

外泌体在肌骨衰减性疾病中的作用

刘晏东^{1#} 张彦军^{2#} 邓强^{2*} 李中锋² 彭冉东²

(¹甘肃中医药大学, 兰州 730030; ²甘肃省中医院, 兰州 730050)

摘要 近年来, 外泌体由于在多种疾病中的生理和病理作用以及增强组织修复的功能而被广泛关注。在肌肉-骨骼系统中, 携带多种生物活性分子的外泌体具有成骨细胞、破骨细胞、成肌细胞及骨髓间充质干细胞等多种来源, 可通过协调不同细胞间的通信参与肌肉-骨骼系统的许多生理和病理过程(肌少症、骨质疏松症、肌少-骨质疏松症), 这些功能最后体现为参与肌肉修复和骨骼重塑。由于外泌体是肌细胞与骨细胞之间进行交流的重要信使, 所以外泌体可能为我们探索肌少症和骨质疏松症提供新途径和新视角。该文基于外泌体对肌骨系统内部多种细胞间复杂的信使作用, 深入探讨外泌体与肌骨衰减性疾病的内在关系, 并展望外泌体在治疗肌骨衰减相关疾病方面的应用前景。

关键词 外泌体; miRNA; 肌骨衰减; 肌少-骨质疏松症

The Role of Exosomes in Musculoskeletal Degenerative Disease

LIU Yandong^{1#}, ZHANG Yanjun^{2#}, DENG Qiang^{2*}, LI Zhongfeng², PENG Randong²

(¹Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China;

²Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China)

Abstract In recent years, exosomes have attracted widespread attention due to their physiological and pathological effects in various diseases and enhancing tissue repair function. In the musculoskeletal system, exosomes carrying a variety of bioactive molecules have multiple sources such as osteoblasts, osteoclasts, muscle cells and bone marrow mesenchymal stem cells. They can participate in many physiological and pathological processes of the musculoskeletal system (sarcopenia, osteoporosis, osteosarcopenia) by coordinating the communication between different cells. These functions are finally reflected in participating in muscle repair and bone remodeling. Exosomes, as important messengers for intercellular communication within the musculoskeletal system, may be a new pathway and perspective for us to explore the pathogenesis, treatment targets, and crosstalk relationship between sarcopenia and osteoporosis. This article is based on the complex signaling effect of exosomes on various cells within the musculoskeletal system, and delves into the internal relationship between exosomes and musculoskeletal degenerative disease. It also looks forward to the application prospects of exosomes in the treatment of musculoskeletal degenerative disease.

Keywords exosomes; miRNA; musculoskeletal attenuation; osteosarcopenia

收稿日期: 2023-06-25

接受日期: 2023-08-04

国家中医药管理局国家中医临床研究基地业务建设科研专项课题项目(批准号: JDZX2015039)、兰州市科技计划(批准号: 2022-3-30)和甘肃省自然科学基金(批准号: 22JR5RA624)资助的课题

[#]共同第一作者

*通讯作者。Tel: 15002591575, E-mail: 2959183478@qq.com

Received: June 25, 2023

Accepted: August 4, 2023

This work was supported by the National Administration of Traditional Chinese Medicine National Clinical Research Base Business Construction Scientific Research Special Project (Grant No. JDZX2015039), the Lanzhou Science and Technology Plan (Grant No. 2022-3-30), and the Gansu Natural Science Foundation (Grant No. 22JR5RA624)

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-15002591575, E-mail: 2959183478@qq.com

