

# 外泌体在股骨头坏死诊治中的应用

董一平<sup>1</sup>, 袁强<sup>1</sup>, 张宁<sup>2</sup>, 张颖<sup>3</sup>

(1. 河南中医药大学研究生院, 河南 郑州 450046;

2. 湖南中医药大学研究生院, 湖南 长沙 410208;

3. 河南省洛阳正骨医院/河南省骨科医院, 河南 洛阳 471002)

**摘要** 股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)是一种常见的骨科疾病,发病机制复杂,目前临床上的治疗方法并不令人满意。外泌体是细胞分泌的具有双层膜的细胞外囊泡,内含丰富的蛋白质与核酸分子。外泌体在血清中的含量及外泌体内 miRNA 的差异性能够反映 ONFH 的发生阶段;而不同细胞来源的外泌体能够通过调控信号传导和相关基因表达影响骨细胞、血管细胞的增殖分化,进而影响骨重塑。因此,外泌体在 ONFH 的诊治方面具有重要的应用价值。本文对外泌体进行了概述,对外泌体在 ONFH 诊断和治疗中的应用价值进行了综述。

**关键词** 股骨头坏死;外泌体;综述

股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)是股骨头静脉瘀滞、动脉血供受损或中断,使骨细胞及骨髓成分部分死亡引起骨组织坏死及随后发生的修复,共同导致股骨头结构改变及塌陷,引起髋关节疼痛及功能障碍的疾病<sup>[1]</sup>。ONFH 发病机制复杂,临床上采用非手术或手术方法治疗 ONFH,但治疗效果均不令人满意<sup>[2]</sup>。外泌体是一种微小的具有双层膜的细胞外囊泡,在细胞间的交流中担任重要角色<sup>[3]</sup>。研究发现,外泌体在促进骨形成和血管修复等方面发挥重要作用<sup>[4]</sup>。因此,外泌体逐渐成为 ONFH 诊治研究中的新热点。本文对外泌体进行了概述,对外泌体在 ONFH 诊断和治疗中的应用价值进行了综述。

## 1 外泌体概述

外泌体的直径为 30 ~ 100 nm,属于细胞外囊泡<sup>[5]</sup>。外泌体由成骨细胞、破骨细胞、干细胞等多种细胞分泌,参与细胞间的信号传导、抗原呈递等过程<sup>[6-7]</sup>。外泌体内含有多重生物活性分子,如跨膜蛋白、肌动蛋白、膜联蛋白等多种蛋白,能够参与细胞的组成和运动<sup>[8]</sup>;还包括 miRNA、非编码 RNA、mRNA 等多种核酸分子,其中 miRNA 能够激活信号分子及靶细胞,调节靶细胞的基因表达<sup>[9-10]</sup>。目前,制备外泌体的方法主要有超速离心法、尺寸排阻色谱法、免疫亲和捕获法和微流体技术等,制备外泌体的原料可

以是体液或细胞培养基<sup>[11-12]</sup>。通常根据外泌体的大小、形态和标记蛋白进行外泌体的鉴定:①外泌体直径 30 ~ 100 nm;②电子显微镜下外泌体为杯形或圆形;③外泌体含有 CD9、CD63、CD81 和 TSG101 等标志蛋白<sup>[13]</sup>。

