

间充质干细胞来源外泌体 修复膝关节炎软骨损伤作用机制的研究进展

伏玉龙¹, 郭珈宜², 李峰², 张亦可¹, 曹坤燕¹

(1. 河南中医药大学研究生院, 河南 郑州 450046;

2. 河南省洛阳正骨医院/河南省骨科医院, 河南 洛阳 471002)

摘要 膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是临床上常见的退行性骨关节疾病,目前临床上尚缺乏能够有效遏制其进展的治疗方法。间充质干细胞来源外泌体(mesenchymal stem cell-derived exosome, MSC-EXO)在 KOA 软骨损伤修复中具有显著的优势,关节腔注射 MSC-EXO 有望成为治疗 KOA 的重要疗法。本文对 MSC-EXO 进行了概述,并从抑制软骨细胞外基质降解、调控软骨细胞增殖与凋亡、抑制炎症反应和增强软骨细胞自噬等方面,对 MSC-EXO 修复 KOA 软骨损伤作用机制的研究进展进行了综述。

关键词 骨关节炎;膝;软骨;关节;间质干细胞;外泌体;综述

膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)以膝关节软骨退变和软骨下骨骨质增生为主要病理特征,以膝关节疼痛、肿胀、活动受限为主要临床表现,严重影响患者的生活质量,具有较高的致残率^[1-2]。软骨组织退变是 KOA 最典型的病理特征,与软骨细胞凋亡、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解关系密切^[3-4]。目前临床上采用非手术疗法治疗 KOA,均不能遏制或逆转 KOA 进程;晚期 KOA 患者可通过人工膝关节置换治疗,但人工膝关节置换存在治疗费用高、并发症多等问题^[5]。随着对间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)研究的不断深入,发现 MSC 在修复软骨损伤方面具有独特的优势,关节腔注射 MSC 有望成为治疗 KOA 的重要疗法^[6]。而外泌体(exosome, EXO)是 MSC 修复软骨损伤的主要有效成分^[7-8],且具有易于收集和储存、稳定性好、靶向性强及免疫排斥性低等优点,在组织修复领域具有极大的应用潜能^[9]。本文对 MSC 来源的 EXO(MSC-EXO)进行了概述,并对 MSC-EXO 修复 KOA 软骨损伤作用机制的研究进展进行了综述。

1 MSC-EXO 概述

EXO 是细胞分泌的直径 40 ~ 150 nm 的多囊泡体,可稳定存在于多种体液、分泌液及细胞培养基中,

在旁分泌中发挥重要作用^[10]。MSC-EXO 内含有核酸(mRNA、miRNA 等)、蛋白质、脂质等物质,具有 MSC 的部分生理功能,如促进软骨再生^[11-12]。MSC-EXO 可从骨髓、脂肪、脐带等组织中获得^[13]。不同来源 MSC-EXO 的组成成分存在差异,但包括凋亡相关基因 2 相互作用蛋白 X、肿瘤易感基因 101 及 CD9、CD63 或 CD81 等跨膜蛋白在 MSC-EXO 中较为保守,常被作为 MSC-EXO 的标记蛋白^[14]。

2 MSC-EXO 修复 KOA 软骨损伤的作用机制

2.1 抑制软骨 ECM 降解 软骨由软骨细胞和 ECM 构成。软骨细胞是软骨中唯一的细胞类型,在维持软骨形态和功能方面发挥重要作用。随着年龄增长,机体功能下降及其他多种因素导致软骨细胞维持其 ECM 稳定的能力下降,ECM 合成与降解之间的平衡失调,导致潮线向软骨层推移,软骨组织逐渐退变^[15]。因此,维持 ECM 的稳定对于延缓 KOA 进展具有重要作用。Wang 等^[16]采用膝关节腔注射胚胎 MSC-EXO 干预 KOA 模型小鼠,结果显示小鼠关节软骨组织中 II 型胶原的蛋白表达量升高,而聚蛋白多糖酶的蛋白表达量下降,认为胚胎 MSC-EXO 能够抑制软骨 ECM 的降解,增强软骨的稳定性。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)是 ECM 降解的重要蛋白酶之一,在软骨损伤进程中起关键作用^[17]。Rilla 等^[9]研究发现, MSC-EXO 能够降低 MMP-13 的活性,进而抑制软骨 ECM 的降解。He 等^[18]研究发现,在 KOA 模型大鼠膝关节腔内注射的骨髓 MSC-EXO 能够被软骨细胞内吞,进而提高软骨组织中 II 型