外泌体是一种具有完整双层膜结构的细胞外囊泡,其直径为40~100 nm,可携带多种类型细胞释放的蛋白质、核糖核酸和脂质。最初的研究发现外泌体存在于各种体液中,随着研究深入,外泌体也被发现存在于骨骼和肌肉的多种细胞中^[1]。在肌肉-骨骼系统中,它携带细胞质、膜蛋白(受体和主要组织相容性复合体)、生长因子、核苷酸、lncRNA以及miRNA(microRNA)/mRNA,并在肌肉和骨骼的各种细胞间传递信号以参与本体细胞与四周组织靶细胞之间(受体-配体相互作用)的远距离通信。在外泌体中,研究最多的是miRNA^[2]。骨骼和肌肉密切相关,二者在解剖位置上相邻且存在相互的机械刺激和生化影响。而肌肉和骨骼紧密的生理联系在疾病表型上具体体现为肌肉减少症(sarcopenia, SP; 简称肌少症)与骨质疏松症(osteoporosis, OP)的相互作用,并最终导致肌骨共减的发生,造成患者虚弱、跌倒、骨折甚至死亡等不良结局。最近的研究报告称,来源于肌骨系统内各种细胞的外泌体在促进肌骨再生和修复方面显示出巨大的潜力^[2-3]。迄今为止,关于骨组织对成肌细胞或肌肉组织对骨细胞施加影响的机制仍然认识有限,而外泌体由于其可介导不同细胞和器官之间的通信作用,可能对治疗肌骨衰减及肌骨共减具有重要意义^[4]。已有研究表明,小鼠C2C12成肌细胞来源的外泌体可通过递送miR-3a-3p促进MC1T27-E3细胞的成骨分化^[5]。CHEN等^[6]研究表明,原代小鼠股骨成骨细胞也可通过外泌体中的lncRNA诱导C2C12成肌细胞分化。这表明骨骼来源的外泌体可能对肌肉质量起到正向调节作用,反之,肌肉来源的外泌体也可对骨重塑产生有利影响。这类研究结果预示着外泌体可能是肌骨重建相关细胞间重要的信使,并为基于外泌体制定SP、OP及肌少-骨质疏松症(osteosarcopenia, OS)的治疗策略奠定了理论基础。

1 外泌体在肌少症中的作用

1.1 外泌体对骨骼肌的病理作用

外泌体内包含复杂的核酸和蛋白质,其中miRNA是一类长度为20~24个核苷酸的小型非编码RNA。miRNA的表达和功能受运动影响,可在降解后参与部分骨骼肌蛋白质的基因编码,然后在多种肌细胞内发挥调节作用^[7-9]。骨骼肌含有多种miRNA,包括miR-1、miR-133、miR-181a-5p、miR-31和miR-

23a/27a等。其中miR-125b和miR-223可通过其靶标胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor 2, IGF-2)起作用,而miR-199-3p靶向IGF-1抑制PI3K/AKT/mTOR途径,最终降低肌肉蛋白质合成速率并造成肌再生障碍。miR-487b-3p可能通过靶向胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate 1, IRS1)来抑制肌肉蛋白质合成导致SP^[10]。miR-486的靶标是FoxO1和PTEN, miR-486可通过活化骨骼肌萎缩信号来调节蛋白质降解^[11]。此外,miRNA也在肌纤维类型的转化中发挥作用。例如,miR-208b和miR-499在抑制快肌纤维特异性基因和激活慢肌纤维特异性基因方面起着至关重要的作用^[12]。miR-1和miR-133a可通过影响骨骼肌线粒体动力学抑制成肌细胞的增殖活化^[13]。此外,miR-206、miR-375、miR-146a、miR-23a和miR-234已被证明可通过影响运动神经元和神经-肌肉接头(neuromuscular junction, NMJ)之间信号的稳定性导致肌肉萎缩。例如,miR-234可增加乙酰胆碱酯酶抑制剂的耐药性导致NMJ功能障碍^[14]。综上所述,这些外泌体可通过影响蛋白质的合成,调控肌纤维类型的转化以及干预线粒体动力学和神经-肌肉信号传导等多种途径引发SP。遗憾的是,外泌体影响肌再生的研究较少且较为浅显,现有研究并不能揭示它们影响肌再生的深层机制,这也阻碍了相关干预手段的制定。但这些研究结果至少可以帮助我们更好地理解SP的发病机制,并为未来的治疗策略提供新的研究方向。

1.2 外泌体对骨骼肌的保护作用

骨骼肌可在损伤后通过卫星细胞与受损肌纤维融合而自我再生,但随着年龄增大,卫星细胞的数量减少和功能减退会导致肌再生障碍。而研究发现,外泌体可以通过促进卫星细胞增殖和肌纤维生成调节蛋白质合成和肌肉再生,因为外泌体可传递肌源性生长因子,例如IGF、成纤维细胞生长因子-2和肝细胞生长因子等^[15]。在卫星细胞中,细胞外鸟苷-5'-三磷酸被证明可以增加肌肉特异性外泌体的水平,并诱导含有鸟苷的miRNA的释放^[16]。研究还发现miR-31参与调节卫星细胞激活剂生肌因子5(myogenic factor 5, Myf5)的转录及肌肉再生^[17]。FORTERR等^[18]通过蛋白组学研究,在骨骼肌分泌的外泌体中鉴定出了几种与肌肉生长和代谢相关的蛋白质,例如,他们在C2C12细胞分化为肌管后提取外泌体,并在这些外泌体中鉴定出了包括整合素亚基β1、CD9、CD81、神经细胞黏附分子、CD44和肌