## 2 外泌体在 ONFH 诊断中的应用价值

早期 ONFH 通常无明显症状,常采用 MRI 进行诊断,但此类检查价格昂贵,患者负担较重。研究发现,细胞产生的外泌体能够被释放到血液或体液中,而其内容物能够反映细胞的生理或病理情况,进而反映疾病的发生阶段<sup>[14-15]</sup>。因此,检测血液或体液中外泌体的内容物成分可能成为诊断疾病发生和发展的新方法<sup>[16]</sup>。目前,已有关于将外泌体作为诊断 ONFH 生物标志物的可行性研究。Zhu 等<sup>[17]</sup>采用纳米检测法检测 85 例激素性 ONFH 患者和 115 例健康志愿者的血清外泌体含量,结果显示,激素性 ONFH 患者的血清外泌体含量低于健康志愿者,外泌体血清含量诊断激素性 ONFH 的受试者操作特征曲线下面积为 0.72,表明外泌体血清含量对激素性 ONFH 的诊断具有中度准确性。Zhang 等<sup>[18]</sup>纳入 5 例患激素性 ONFH 的系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者、5 例无激素性 ONFH 的 SLE 患者及 5 例健康志愿者,抽取 3 组受试者的血液,并分析血清外泌体中 miRNA 的差异表达,结果显示,患激素性 ONFH 的 SLE 患者血清外泌体中 hsa-miR-135b-5p 的表达显著上调;提示血清外泌体中 hsa-miR-

135b-5p 可作为诊断激素性 ONFH 的生物标志物。外泌体携带性质稳定的 miRNA, 作为诊断早期 ONFH 的生物标志物, 具有较好的灵敏度和准确度, 且相较于 MRI, 更加方便、经济。

### 3 外泌体在 ONFH 治疗中的应用价值

**3.1 成骨细胞来源外泌体** 成骨细胞能够促进新骨生成、骨量增加, 在骨骼生长与重塑的过程中发挥着重要的作用<sup>[19]</sup>。Ge 等<sup>[20]</sup> 对小鼠成熟成骨细胞 MC3T3 来源外泌体进行了蛋白质组学分析, 结果显示, 成骨细胞 MC3T3 来源外泌体中的肝配蛋白 B1、转化生长因子  $\beta 3$ 、骨形态发生蛋白 I 型受体、Smad 泛素化调节因子 1 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 6 等在骨组织修复过程中发挥重要作用。Ge 等<sup>[21]</sup> 进一步研究发现, 成骨细胞 MC3T3 来源外泌体中包含 Rho GTPases, 而 Rho GTPases 是 Ras 超家族的 Rho 亚类的成员, 包括 RhoA、Rac1 和 Cdc42, 其中 RhoA 在骨重塑中具有重要作用。Cui 等<sup>[22]</sup> 研究发现, 成骨细胞 MC3T3-E1 来源外泌体能够促进骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cell, BMSC) ST2 向成骨细胞分化, 且成骨细胞 MC3T3-E1 来源外泌体通过 miRNA 转移诱导 BMSC ST2 中 miRNA 的表达发生改变。成骨细胞来源外泌体所携带特定的蛋白与 miRNA 可调控成骨微环境中的细胞间通讯, 在成骨细胞分化过程中发挥重要作用。目前, 针对成骨细胞来源外泌体的研究正在不断深入, 其对于 ONFH 治疗及发病机制的探索都具有重要意义。

**3.2 破骨细胞来源外泌体** 破骨细胞是骨吸收细胞, 由骨髓特定的破骨细胞前体活化后产生, 具有减少骨量的作用。在 ONFH 发生过程中, 破骨细胞增多, 其分泌的酶和酸性物质分解骨基质, 导致骨溶解与坏死, 最终使股骨头发生塌陷<sup>[23-24]</sup>。Huynh 等<sup>[25]</sup> 研究发现, 破骨细胞前体来源外泌体可以促进破骨细胞的分化与成熟, 同时成熟破骨细胞来源外泌体中富含核因子  $\kappa B$  受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- $\kappa B$  ligand, RANKL), 可竞争性的与核因子  $\kappa B$  受体活化因子结合, 进而抑制破骨细胞的形成; 提示破骨细胞来源外泌体是破骨细胞旁分泌的重要调节因子。Sun 等<sup>[26]</sup> 研究发现, 破骨细胞来源外泌体内的 EphrinA2 蛋白可与成骨细胞所含有的 EphrinA2 蛋白受体相结合, 将破骨细胞来源外泌体中的 miRNA 运输至成骨细胞, 进而降低成骨细胞活性, 造

