各种细胞类型的自噬, 并导致EVs释放增加。自噬抑制剂可以抵消雷帕霉素促软骨细胞ACVs分泌的作用^[45]。Rosenthal等^[46]测试了自噬调节剂对正常成年猪和OA患者软骨细胞的培养液中ACVs数量和含量的影响, 发现正常的关节软骨细胞中自噬正向调控其数量, 促进自噬的雷帕霉素以剂量和时间依赖性方式增加关节软骨囊泡数量, Caspase-3抑制和Rho/ROCK抑制剂则阻止了这种趋势, 缺乏自噬的OA软骨细胞在雷帕霉素作用下并没有出现ACVs数量增加的现象, 并且ACVs具有相似的胞外酶活性和RNA类型, 且所有都含有自噬标记物LC3。这些发现将自噬鉴定为ACVs形成的关键参与者, 这有助于我们了解其在软骨疾病和修复中的作用。同时, 外泌体的分泌和自噬之间也存在类似的平衡, 通过促使溶酶体中多余或受损细胞组分降解以维持细胞内稳态并促进压力下的能量保存过程^[47]。综上, OA、

自噬、EVs三者之间存在着微妙的联系, 但其中的机制仍需进一步探索和完善。

4 细胞外囊泡与自噬是未来骨关节炎诊断和治疗的靶点

为了减缓甚至阻止OA的发展, 进一步了解内在分子机制可能有助于选择合适的药物实现精确诊断和治疗。根据对上述机制陈述我们发现, EVs功能多样, 调节和释放途径特殊, 目前已成为OA病理学和病理生理学的新型生物标志物。认识到自噬是产生关节软骨囊泡的关键因素有助于软骨稳态和修复的研究。

作为一种囊泡载体, EVs可以有效保护RNA序列不被RNA水解酶快速降解, 从而使它们安全的运输到细胞外。作为关键miRNA载体的EVs也在细胞之间的信息传递中发挥作用。已有研究显示EVs中的mRNA和miRNA的模式可以通过细胞的刺激或基因转录而改变, 因此被施加特异性改变作为相应治疗用途的靶点^[23]。有研究发现, miRNA140在软骨细胞中高表达, 而在OA软骨细胞中的表达显著低于正常软骨细胞, 表明它可能在调节软骨稳态中发挥重要作用。其中, 解聚素、金属蛋白酶、血小板反应蛋白基序5和聚集蛋白聚糖核心蛋白的表达均受miRNA-140的调控, 也间接说明miRNA-140可能调节细胞外基质合成和降解之间的平衡^[48]。miRNA-155是一种自噬相关的miRNA, 在OA中被发现有高表达, 它可以通过调节自噬相关蛋白的表达抑制软骨细胞的自噬途径, 从而抑制软骨细胞的增殖, 加速OA进程^[49]。正常人ACVs的某些细胞外基质蛋白含量远高于OA水平, 如二型胶原、蛋白聚糖、软骨寡聚基质蛋白等^[19]。根据这一现象可以推测, 细胞外基质破坏可能会导致OA患者中这些重要蛋白质的流失。未来, 可以通过检测这些关键蛋白质的含量, 从分子生物学角度更敏感地观察OA的早期病变。此外, 有必要采取早期干预措施, 延缓或阻止早期OA的进一步发展。

MSCs可以分泌各种类型的EVs, 如微泡和外泌体, 并可以负载各种内源性RNA和蛋白质的干细胞衍生的EVs, 从而引起基因序列的重新排列, 诱导细胞增殖, 促进组织再生^[50]。并且众多研究表明, MSCs分泌的EVs可促进软骨修复并防止OA患者的软骨退化^[30,51-53]。使用EVs治疗OA有多种可行的治

疗策略。除关节周围注射EVs外,系统注射也有一定的治疗效果^[54]。最新研究表明,牛奶衍生的外泌体可以通过口服给药延缓小鼠类风湿性关节炎的发展^[55],由此猜测其在OA中也可能发挥作用,从而一定程度上解决了EVs的来源问题。

在各种类型的EVs中,与其他药物载体相比,外泌体具有抗体内生物降解、循环时间长(可被靶细胞精确识别)、分布广泛(各种体液,如血液、尿液、乳液等)、内容物多等诸多优点^[56-57]。这些重要发现可能成为未来准确诊断的基础,有助于提高OA分子水平诊断的精确度,进而制定出最合适的治疗计划。