磷脂在内的多种蛋白质组分, 这些成分可能在肌细胞的分化中起关键作用。同样, MOBLEY等^[19]研究证明, 乳清蛋白衍生的外泌体也可在体外增加肌肉蛋白质的合成量。自噬对于维持肌肉质量和功能也至关重要, 抑制自噬会加重肌肉萎缩^[7]。AMPK是一种重要的细胞内能量传感器, 可缓解SP症状和线粒体功能障碍^[21]。SONG等^[22]研究发现间充质干细胞来源的外泌体可通过增强AMPK/ULK1介导的自噬改善肌肉萎缩。GUESCINI等^[23]观察到外泌体miR-133b和miR-181a-5p在运动后诱导外泌体快速释放到血液循环中并且有利于肌肉再生, 这可能是运动改善SP的原因之一。CHATURVEDI等^[24]也通过动物实验进一步发现, 运动诱导释放的外泌体可通过上调miR-9b和miR-29以促进骨骼肌再生。miR-486同样由运动介导, 是胰岛素信号转导的负调节因子, 具有促进IGF-1/AKT/mTOR途径合成蛋白质以促进肌再生的潜力^[15]。虽然上述研究为基于外泌体治疗SP提供了现实可能, 但也存在许多困难需要克服。首先, 上述研究均以动物实验为主, 缺乏人体实验的验证, 所以无法揭示外泌体对人骨骼肌的确切效应。其次, 现有研究均以展示结果为主, 也就是说, 虽然可以证明外泌体对骨骼肌确实有保护作用, 但却没有明确揭示外泌体通过什么途径, 作用于何种靶标而起效。我们认为, 未来的研究应当以此为重要导向。

2 外泌体在骨质疏松症中的作用

2.1 外泌体对骨骼的病理作用

骨骼中的外泌体主要由骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)、成骨细胞和破骨细胞释放^[25]。外泌体在这些细胞之间的通信中起着关键作用, 并通过信号转导调节骨的形成和吸收。如果相关细胞中的外泌体发生变化, 那么异常的外泌体则会增加破骨细胞活性, 减少成骨细胞产生量从而导致OP^[26]。异常的外泌体参与许多信号通路, 如Wnt、MAPK和Hippo途径^[27]。SHAO等^[28]利用蛋白组学在骨质流失患者的血清外泌体中检测到多种蛋白明显失调, 涉及整合素和骨钙素等10种相关蛋白。成骨细胞释放的部分外泌体含有RANKL蛋白, 这表明成骨细胞来源的部分外泌体可以促进破骨细胞的形成^[29]。DENG等^[30]研究显示RANKL存在于UAMS-32P干细胞/成骨细胞

系的外泌体中, 来自这些细胞的外泌体可通过促进RAW264.7破骨前体细胞培养物中TRAP阳性多核细胞的形成以增加骨吸收, 使得钙离子丢失。这可能是通过外泌体表面的RANKL与破骨前体细胞上的RANK受体相互作用所导致的。而破骨细胞来源的外泌体既可促进成骨, 又可促进破骨。LI等^[31]研究表明, 破骨细胞衍生的外泌体可以将miR-214-3p转移到成骨细胞中并抑制成骨。他们的研究还表明, 人体骨骼中miR-214-3p表达量的增加与血清外泌体miR-214-3p水平的增加相关, 并且血清miR-21-3p的水平会随着年龄的增长而增加, 而miR-214-3p抑制成骨的机制可能是通过靶向成骨转录因子ATF4来完成的。此外, miR-214-3p还可通过激活PI3K/AKT途径以及抑制磷酸酶和张力蛋白同系物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)促进破骨细胞的形成以导致骨密度降低^[32]。这些发现代表了外泌体介导成骨细胞-破骨细胞之间细胞通信的信使作用和调节骨吸收的新机制。除成骨和破骨细胞外, BMSC衍生的外泌体也可通过促进破骨细胞成熟诱导OP^[25]。有研究证明, miR-31a-5p在老年患者BMSC衍生的外泌体中过度表达可抑制由SATB2和E2F2途径介导的成骨细胞生成, 并通过RhoA途径促进破骨细胞形成^[33]。SHAN等^[34]还检测到由BMSC衍生的外泌体miR-148a可以通过靶向v-maf肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物来刺激破骨细胞分化。JIANG等^[35]研究发现, miR-21在OP患者的BMSC衍生的外泌体中处于较高水平, 其可通过靶向SMAD7抑制成骨。显然, 相比于外泌体对骨骼肌影响的研究, 学术界对于外泌体对骨骼影响的研究较深且研究范围较广。上述研究不仅指出部分外泌体的某些作用对骨骼确实有负面调控效果, 并从信号通路和作用靶标等机制方面作了详尽阐述。根据以上研究, 我们可以从逆转外泌体促进破骨及抑制成骨的作用两个方面着手以有效治疗OP。