成骨量减少。Li 等<sup>[27]</sup> 研究发现, 破骨细胞来源外泌体中的 miR-214-3p 在体外可降低成骨细胞活性, 而在体内能够抑制小鼠骨形成。Yang 等<sup>[28]</sup> 研究发现, 在 RANKL 诱导的 RAW 264.7 细胞 (破骨细胞祖细胞) 来源外泌体中, miR-23a-5p 过表达; 而含 miR-23a-5p 的破骨细胞来源外泌体可抑制成骨细胞活性, 抑制破骨细胞释放外泌体可缓解对成骨细胞的抑制作用; 进一步研究发现, miR-23a-5p 通过抑制 Runt 相关转录因子 2 的表达参与抑制成骨细胞活性。破骨细胞来源外泌体可通过其内含的生物分子促进破骨细胞的形成, 抑制成骨细胞形成。因此, 通过靶向破骨细胞来源外泌体减弱其对成骨细胞的抑制作用, 从而可缓解骨量减少, 改善 ONFH。

**3.3 间充质干细胞来源外泌体** 间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 是一种非造血多能成体干细胞, 能进行自我更新和多向分化, 可从骨髓、滑膜、脐带血与胎盘等组织中获取<sup>[29]</sup>。研究表明, MSC 来源外泌体可以通过上调骨形成相关基因表达促进 MSC 的成骨分化<sup>[30-31]</sup>。由于 MSC 具有易培养、来源广、抗原性低等优点, 目前正被广泛应用于 ONFH 领域的研究中<sup>[32]</sup>。

**3.3.1 BMSC 来源外泌体** 随着对 BMSC 研究的不断深入, BMSC 广泛应用于多种骨科疾病的治疗, 也是治疗 ONFH 的新的研究方向<sup>[33-34]</sup>。BMSC 是最早、最常见的外泌体来源之一, 多项研究表明<sup>[35-36]</sup>, BMSC 来源外泌体可以促进骨形成, 减少骨丢失, 进而治疗骨组织损伤。Takeuchi 等<sup>[37]</sup> 在 MSC 细胞培养基中分别加入 BMSC、BMSC 来源外泌体和含有血管生成抑制剂的 BMSC 来源外泌体后, 检测 MSC 的成骨分化潜能, 结果显示 BMSC 来源外泌体能够显著增强 MSC 的细胞迁移及成骨分化、血管生成相关基因的表达。Zhang 等<sup>[38]</sup> 研究发现, BMSC 来源外泌体能够显著增强股骨骨不连模型大鼠的成骨、血管生成和骨愈合过程, 进一步研究发现人脐静脉内皮细胞和成骨细胞 MC3T3-E1 可通过吸收 BMSC 来源外泌体, 改善其增殖和迁移能力。Zhang 等<sup>[39]</sup> 研究发现, BMSC 来源外泌体可以通过促进血管生成对由类固醇诱导的 ONFH 细胞模型起修复作用, 同时 BMSC 来源外泌体可以作为 siRNA 的载体, 提高 siRNA 的转染效率。Fang 等<sup>[40]</sup> 研究了 BMSC 来源外泌体对类固醇诱导的 ONFH 模型大鼠 BMSC 成骨分化的影响, 结果表

明, BMSC 来源外泌体可通过上调 SOX9 蛋白水平促进 BMSC 的成骨分化。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路是 Wnt 信号传导途径中的经典通路, 在 ONFH 的治疗中具有重要作用。Zuo 等<sup>[41]</sup>研究发现, BMSC 来源外泌体可以通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 恢复受损 BMSC 的功能, 加速 BMSC 的 DNA 修复, 解除 BMSC 的增殖抑制, 恢复 BMSC 的分化潜能。Liao 等<sup>[42]</sup>在 ONFH 模型家兔中经尾静脉滴注了转染 miR-122-5p 的 BMSC 来源外泌体, 结果显示家兔股骨头的骨密度、骨小梁体积和骨小梁板厚度均有所增加, 坏死的股骨头愈合速度加快。BMSC 来源外泌体具有较强的促进成骨分化与调控血管生成能力, 同时也是重要的外泌体来源, 其在 ONFH 治疗中具有巨大的潜力。