5 总结

随着老龄化社会的到来,OA的发病率呈上升趋势,长期疼痛困扰着病患及家属,给家庭和社会造成了沉重的负担。OA的发病机制研究已经持续多年,但是迄今为止仍未十分明确。阐明OA的发病机制是早期诊断和治疗不可或缺的一步。近年来,包括微泡和外泌体在内的EVs得到越来越多的关注。目前尚不完全清楚分泌EVs的细胞器总共有哪些,并且影响其合成和释放的因素也不明朗。软骨细胞、滑膜细胞、MSCs来源的EVs在OA中的作用已经得到验证,并等待进一步完善。EVs具有的某些特征使其成为OA早期诊断的潜在靶点。尽管软骨细胞自噬失调在OA发病机制中的作用尚未完全明确,但进一步了解自噬在OA中的影响可能为后续治疗提供新的思路。值得注意的是,将外泌体用作临床药物载体之前,需要进一步研究其生物相容性、提取方法、治疗效果和体内耐受性,并需要考虑经济的可行性。EVs与自噬结合应用将开辟OA治疗的新的研究领域。

参考文献 (References)

- 1 Goldring SR, Goldring MB. Clinical aspects, pathology and pathophysiology of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6(4): 376-8.
- 2 Cross M, Smith E, Hoy D, Nolte s, Ackerman I, Fransen M, *et al*. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Ann Rheum Dis* 2014; 73(7): 1323-30.
- 3 Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of doctor-diagnosed arthritis and arthritis-attributable activity limitation—United States, 2010-2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013; 62(44): 869-73.
- 4 Heep H, Hilken G, Hofmeister S, Wedemeyer C. Osteoarthritis of leptin-deficient ob/ob mice in response to biomechanical loading in micro-CT. *Int J Bio Sci* 2009; 5(3): 265-75.
- 5 Silverwood V, Blagojevic-Bucknall M, Jinks C, Jordan JL, Protheroe J, Jordan KP, *et al*. Current evidence on risk factors for knee osteoarthritis in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage* 2015; 23(4): 507-15.
- 6 Berckmans RJ, Nieuwland R, Kraan MC, Schaap MC, Pots D, Smeets TJ, *et al*. Synovial microparticles from arthritic patients modulate chemokine and cytokine release by synoviocytes. *Arthritis Res Ther* 2005; 7(3): R536-44.
- 7 Anderson HC. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J Cell Biol* 1969; 41(1): 59-72.
- 8 Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem* 1987; 262(19): 9412-20.
- 9 Akers JC, Gonda D, Kim R, Carter BS, Chen CC. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *J Neurooncol* 2013; 113(1): 1-11.
- 10 Gao J, Wang S, Wang Z. High yield, scalable and remotely drug-loaded neutrophil-derived extracellular vesicles (EVs) for anti-inflammation therapy. *Biomaterials* 2017; 135: 62-73.
- 11 Bei Y, Das S, Rodosthenous RS, Holvoet P, Vanhaverbeke M, Monteiro MC, *et al*. Extracellular vesicles in cardiovascular theranostics. *Theranostics* 2017; 7(17): 4168-82.
- 12 Rufino-Ramos D, Albuquerque PR, Carmona V, Perfeito R, Nobre RJ, Pereira de Almeida L. Extracellular vesicles: Novel promising delivery systems for therapy of brain diseases. *J Control Release* 2017; 262: 247-58.
- 13 Gao T, Guo W, Chen M, Huang J, Yuan Z, Zhang Y, *et al*. Extracellular vesicles and autophagy in osteoarthritis. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 2428915.
- 14 Nahar NN, Missana LR, Garimella R, Taque SE, Anderson HC. Matrix vesicles are carriers of bone morphogenetic proteins (BMPs), vascular endothelial growth factor (VEGF), and noncollagenous matrix proteins. *J Bone Miner Metab* 2008; 26(5): 514-9.
- 15 Ahmed AS, Gedin P, Hugo A, Bakalkin G, Kanar A, Hart DA, *et al*. Activation of NF-kappaB in synovium versus cartilage from patients with advanced knee osteoarthritis: A potential contributor to inflammatory aspects of disease progression. *J Immunol* 2018; 201(7): 1918-27.
- 16 Yang W, Cao Y, Zhang Z, Du F, Shi Y, Li x, *et al*. Targeted delivery of FGF2 to subchondral bone enhanced the repair of articular cartilage defect. *Acta Biomater* 2018; 69: 170-82.
- 17 Berckmans RJ, Nieuwland R, Tak PP, Boing AN, Romijn FP, Kraan MC, *et al*. Cell-derived microparticles in synovial fluid from inflamed arthritic joints support coagulation exclusively via a factor VII-dependent mechanism. *Arthritis Rheum* 2002; 46(11): 2857-66.
- 18 DerfusBA, Kurtin SM, Camacho NP, Kurup I, Ryan LM. Comparison of matrix vesicles derived from normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Connect Tissue Res* 1996; 35(1/2/34): 337-42.
- 19 Anderson HC, Garimella R, Tague SE. The role of matrix vesicles in growth plate development and biomineralization.