2.2 外泌体对骨骼的保护作用

除病理作用外, 来源于BMSC、成骨细胞、破骨细胞及内皮细胞等的外泌体也可通过多种机制促进成骨, 抑制破骨以逆转OP^[25-26]。首先, 不同细胞来源的外泌体可以被成骨细胞吸收以促进骨形成^[36]。例如, 来源于BMSC的外泌体miR-186可通过调节Mob1促进YAP表达, 并通过Hippo信号通路促进成骨细胞的增殖和分化, 而成骨细胞来源的

外泌体也可反向调节间充质干细胞的分化,成骨细胞外泌体可增加间充质干细胞中Runx2相关转录因子2(Runt related transcription factor 2, Runx2)和Osterix的表达量,从而促进干细胞的成骨分化。这可能是成骨细胞外泌体通过抑制Axin1的表达和促进 β -catenin的表达来激活Wnt信号通路以促进成骨分化^[37]。人脐带间充质干细胞中高表达的外泌体miR-1263可通过Mob1/Hippo信号通路有效抑制BMSC凋亡并促进成骨分化以延缓OP^[38]。靶向抑癌基因的外泌体miRNA-19b-3p的过表达可显著提高成骨基因(如ALP、I型胶原和Runx2)的表达水平以促进骨形成^[27]。多能干细胞来源的外泌体可促进OP大鼠模型BMSC的增殖和成骨分化并上调成骨细胞相关因子COL-1、OPN、Runx2 mRNA和蛋白质的表达水平^[39]。内皮细胞分泌的外泌体可通过抑制成骨细胞的铁死亡来拮抗糖皮质激素诱导的OP^[40]。血清来源的外泌体也可促进地塞米松诱导的OP患者的成骨细胞中ALP、 β -连环蛋白、Runx2和I型胶原的表达,从而维持成骨作用^[41]。成骨细胞和间充质干细胞来源的外泌体均表达RANKL,其中miR-1260b可靶向Wnt5a介导的RANKL途径抑制破骨细胞活性^[29]。在卵巢切除小鼠模型中,外泌体miR-155的高表达可抑制破骨细胞的活性并抑制OP的发展^[42]。H型血管介导氧气、营养物质和废物运输,对于维持骨稳态起着重要作用,已有几种外泌体被证明可以通过促进H型血管生成来增加骨密度,这可能是通过激活BMP-2/Smad1/Runx2和HIF-1 α /VEGF等通路实现的^[43]。此外,炎症反应是导致OP的重要因素,而外泌体似乎在炎症的多个信号级联中起关键作用,因为它们可以携带炎症抑制因子和蛋白质等,并作用于近端和远端靶组织以促进骨重塑^[44]。众所周知,治疗OP最关键的就是维持骨稳态,即成骨细胞与破骨细胞活性的平衡。而外泌体来源于多种骨细胞,其逆转OP的实质是促进成骨,抑制破骨。虽然上述研究说明了多种来源的外泌体可通过多种信号通路和不同作用机制促进骨形成,抑制骨吸收,但是外泌体常被称作细胞间通信的介质,我们是否可以提出疑问并展开相关研究:成骨细胞来源的外泌体会对破骨细胞产生何种影响?破骨细胞来源的外泌体会对成骨细胞产生何种影响?我们该如何利用外泌体的信使作用干预OP?