**3.3.2 滑膜间充质干细胞来源外泌体** 滑膜间充质干细胞(synovial mesenchymal stem cell, SMSC)是成体干细胞之一, 具有增殖及多向分化能力, 可向骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞和肌腱纤维细胞分化<sup>[43]</sup>。SMSC 来源外泌体能够促进软骨细胞增殖和迁移, 抑制细胞凋亡, 对骨组织起到修复作用<sup>[44]</sup>。Tao 等<sup>[45]</sup>研究发现, SMSC 来源外泌体中含有 Wnt5a 与 Wnt5b 蛋白, 可通过调控 Wnt5a/Yes 相关蛋白信号通路促进软骨细胞增殖。郭尚春<sup>[46]</sup>研究发现, 在激素性 ONFH 模型大鼠体内注射 SMSC 来源外泌体后, 能有效缓解激素诱导的细胞增殖抑制、细胞凋亡与骨组织损伤等 ONFH 病理改变; 而体外实验结果显示, SMSC 来源外泌体可被 BMSC 摄取, 促进 BMSC 细胞增殖, 并对由血清饥饿诱导的细胞凋亡起抑制作用。Guo 等<sup>[47]</sup>研究发现, 将 SMSC 来源外泌体注射到由糖皮质激素诱导的 ONFH 模型大鼠体内, 可有效减少大鼠骨小梁丢失、骨髓坏死和脂肪细胞积累, 改善大鼠股骨头的骨密度与骨小梁微观结构, 同时还可以逆转糖皮质激素导致的细胞凋亡和增殖抑制, 增加股骨头中成骨细胞的数量, 改善 ONFH。因此, 在 ONFH 早期采用 SMSC 来源外泌体治疗, 能够促进成骨细胞、软骨细胞与 BMSC 增殖, 抑制细胞凋亡, 进而改善 ONFH。

**3.3.3 人脐带间充质干细胞来源外泌体** 人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, hUC-MSC)可以促进血管生成, 预防糖皮质激素诱发的 ONFH; hUC-MSC 来源外泌体作为重要的旁分泌机制之一, 可以抑制 BMSC 凋亡, 增强骨形成与

血管生成, 治疗骨损伤<sup>[48-50]</sup>。Kuang 等<sup>[51]</sup>研究发现, Wharton's jelly 组织的 hUC-MSC 来源外泌体对糖皮质激素诱导的 ONFH 具有良好治疗作用; 进一步机制研究发现, Wharton's jelly 组织的 hUC-MSC 来源外泌体可通过 miR-21-PTEN/AKT 信号通路抑制凋亡蛋白 BAD 和 Caspase3, 逆转糖皮质激素引起的细胞凋亡作用, 促进骨细胞的增殖。

**3.3.4 其他间充质干细胞来源外泌体** Wang 等<sup>[52]</sup>研究发现, 在骨关节炎模型小鼠的关节内注射胚胎间充质干细胞来源外泌体, 能够阻止小鼠关节内的软骨破坏; 进一步研究发现, 胚胎间充质干细胞来源外泌体可通过增加 II 型胶原的合成和降低细胞外基质降解酶 ADAMTS5 的表达缓解软骨细胞外基质代谢失衡。Liang 等<sup>[53]</sup>研究发现, 人脂肪间充质干细胞来源外泌体中富含 miR-125a, 而 miR-125a 能够通过靶向 3' 非翻译区来抑制血管生成抑制剂 Delta-like4 的表达, 促进内皮尖端细胞形成, 调节内皮细胞的血管生成, 提示人脂肪间充质干细胞来源外泌体可作为一种促血管生成因子参与各类组织的修复。Liu 等<sup>[54]</sup>研究发现, 多能干细胞诱导的间充质干细胞来源外泌体能够通过激活内皮细胞中的 PI3K/AKT 信号通路, 预防骨丢失, 同时可以显著增强内皮细胞的增殖、迁移和血管形成能力, 增加股骨头微血管密度; 提示多能干细胞诱导的间充质干细胞来源外泌体在 ONFH 的预防和治疗中发挥重要作用。因此, 上述多种 MSC 来源的外泌体可通过细胞间的组织通讯, 促进骨细胞与血管细胞的增殖, 达到缓解骨组织破坏、促进骨与血管生成的目的, 进而改善 ONFH。