基金项目:河南省中医药传承与创新人才工程(仲景工程)中医药拔尖人才项目(豫卫中医函[2021]15号);全国中医学术流派传承工作室建设项目(国中医药人教函[2019]62号);河南省中医药科学研究专项课题(20-21ZY1005, 2022ZYD17)

通讯作者:郭珈宜 E-mail: DoctorGuoJY@outlook.com

胶原和蛋白聚糖的含量,降低 MMP-13 和聚蛋白多糖酶的表达量,提示骨髓 MSC-EXO 能够有效促进软骨细胞外基质的合成,修复软骨损伤。

2.2 调控软骨细胞增殖与凋亡 在健康人体软骨组织中,软骨细胞的增殖和凋亡处于动态平衡之中,如果细胞凋亡速度过快,二者间的平衡被打破,则会导致软骨组织退变。KOA 患者软骨细胞增殖能力降低、细胞凋亡水平增加,导致膝关节软骨组织退变^[19]。因此,抑制软骨细胞凋亡、促进软骨细胞增殖对防治 KOA 软骨组织退变具有重要意义。Zhou 等^[20]研究发现,在 KOA 小鼠中注射骨髓 MSC-EXO 可减轻 KOA 症状,进一步机制分析结果表明,骨髓 MSC-EXO 能够通过骨形态发生蛋白 4 信号通路促进软骨细胞的增殖,进而延缓 KOA 的进展。Yan 等^[21-22]研究发现,脐带 MSC-EXO 的 lncRNA H19 可作为 miR-29b-3p 的竞争性内源海绵,干扰 miR-29b-3p 对叉头框蛋白 O3 (forkhead box O3, FoxO3) 信号通路的靶向抑制作用,而 FoxO3 在促进软骨细胞迁移、分泌基质及抑制软骨细胞凋亡与衰老进程中发挥重要作用。因此,脐带 MSC-EXO 中的 lncRNA H19 在促进软骨细胞增殖和抑制软骨细胞凋亡中发挥重要作用。相关研究发现, MSC-EXO 能够通过蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、Wnt 等信号通路调控细胞的增殖与凋亡^[23-24]。Kuang 等^[25]研究发现,脐带 MSC-EXO 通过 Akt 信号通路抑制 B 淋巴瘤-2 基因相关启动子蛋白、半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 3 的活性,进而抑制软骨细胞凋亡。线粒体功能障碍是导致细胞凋亡的重要原因之一,且与 Akt、ERK 等信号通路相关^[26]。Qi 等^[27]在体外培养的软骨细胞中加入白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 以诱导其凋亡,发现软骨细胞凋亡过程中线粒体膜电位异常、ERK 的磷酸化水平升高、Akt 的磷酸化水平降低,而加入骨髓 MSC-EXO 能够显著改善这些异常改变,认为骨髓 MSC-EXO 能够抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡。Wang 等^[28-29]研究发现,骨髓 MSC-EXO 能够通过抑制软骨细胞中钙黏蛋白-11 的表达抑制 Wnt 通路的激活,进而促进软骨细胞增殖、抑制软骨细胞凋亡。

2.3 抑制炎症反应 KOA 患者 IL-1 β 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 的表达量显著增加,