- Front Biosci 2005; 10: 822-37.
- 20 Mitton E, Gohr CM, Mchally MT, Rosenthal AK. Articular cartilage vesicles contain RNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388(3): 533-8.
- 21 Xiao Z, Camalier CE, Nagashima K, Chan KC, Lucas DA, de la Cruz MJ, *et al.* Analysis of the extracellular matrix vesicle proteome in mineralizing osteoblasts. *J Cell Physiol* 2007; 210(2): 325-35.
- 22 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.
- 23 Miyaki S, Lotz MK. Extracellular vesicles in cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2018; 30(1): 129-35.
- 24 Tofino-Vian M, Guillen MI, Alcaraz MJ. Extracellular vesicles: A new therapeutic strategy for joint conditions. *Biochem Pharmacol* 2018; 153: 134-46.
- 25 Vega A, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, Alberca M, García V, Munar A, *et al.* Treatment of knee osteoarthritis with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells: a randomized controlled trial. *Transplantation* 2015; 99(8): 1681-90.
- 26 Wang Y, Yuan M, Guo QY, Lu SB, Peng J. Mesenchymal stem cells for treating articular cartilage defects and osteoarthritis. *Cell transplant* 2015; 24(9): 1661-78.
- 27 崔云鹏, 曹永平. 间充质干细胞治疗骨关节炎. *中国矫形外科杂志* (Cui Yunpeng, Cao Yongping. Mesenchymal stem cells for therapy of osteoarthritis. *Orthopedic Journal of China*) 2018; 1: 48-51.
- 28 张钟元, 江和训, 赵锦伟, 焦明航. 关节镜清理联合自体骨髓间充质干细胞移植治疗膝骨关节炎疗效观察. *风湿病与关节炎* (Zhang Zhongyuan, Jiang Hexun, Zhao Jinwei, Jiao Minghang. Arthroscopic debridement combined with bone marrow mesenchymal stem cells transplantation in the treatment of knee osteoarthritis. *Rheumatism and Arthritis*) 2018; 7(6): 39-42.
- 29 Vonk LA, van Dooremalen SFJ, Liu N, Klumperman J, Coffler PJ, Saris DBF, *et al.* Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles promote human cartilage regeneration *in vitro*. *Theranostics* 2018; 8(4): 906-20.
- 30 Cosenza S, Ruiz M, Toupet K, Jørgensen C, Noel D. Mesenchymal stem cells derived exosomes and microparticles protect cartilage and bone from degradation in osteoarthritis. *Sci Rep* 2017; 7(1): 16214.
- 31 De Bari C, Roelofs AJ. Stem cell-based therapeutic strategies for cartilage defects and osteoarthritis. *Curr Opin Pharmacol* 2018; 40: 74-80.
- 32 Toh WS, Lai RC, Hui JHP, Lim SK. MSC exosome as a cell-free MSC therapy for cartilage regeneration: Implications for osteoarthritis treatment. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 67: 56-64.
- 33 Dikic I, Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19(6): 349-64.
- 34 Okada H, Takabatake R, Honda M, Takegoshi K, Yamashita T, Nakamura M, *et al.* Peretinoin, an acyclic retinoid, suppresses steatohepatitis and tumorigenesis by activating autophagy in mice fed an atherogenic high-fat diet. *Oncotarget* 2017; 8(25): 39978-93.
- 35 Carames B, Taniuchi N, Otsuki S, Blanco FJ, Lotz M. Autophagy is a protective mechanism in normal cartilage, and its aging-related loss is linked with cell death and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62(3): 791-801.
- 36 Carames B, Hasegawa A, Taniuchi N, Miyaki S, Blanco FJ, Lotz M. Autophagy activation by rapamycin reduces severity of experimental osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71(4): 575-81.
- 37 Matsuzaki T, Alvarez-Garcia O, Mokuda S, Naqira K, Olmer M, Gamini R, *et al.* FoxO transcription factors modulate autophagy and proteoglycan 4 in cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Sci Transl Med* 2018; 10: 428.
- 38 He W, Cheng Y. Inhibition of miR-20 promotes proliferation and autophagy in articular chondrocytes by PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Biomed Pharmacother* 2018; 97: 607-15.