**3.4 富血小板血浆来源外泌体** 富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)是新鲜全血离心后获取的血浆, 富含多种生长因子, 可诱导成骨与血管生成, 加速骨损伤的愈合, 抑制炎症反应和细胞凋亡, 修复坏死骨组织<sup>[55]</sup>。PRP 来源外泌体在骨组织、软骨组织与慢性创面修复中担任重要角色, 具有强大的组织修复功能, 且其具备稳定性高、生物兼容性好、易于规模化生产等诸多优点, 成为开展外泌体研究的重点内容<sup>[56]</sup>。Tao 等<sup>[57]</sup>在体外将 PRP 来源外泌体分别与人微血管内皮细胞、BMSC 和成骨细胞 MC3T3-E1 置于大剂量激素环境中进行培养, 结果显示 PRP 来源外泌体能够减弱地塞米松对人微血管内皮细胞、BMSC 和成骨细胞 MC3T3-E1 的抑制作用与凋亡效

应;PRP 来源外泌体能够拮抗地塞米松对血管内皮生长因子 A 的抑制,促进成骨相关蛋白的表达,维持 BMSC 的成骨分化能力,抵抗细胞凋亡,进而保护股骨头;将 PRP 来源外泌体用于甲泼尼龙琥珀酸钠诱导的 ONFH 模型大鼠,大鼠体内骨细胞凋亡得到缓解。因此,PRP 来源外泌体能够干扰激素诱导的细胞凋亡和增殖抑制,进而促进骨与血管生成,改善股骨头血运,增强股骨头的骨强度和骨密度。

不同来源的外泌体作为信号分子运输的载体,在不同细胞之间发挥通讯交流的重要作用。外泌体能够大规模生产,易于收集,且在低温环境下可长期储存,同时还具备无细胞毒性、低免疫原性和靶向性等诸多优势,已成为新一代的天然纳米级递送系统<sup>[13,58-59]</sup>。多项研究表明,不同来源的外泌体应用于 ONFH 模型动物后,均能够发挥修复骨损伤、改善骨坏死的作用<sup>[42,60-61]</sup>;不同来源外泌体在治疗 ONFH 中参与多个靶点、多条通路的调控<sup>[40,46-47,51,54,57]</sup>。这些研究成果对于 ONFH 发病机制与靶向治疗的研究提供了重要的理论依据。此外,通过基因工程技术改造后的外泌体具备更强的靶向性和跨膜传递效率,将其作为药物载体能够提高药物的生物利用度,进而在 ONFH 的治疗中发挥更好的疗效<sup>[62]</sup>。

#### 4 小 结

目前,临床上治疗 ONFH 的非手术或手术方法均不能令人满意,而对外泌体的研究为 ONFH 的诊治提供了新的研究方向。外泌体在血清中的含量以及外泌体内 miRNA 的差异性均能够反映 ONFH 的发生阶段,其作为诊断 ONFH 的生物标志物,具有较好的灵敏度和准确度。不同细胞来源的外泌体能够通过调控信号传导和相关基因表达影响骨细胞、血管细胞的增殖分化,进而影响骨重塑。然而,目前关于采用外泌体治疗 ONFH 的研究多局限于动物实验,尚缺少临床试验的相关报道,且对于不同细胞来源的外泌体的具体适用对象,尚无确切论述。因此,利用外泌体诊治 ONFH,仍需开展大样本、多中心、前瞻性随机对照临床试验进一步深入研究,且需对外泌体的治疗剂量、安全用药等方面进行规范,以促进其临床转化。

#### 参考文献

[1] 中国医师协会骨科医师分会骨循环与骨坏死专业委员会,中华医学会骨科分会骨显微修复学组,国际骨循环学会中国区. 中国成人股骨头坏死临床诊疗指南

(2020)[J]. 中华骨科杂志,2020,40(20):1365-1376.