3 外泌体在肌骨串扰中的作用

人们认为,骨骼和肌肉以旁分泌和内分泌的方式相互交流,并且由于众多生化信号或机械刺激,这两个组织之间存在各种生理病理的协作变化和相互串扰,这对肌骨重塑也起着至关重要的作用。研究发现,外泌体对于肌肉和骨骼具有类似桥梁或信使的作用,即骨骼肌可通过外泌体影响骨骼,反之亦然。而外泌体介导的肌肉-骨骼细胞间通信不需要进行物理连接,而是通过细胞自分泌、旁分泌或内分泌等途径介导交流^[1-4]。来自C2C12成肌细胞的外泌体已被证明可以促进成骨前体细胞MC3T3-E1细胞向成熟成骨细胞的分化,这可能是由于外泌体增加了受体细胞中miR-27a-3p的表达水平,从而降低其靶标抗原呈递细胞中特定基因的表达,进而激活 β -catenin信号转导,促进成骨^[45]。也有研究表明,来自C2C12成肌细胞的外泌体增强了TOPflash-MLOY4骨细胞中的Wnt/ β -catenin信号转导以提升骨细胞存活率并保护它们免受凋亡刺激和氧化应激,这种效果可能是外泌体通过将Wnt抑制剂SOST、DKK2和SFRP2灭活来实现的^[46]。LI等^[47]研究发现成肌细胞来源的外泌体Prrx2有助于miR22HG的转录激活,并可通过miR-128激活YAP通路从而促进BMSC的成骨分化。此外,小鼠成纤维细胞产生的外泌体CXCR4可以使骨髓中的外泌体靶向富集。含有miR-188的外泌体可与脂质相融合,形成杂交纳米颗粒。然后,杂交纳米颗粒以靶向方式在骨髓中释放miR-188,进而抑制脂肪生成并促进BMSC分化为成骨细胞^[48]。在骨细胞来源的外泌体对骨骼肌的影响方面,lncRNA可能起重要作用,CHEN等^[6]证明了这一点,他们发现成骨细胞可通过外泌体lncRNA TUG1和lncRNA DANCR诱导C2C12细胞成肌分化。现有研究大多集中在肌肉来源的外泌体对骨骼的影响上,但源自骨细胞的外泌体对成肌细胞的影响在很大程度上是未知的。尽管现有研究并没有将外泌体在肌骨串扰中扮演的角色和起到的作用阐释清楚,但外泌体在肌骨串扰中的重要作用为我们研究肌肉和骨骼的双向交互功能提供了一个分子层面的新见解,也为肌骨共减的治疗提供了一个新思路。

4 肌骨共减与外泌体

OS是对肌骨共减的形象描述,SP和OP的同时

发生也常被看作是危险结局的叠加, 所以揭示OS的发病机制及确定有效的干预措施具有重要意义^[50]。已被证实的是, 衰老可引起肌-骨系统内部的各种外泌体发生变化, 这种变化可能继发于外泌体来源细胞对衰老诱导刺激(炎症和氧化)的应激反应, 而衰老也正是OS发生的最主要原因, 这就说明外泌体可能在肌骨共减中发挥重要作用, 且这个论点正在被越来越多的证据所证明^[2,49]。LE BIHAN等^[51]发现, 通过氧化应激诱导建立的衰老小鼠模型同时出现了肌肉衰减和骨质流失。他们还比较了衰老和年轻小鼠BMSC来源的外泌体miRNA谱, 结果显示miR-183簇(miR-96/-182/-183)在老年小鼠体内的表达量增加。这项研究虽然没有证明外泌体与OS的发病存在直接关联, 但揭示了“氧化应激-衰老-外泌体-OS”病理关系轴的客观存在。另外一项研究发现, 将老年小鼠的BMSC外泌体移植至年轻小鼠的BMSC中, 不仅抑制了年轻小鼠的成骨分化, 还抑制了成肌分化^[52]。虽然以上研究均着眼于外泌体对肌骨共减的病理作用, 但其中也隐藏着一种外泌体对肌骨共减的潜在治疗性。目前临床上治疗OS只能将肌肉和骨骼分开治疗, 尚无一种既可靶向肌肉又可靶向骨骼的药物, 使得OS的临床治疗处于瓶颈期。而分治肌骨也面临诸多问题, 如重复用药、过量用药等安全问题及疗效问题。而外泌体作为肌肉与骨骼细胞间的通信器, 其具有的正向成骨、成肌作用可能使其成为治疗肌骨共减的新策略。遗憾的是, 学术界目前对外泌体与肌骨共减之间的关系研究较少, 且现有研究无法为外泌体治疗OS提供有力支撑。