- 39 Kim HA, Lee YJ, Seong SC, Choe KW, Song YW. Apoptotic chondrocyte death in human osteoarthritis. *J Rheumatol* 2000; 27(2): 455-62.
- 40 Ryan LM, Cheung HS. The role of crystals in osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North America* 1999; 25(2): 257-67.
- 41 Bovellan M, Fritzsche M, Stevens C, Charras G. Death-associated protein kinase (DAPK) and signal transduction: blebbing in programmed cell death. *FEBS J* 2010; 277(1): 58-65.
- 42 Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Kempf RC, Long J, Laidler P, *et al.* Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging (Albany NY)* 2011; 3(3): 192-222.
- 43 Sirois I, Groleau J, Pallet N, Brassard N, Hamelin K, Londono I, *et al.* Caspase activation regulates the extracellular export of autophagic vacuoles. *Autophagy* 2012; 8(6): 927-37.
- 44 Wang AL, Lukas TJ, Yuan M, Du N, Tso MO, Neufeld AH. Autophagy and exosomes in the aged retinal pigment epithelium: possible relevance to drusen formation and age-related macular degeneration. *PLoS One* 2009; 4(1): e4160.
- 45 Jaovisidha K, Hung J, Ning G, Ryan LM, Derfus. Comparative calcification of native articular cartilage matrix vesicles and nitroprusside-generated vesicles. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10(8): 646-52.
- 46 Rosenthal AK, Gohr CM, Mitton-Fitzgerald E, Grewal R, Ninomiya J, Coyne CB, *et al.* Autophagy modulates articular cartilage vesicle formation in primary articular chondrocytes. *J Biol Chem* 2015; 290(21): 13028-38.
- 47 van Niel G, D'angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19(4): 213-28.
- 48 Miyaki S, Nakasa T, Otsuki S, Grogan SP, Hiqashiyama R, Inoue A, *et al.* MicroRNA-140 is expressed in differentiated human articular chondrocytes and modulates interleukin-1 responses. *Arthritis Rheum* 2009; 60(9): 2723-30.
- 49 D'Adamo S, Alvarez-Garcia O, Muramatsu Y, Flamigni F, Lotz MK. MicroRNA-155 suppresses autophagy in chondrocytes by modulating expression of autophagy proteins. *Osteoarthritis Cartilage* 2016; 24(6): 1082-91.
- 50 Konala VB, Mamidi MK, Bhonde R, Das AK, Pochampally R, Pal R. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: A new paradigm for cell-free regeneration. *Cytotherapy* 2016; 18(1): 13-24.
- 51 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.
- 52 Zhang S, Chuah SJ, Lai RC, Hui JHP, Lim SK, Toh WS. MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity. *Biomaterials* 2018; 156: 16-27.
- 53 Tao SC, Yuan T, Zhang YL, Yin WJ, Guo SC, Zhang CQ. Exosomes derived from miR-140-5p-overexpressing human synovial mesenchymal stem cells enhance cartilage tissue regeneration and prevent osteoarthritis of the knee in a rat model. *Theranostics* 2017; 7(1): 180-95.
- 54 Kim SH, Lechman ER, Bionco N, Menon R, Keravala A, Nash J, *et al.* Exosomes derived from IL-10-treated dendritic cells can suppress inflammation and collagen-induced arthritis. *J Immunol* 2005; 174(10): 6440-8.
- 55 Arntz OJ, Pieters BC, Oliveira MC, Bennink MB, de Vries M, van Lent PL, *et al.* Oral administration of bovine milk derived extracellular vesicles attenuates arthritis in two mouse models. *Mol Nutr Food Res* 2015; 59(9): 1701-12.
- 56 El-Andaloussi S, Lee Y, Lakhali-Littleton S, Li J, Gardiner C, Alvarez-Erviti L, Sargent IL, *et al.* Exosome-mediated delivery of siRNA *in vitro* and *in vivo*. *Nat Protoc* 2012; 7(12): 2112-26.
- 57 Sun D, Zhuang X, Xiang X, Liu Y, Zhang S, Liu C, *et al.* A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Mol Ther* 2010; 18(9): 1606-14.