[2] 陈卫衡. 中国股骨头坏死数据库的现状与挑战[J]. 中医正骨,2020,32(1):1-3.

[3] 寇龙威,郭珈宜,李峰,等. 外泌体在修复骨关节炎软骨损伤中的应用[J]. 中国矫形外科杂志,2020,28(22):2073-2076.

[4] PISHAVAR E, LUO H, NASERIFAR M, et al. Advanced hydrogels as exosome delivery systems for osteogenic differentiation of MSCs: application in bone regeneration[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(12): 6203.

[5] 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.

[6] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J/OL]. Science, 2020, 367(6478): eaau6977 [2022-02-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7717626/>.

[7] HE C, ZHENG S, LUO Y, et al. Exosome theranostics: biology and translational medicine [J]. Theranostics, 2018, 8(1): 237-255.

[8] ZHAO W, ZHENG X L, ZHAO S P. Exosome and its roles in cardiovascular diseases [J]. Heart Fail Rev, 2015, 20(3): 337-348.

[9] ASGHAR S, LITHERLAND G J, LOCKHART J C, et al. Exosomes in intercellular communication and implications for osteoarthritis [J]. Rheumatology (Oxford), 2020, 59(1): 57-68.

[10] VLASSOV A V, MAGDALENO S, SETTERQUIST R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1820(7): 940-948.

[11] LI P, KASLAN M, LEE S H, et al. Progress in exosome isolation techniques [J]. Theranostics, 2017, 7(3): 789-804.

[12] ZHANG Y, LIU Y, LIU H, et al. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential [J]. Cell Biosci, 2019, 9: 19.

[13] LI Z, WANG Y, XIAO K, et al. Emerging role of exosomes in the joint diseases [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(5): 2008-2017.

[14] BARILE L, VASSALLI G. Exosomes: therapy delivery tools and biomarkers of diseases [J]. Pharmacol Ther, 2017, 174: 63-78.

[15] ZHANG W, XIA W, LV Z, et al. Liquid biopsy for cancer: circulating tumor cells, circulating free DNA or exosomes? [J].