5 结语

外泌体已被证明与SP或OP具有密切联系。首先, 它可以携带并传输各种生物分子, 包括蛋白质、脂质和RNA, 这些分子可以影响细胞的行为和功能。通过这些信号分子, 外泌体可以调节免疫细胞的行为以促进肌骨再生。其次, 外泌体还可以促进血管生长因子生成。通过这些生长因子, 外泌体可以刺激血管细胞的增殖和迁移, 从而促进新血管生成, 这对于肌肉骨骼系统的修复和再生也是非常重要的。此外, 外泌体还可以携带一些可以直接刺激肌肉、骨骼细胞增殖和分化的信号分子, 例如生长因子和miRNA等, 通过这些信号分子, 外泌体可以直接刺激肌骨细胞的增殖和分化, 从而促进肌骨重

建^[1-4]。外泌体作为天然来源的纳米级囊泡, 具有免疫原性低、毒性小、可被靶细胞内源化等其他合成纳米材料无法替代的优点。此外, 使用外泌体作为细胞疗法的替代品可能更直接、更安全, 因为它们的结构很小, 可以参与体循环。更为重要的是, 外泌体作为自我生物活性物质, 可以跨越现有药物无法跨越的许多障碍。外泌体疗法主要有两大类型, 即抑制致病或有害外泌体的表达和促进有益外泌体的释放。虽然它们已被证明可以将蛋白质转移到受体细胞并触发信号通路以改变细胞表型, 而且利用外泌体的结构调整和载体递送治疗肌骨衰减的基础研究也取得了优异的成绩^[53], 但外泌体疗法仍然需要进一步的基础研究和临床调查, 例如对肌-骨系统外泌体内部生物学和对不同来源外泌体的提纯分离方法的研究以及对外泌体有关的肌骨共减的机制和靶点的研究(例如骨组织来源的外泌体对肌再生的影响等)^[5-6]。与癌症等疾病相比, 外泌体用于改善肌骨衰减的研究仍处于起步阶段, 面临诸多挑战。建立外泌体疗法的主要挑战是确保靶点的特异性以及规避毒性和脱靶效应。此外, 关于外泌体的使用及其在肌肉-骨骼系统中的递送方法也是一个悬而未决的问题。所以进一步了解在生理和病理条件下肌-骨之间通过外泌体串扰的机制, 外泌体在起效过程中涉及的生物学途径以及影响miRNA、lncRNA、mRNA等物质传递的因素等均有助于更好地实施外泌体相关的基础研究以及将外泌体开发成肌骨衰减疾病的特定疗法^[50-52]。总之, 外泌体作为肌骨衰减疾病潜在的新治疗手段毋庸置疑, 但如何安全、高效地利用外泌体治疗肌骨衰减疾病还有很长的路要走。

参考文献 (References)

- [1] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [2] QIN W P, DALLAS S L. Exosomes and extracellular RNA in muscle and bone aging and crosstalk [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2019, 17(6): 548-59.
- [3] HERRMANN M, ENGELKE K, EBERT R, et al. Interactions between muscle and bone-where physics meets biology [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 432.
- [4] LI G, ZHANG L, WANG D, et al. Muscle-bone crosstalk and potential therapies for sarco-osteoporosis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 14262-73.
- [5] XU Q, CUI Y, LUAN J, et al. Exosomes from C2C12 myoblasts

- enhance osteogenic differentiation of MC3T3-E1 pre-osteoblasts by delivering miR-27a-3p [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(1): 32-7.
- [6] CHEN J, SHEN J, YANG X, et al. Exploring the temporal correlation of sarcopenia with bone mineral density and the effects of osteoblast-derived exosomes on myoblasts through an oxidative stress-related gene [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9774570.
- [7] YIN J, QIAN J, CEHN Y, et al. MicroRNA regulatory networks in the pathogenesis of sarcopenia [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9): 4900-12.
- [8] CHEN J F, MANDEL E M, THOMSON J M, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(2): 228-33.
- [9] YUE B, YANG H, WANG J, et al. Exosome biogenesis, secretion and function of exosomal miRNAs in skeletal muscle myogenesis [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(7): e12857.
- [10] LI G, LUO W, ABDALLA B A, et al. miRNA-223 upregulated by MYOD inhibits myoblast proliferation by repressing IGF2 and facilitates myoblast differentiation by inhibiting ZEB1 [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e3094.
- [11] SAMANI A, HIGHTOWER R M, REID A L, et al. miR-486 is essential for muscle function and suppresses a dystrophic transcriptome [J]. *Life Sci Alliance*, 2022, 5(9): e202101215.
- [12] SHAO X, GONG W, WANG Q, et al. Atrophic skeletal muscle fibre-derived small extracellular vesicle miR-690 inhibits satellite cell differentiation during ageing [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2022, 13(6): 3163-80.
- [13] ZHANG X, ZUO X, YANG B, et al. MicroRNA directly enhances mitochondrial translation during muscle differentiation [J]. *Cell*, 2014, 158: 607-19.
- [14] SNIICKUTE G, BALTACI O, LIU H, et al. mir-234 controls neuropeptide release at the *Caenorhabditis elegans* neuromuscular junction [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2019, 98: 70-81.
- [15] CHOI J S, YOON H L, LEE K S, et al. Exosomes from differentiating human skeletal muscle cells trigger myogenesis of stem cells and provide biochemical cues for skeletal muscle regeneration [J]. *J Control Release*, 2016, 222: 107-15.
- [16] PIETRANGELO T, DI FILIPPO E S, LOCATELLI M, et al. Extracellular guanosine 5'-triphosphate induces human muscle satellite cells to release exosomes stuffed with guanosine [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9(16): 152.
- [17] YOSHIDA T, DELAFONTAINE P. Mechanisms of IGF-1-mediated regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy [J]. *Cells*, 2020, 9(9): 1970.
- [18] FORTERRE A, JALABERT A, BERGER E, et al. Proteomic analysis of C2C12 myoblast and myotube exosome-like vesicles: a new paradigm for myoblast-myotube cross talk [J]? *PLoS One*, 2014, 9(1): e84153.
- [19] MOBLEY C B, MUMFORD P W, MCCARTHY J J, et al. Whey protein-derived exosomes increase protein synthesis and hypertrophy in C2-C12 myotubes [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(1): 48-64.
- [20] JIANG D, LIU C, CHEN Y, et al. Whole body vibration activates AMPK/CPT1 signaling pathway of skeletal muscle in young and aging mice based on metabolomics study [J]. *Endocr J*, 2022, 69(5): 585-96.
- [21] CEHN W, CHEN Y, LIU Y, et al. Autophagy in muscle regeneration: potential therapies for myopathies [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2022, 13(3): 1673-85.
- [22] SONG J, LIU J, CUI C, et al. Mesenchymal stromal cells ameliorate diabetes-induced muscle atrophy through exosomes by enhancing AMPK/ULK1-mediated autophagy [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2023, 14(2): 915-29.
- [23] GUESCINI M, CANONICO B, LUCERYINI F, et al. Muscle releases alpha-sarcoglycan positive extracellular vesicles carrying miRNAs in the bloodstream [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0125094.
- [24] CHATURVEDI P, KALANI A, MEDINA I, et al. Cardiosome mediated regulation of MMP9 in diabetic heart: role of mir29b and mir455 in exercise [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19: 2153-61.
- [25] LI Y, HUANG P, NASSER M I, et al. Role of exosomes in bone and joint disease metabolism, diagnosis, and therapy [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2022, 176: 106262.
- [26] LI Q C, LI C, ZHANG W, et al. Potential effects of exosomes and their microRNA carrier on osteoporosis [J]. *Curr Pharm Des*, 2022, 28(11): 899-909.
- [27] RUDIANSYAH M, EI-SEHRAWY, AHMAD I, et al. Osteoporosis treatment by mesenchymal stromal/stem cells and their exosomes: emphasis on signaling pathways and mechanisms [J]. *Life Sci*, 2022, 306: 120717.
- [28] SHAO J L, LI H, ZHANG X R, et al. Identification of serum exosomal MicroRNA expression profiling in menopausal females with osteoporosis by high-throughput sequencing [J]. *Curr Med Sci*, 2020, 40: 1161-9.
- [29] XIAO F, ZUO B, TAO B, et al. Exosomes derived from cyclic mechanical stretch-exposed bone marrow mesenchymal stem cells inhibit RANKL-induced osteoclastogenesis through the NF- κ B signaling pathway [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(9): 798.
- [30] 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.
- [31] GUERRA F, BUCCI C. Multiple roles of the small GTPase Rab7 [J]. *Cells*, 2016, 5: 34.
- [32] HESSVIK N P, LIORIENTE A. Current knowledge on exosome biogenesis and release [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 193-208.
- [33] ZUO J, SHI M, LIU X, et al. Aptamer-functionalized exosomes: elucidating the cellular uptake mechanism and the potential for cancer-targeted chemotherapy [J]. *Anal Chem*, 2019, 91: 2425-30.
- [34] SHAN H J, ZHU L Q, YAO C, et al. MAFG-driven osteosarcoma cell progression is inhibited by a novel miRNA miR-4660 [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 24: 385-402.
- [35] JAING L B, YIAN L, ZHANG C G. Bone marrow stem cells-derived exosomes extracted from osteoporosis patients inhibit osteogenesis via microRNA-21/SMAD7 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(19): 6221-9.
- [36] 张锐, 柳海平, 赵宁, 等. 不同细胞源性外泌体在骨质疏松症中的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*(ZHANG R, LIU H P, ZHAO N, et al. Research progress of different cell derived exosomes in osteoporosis [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*), 2022, 28(5): 744-8.
- [37] NARAYANAN K, KUMAR S, PADMANABHAN, et al. Lineage-specific exosomes could override extracellular matrix mediated human mesenchymal stem cell differentiation [J]. *Biomaterials*, 2018, 182: 312-22.