- Cell Physiol Biochem, 2017, 41(2): 755 – 768.
- [16] SANTIAGO – DIEPPA D R, STEINBERG J, GONDA D, et al. Extracellular vesicles as a platform for “liquid biopsy” in glioblastoma patients [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2014, 14(7): 819 – 825.
- [17] ZHU H Y, GAO Y C, WANG Y, et al. Circulating exosome levels in the diagnosis of steroid – induced osteonecrosis of the femoral head [J]. Bone Joint Res, 2016, 5(6): 276 – 279.
- [18] ZHANG M, CHEN D, ZHANG F, et al. Serum exosomal hsa – miR – 135b – 5p serves as a potential diagnostic biomarker in steroid – induced osteonecrosis of femoral head [J]. Am J Transl Res, 2020, 12(5): 2136 – 2154.
- [19] 王银博, 孙维佳, 李玉恒, 等. 成骨细胞能量代谢的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(8): 1232 – 1237.
- [20] GE M, WU Y, KE R, et al. Value of osteoblast – derived exosomes in bone diseases [J]. J Craniofac Surg, 2017, 28(4): 866 – 870.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 王伟伟, 欧志学, 章晓云, 等. 外泌体在激素性股骨头坏死修复信号交流网络中的调控机制 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(19): 3056 – 3064.
- [24] 周宏, 安雅男, 倪丽慧, 等. 破骨细胞胞外陷阱在类风湿性关节炎致病机制中的作用 [J]. 中国细胞生物学学报, 2021, 43(7): 1401 – 1409.
- [25] HUYNH N, VONMOSS L, SMITH D, et al. Characterization of regulatory extracellular vesicles from osteoclasts [J]. J Dent Res, 2016, 95(6): 673 – 679.
- [26] SUN W, ZHAO C, LI Y, et al. Osteoclast – derived microRNA – containing exosomes selectively inhibit osteoblast activity [J]. Cell Discov, 2016, 2: 16015.
- [27] LI D, LIU J, GUO B, et al. Osteoclast – derived exosomal miR – 214 – 3p inhibits osteoblastic bone formation [J]. Nat Commun, 2016, 7: 10872.
- [28] YANG J X, XIE P, LI Y S, et al. Osteoclast – derived miR – 23a – 5p – containing exosomes inhibit osteogenic differentiation by regulating Runx2 [J]. Cell Signal, 2020, 70: 109504.
- [29] 王新伟, 赵英杰, 常艳, 等. 间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤: 作用、应用与问题 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(31): 5053 – 5058.
- [30] WANG X, OMAR O, VAZIRISANI F, et al. Mesenchymal stem cell – derived exosomes have altered microRNA profiles and induce osteogenic differentiation depending on the stage of differentiation [J]. PLoS One, 2018, 13(2): e193059.
- [31] 张宇, 任艳玲, 郑曲, 等. 不同来源外泌体在骨性关节炎中的中西医研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12): 141 – 145.
- [32] 刘沛, 刘国杰, 叶晔, 等. 间充质干细胞移植治疗股骨头坏死的研究进展 [J]. 中华骨与关节外科杂志, 2021, 14(3): 229 – 234.
- [33] 吴昱光. 骨髓间充质干细胞治疗股骨头坏死的进展 [J]. 中国医药指南, 2021, 19(12): 22 – 23.
- [34] 杨国清, 梁文强, 张怀斌, 等. 骨髓间充质干细胞治疗骨科疾病的研究进展 [J]. 医学综述, 2021, 27(16): 3210 – 3215.
- [35] ZHU Y, JIA Y, WANG Y, et al. Impaired bone regenerative effect of exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells in type 1 diabetes [J]. Stem Cells Transl Med, 2019, 8(6): 593 – 605.
- [36] ZHANG Y, CAO X, LI P, et al. microRNA – 935 – modified bone marrow mesenchymal stem cells – derived exosomes enhance osteoblast proliferation and differentiation in osteoporotic rats [J]. Life Sci, 2021, 272: 119204.
- [37] TAKEUCHI R, KATAGIRI W, ENDO S, et al. Exosomes from conditioned media of bone marrow – derived mesenchymal stem cells promote bone regeneration by enhancing angiogenesis [J]. PLoS One, 2019, 14(11): e225472.
- [38] ZHANG L, JIAO G, REN S, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 38.
- [39] ZHANG C, SU Y, DING H, et al. Mesenchymal stem cells – derived and siRNAs – encapsulated exosomes inhibit osteonecrosis of the femoral head [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(17): 9605 – 9612.
- [40] FANG S, LI Y, CHEN P. Osteogenic effect of bone marrow mesenchymal stem cell – derived exosomes on steroid – induced osteonecrosis of the femoral head [J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 45 – 55.
- [41] ZUO R, LIU M, WANG Y, et al. BM – MSC – derived exosomes alleviate radiation – induced bone loss by restoring

- the function of recipient BM – MSCs and activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):30.
- [42] LIAO W, NING Y, XU H J, et al. BMSC – derived exosomes carrying microRNA – 122 – 5p promote proliferation of osteoblasts in osteonecrosis of the femoral head [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(18):1955 – 1975.
- [43] 郑伟伟, 杨民. 滑膜间充质干细胞在软骨修复领域的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2015, 44(6):167 – 170.
- [44] WANG Z, YAN K, GE G, et al. Exosomes derived from miR – 155 – 5p – overexpressing synovial mesenchymal stem cells prevent osteoarthritis via enhancing proliferation and migration, attenuating apoptosis, and modulating extracellular matrix secretion in chondrocytes[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2021, 37(1):85 – 96.
- [45] TAO S C, YUAN T, ZHANG Y L, et al. 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[J]. *Theranostics*, 2017, 7(1):180 – 195.
- [46] 郭尚春. 外泌体对组织修复的作用及其机制研究[D]. 上海:上海交通大学, 2016.
- [47] GUO S C, TAO S C, YIN W J, et al. Exosomes from human synovial-derived mesenchymal stem cells prevent glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in the rat[J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(10):1262 – 1272.
- [48] TIAN G, LIU C, WANG H, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells prevent glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis[J]. *J Plast Surg Hand Surg*, 2021:1 – 7.
- [49] ZHANG Y, HAO Z, WANG P, et al. Exosomes from human umbilical cord mesenchymal stem cells enhance fracture healing through HIF – 1 $\alpha$  – mediated promotion of angiogenesis in a rat model of stabilized fracture[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2):e12570.
- [50] YANG B C, KUANG M J, KANG J Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell – derived exosomes act via the miR – 1263/Mob1/Hippo signaling pathway to prevent apoptosis in disuse osteoporosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(4):883 – 889.
- [51] KUANG M J, HUANG Y, ZHAO X G, et al. Exosomes derived from Wharton's jelly of human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce osteocyte apoptosis in glucocorticoid – induced osteonecrosis of the femoral head in rats via the miR – 21 – PTEN – AKT signalling pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(9):1861 – 1871.
- [52] WANG Y, YU D, LIU Z, et al. Exosomes from embryonic mesenchymal stem cells alleviate osteoarthritis through balancing synthesis and degradation of cartilage extracellular matrix[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):189.
- [53] LIANG X, ZHANG L, WANG S, et al. Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR – 125a [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(11):2182 – 2189.
- [54] LIU X, LI Q, NIU X, et al. Exosomes secreted from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells prevent osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis[J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(2):232 – 244.
- [55] HAN J, GAO F, LI Y, et al. The use of platelet – rich plasma for the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a systematic review[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:2642439.
- [56] 赵航宇, 付海亮. 富血小板血浆来源外泌体及其组织修复作用研究进展[J]. *实用骨科杂志*, 2021, 27(10):935 – 940.
- [57] TAO S C, YUAN T, RUI B Y, et al. Exosomes derived from human platelet – rich plasma prevent apoptosis induced by glucocorticoid – associated endoplasmic reticulum stress in rat osteonecrosis of the femoral head via the Akt/Bad/Bcl – 2 signal pathway[J]. *Theranostics*, 2017, 7(3):733 – 750.
- [58] MEHRYAB F, RABBANI S, SHAHHOSSEINI S, et al. Exosomes as a next – generation drug delivery system: an update on drug loading approaches, characterization, and clinical application challenges[J]. *Acta Biomater*, 2020, 113:42 – 62.
- [59] MA Z J, YANG J J, LU Y B, et al. Mesenchymal stem cell – derived exosomes: toward cell – free therapeutic strategies in regenerative medicine [J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(8):814 – 840.
- [60] ZUO R, KONG L, WANG M, et al. Exosomes derived from human CD34(+) stem cells transfected with miR – 26a prevent glucocorticoid – induced osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis and osteogenesis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):321.
- [61] 张根生, 刘瑞宇, 党晓谦, 等. miR – 27a 过表达的血管内皮细胞来源外泌体改善股骨头坏死实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2021, 35(3):356 – 365.
- [62] LUO Z W, LI F X, LIU Y W, et al. Aptamer – functionalized exosomes from bone marrow stromal cells target bone to promote bone regeneration [J]. *Nanoscale*, 2019, 11(43):20884 – 20892.