- [38] 刘耘佟, 李文洋, 向学熔. 脐带间充质干细胞外泌体修复骨质疏松大鼠颅骨缺损的研究[J]. 重庆医科大学学报(LIU Y T, LI W Y, XIANG X R. Study on repairing the skull defect of osteoporosis rats with the exocrine secretion of umbilical cord mesenchymal stem cells [J]. Journal of Chongqing Medical University, 2023, 48(1): 18-23.
- [39] CUI Y, GUO Y, KONG L, et al. A bone-targeted engineered exosome platform delivering siRNA to treat osteoporosis [J]. *Bioact Mater*, 2021, 10: 207-21.
- [40] YANG R Z, XU W N, ZHENG H L, et al. Exosomes derived from vascular endothelial cells antagonize glucocorticoid-induced osteoporosis by inhibiting ferritinophagy with resultant limited ferroptosis of osteoblasts [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(9): 6691-705.
- [41] 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: 185-92.
- [42] HOLLIDAY L S, PATEL S S, RODY W J, JR. RANKL and RANK in extracellular vesicles: surprising new players in bone remodeling [J]. *Extracell Vesicles Circ Nucl Acids*, 2021, 2: 18-28.
- [43] WANG X, LI X, LI J, et al. Mechanical loading stimulates bone angiogenesis through enhancing type H vessel formation and downregulating exosomal miR-214-3p from bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *FASEB J*, 2021, 35(1): e21150.
- [44] ADAMI G, FASSIO A, ROSSINI M A, et al. Osteoporosis in rheumatic diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 5867.
- [45] MA S, LI S, ZHANG Y, et al. BMSC-derived exosomal CircHIPK3 promotes osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells via mitophagy [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2785.
- [46] KITASE Y, VALLEJO J A, GUTHEIL W, et al. beta-aminoisobutyric acid, 1-BAIBA, is a muscle-derived osteocyte survival factor [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(6): 1531-44.
- [47] LI Y, WANG X, PAN C, et al. Myoblast-derived exosomal Prrx2 attenuates osteoporosis via transcriptional regulation of lncRNA-MIR22HG to activate Hippo pathway [J]. *Mol Med*, 2023, 29(1): 54.
- [48] LI H, LIN X, YANG D, et al. Cancer-associated fibroblasts support bone tropic metastasis by acting as coordinators between the tumor microenvironment and bone matrix in breast cancer [J]. *Neoplasma*, 2021, 68(1): 10-22.
- [49] BASISTY N, KALE A, JOEN O H, et al. A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development [J]. *PLoS Biol*, 2020, 18(1): e3000599.
- [50] LASKOU F, PATEL H P, COOPER C, et al. A pas de deux of osteoporosis and sarcopenia: osteosarcopenia [J]. *Climacteric*, 2022, 25(1): 88-95.
- [51] LE BIHAN M C, BIGOT A, JESEN S S, et al. In-depth analysis of the secretome identifies three major independent secretory pathways in differentiating human myoblasts [J]. *J Proteomics*, 2012, 77: 344-56.
- [52] NIEDERMAIR T, LUKAS C, LI S, et al. Influence of extracellular vesicles isolated from osteoblasts of patients with coxarthrosis and/or osteoporosis on metabolism and osteogenic differentiation of BMSCs [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 615520.
- [53] DUAN L, XU L, XU X, et al. Exosome-mediated delivery of gene vectors for gene therapy [J]. *Nanoscale*, 2021, 13(3): 1387-97.