而 IL-1 β 、TNF- α 均能作用于痛觉神经上相应的受体,进而引起疼痛^[30]。此外, TNF- α 还能够通过核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)、磷脂酰肌醇 3-激酶/Akt 等信号通路促进 IL-1 β 及其他炎症因子的表达^[31]。抑制炎症反应对于促进软骨组织修复意义重大。Vonk 等^[32]研究发现,骨髓 MSC-EXO 能够抑制 NF- κ B 抑制蛋白的磷酸化,进而抑制 NF- κ B 信号通路,降低相关炎症因子的表达。此外, MSC-EXO 还能够促进 IL-10 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 的表达,促进软骨组织的修复^[33]。Jiang 等^[34]在采用 IL-1 β 诱导的软骨细胞的培养基中加入骨髓 MSC-EXO,软骨细胞中 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的表达受到抑制。邢逸等^[35]研究发现,骨髓 MSC-EXO 能够促使关节滑膜液中免疫细胞的极化,并下调 IL-6、IL-1 β 的 mRNA 表达水平,上调 TGF- β 1 的 mRNA 表达水平,认为骨髓 MSC-EXO 具有抑制炎症反应、促进软骨修复的作用。Zhou 等^[36]采用富含 miR-126-3p 的滑膜 MSC-EXO 干预 KOA 大鼠,干预后大鼠软骨组织中 IL-1 β 、TNF- α 的蛋白表达量均降低。因此, MSC-EXO 促进软骨损伤修复的重要作用机制之一是抑制炎症因子的表达,进而为软骨修复提供良好的微环境。

2.4 增强软骨细胞自噬 自噬是细胞通过降解自身细胞器和细胞质蛋白维持细胞内稳态的过程^[37]。雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 是调控细胞自噬的重要蛋白之一,抑制 mTOR 的表达能够增强 KOA 软骨细胞自噬,避免软骨细胞进入凋亡途径^[38]。Wu 等^[39]研究发现,髌下脂肪垫 MSC-EXO 能够显著增强 IL-1 β 诱导下软骨细胞的保护性自噬,其作用机制可能与抑制 mTOR 有关,而髌下脂肪垫 MSC-EXO 的 miRNA 测序结果显示,髌下脂肪垫 MSC-EXO 中富含 miR-100-5P。Luo 等^[40]研究发现, mTOR mRNA 是 miR-100 的直接靶标,髌下脂肪垫 MSC-EXO 可能通过 miR-100-5P 抑制 mTOR 的表达,进而增强软骨细胞自噬。

3 小 结

MSC-EXO 是由 MSC 分泌的具有 MSC 部分生理功能的多囊泡体,相较于 MSC 具有易于收集和储存、稳定性好、靶向性强及免疫排斥性低等优点。MSC-EXO 能够通过抑制软骨 ECM 降解、调控细胞增殖与凋亡、抑制炎症反应、增强软骨细胞自噬等作用机制,

促进软骨组织修复,增强软骨的稳定性,进而延缓 KOA 进展。MSC-EXO 在修复 KOA 软骨损伤方面具有独特优势,关节腔注射 MSC-EXO 有望成为治疗 KOA 的重要疗法,但目前在治疗时机、治疗用量及治疗频次等方面均未形成规范,尚需更多的临床试验进一步深入探究。

参考文献

- [1] WEI P, BAO R. Intra-articular mesenchymal stem cell injection for knee osteoarthritis: mechanisms and clinical evidence[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 59.
- [2] VITALONI M, BOTTO-VAN BEMDEN A, SCIORTINO CONTRERAS R M, et al. Global management of patients with knee osteoarthritis begins with quality of life assessment; a systematic review[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2019, 20(1): 493.
- [3] NELSON A E. Osteoarthritis year in review 2017: clinical[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2018, 26(3): 319 – 325.
- [4] GIORGINO R, ALBANO D, FUSCO S, et al. Knee osteoarthritis: epidemiology, pathogenesis, and mesenchymal stem cells: what else is new? An update[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 7(24): 6405.
- [5] ZENG C, WEI J, PERSSON M S M, et al. Relative efficacy and safety of topical non-steroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis: a systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies[J]. *Br J Sports Med*, 2018, 52(10): 642 – 650.
- [6] WEI Z J, WANG Q Q, CUI Z G, et al. Which is the most effective one in knee osteoarthritis treatment from mesenchymal stem cells obtained from different sources? —A systematic review with conventional and network meta-analyses of randomized controlled trials[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(6): 452.
- [7] 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.
- [8] REN S, WANG C, GUO S. Review of the role of mesenchymal stem cells and exosomes derived from mesenchymal stem cells in the treatment of orthopedic disease[J]. *Med Sci Monit*, 2022, 28: e935937.
- [9] RILLA K, MUSTONEN A M, ARASU U T, et al. Extracellular vesicles are integral and functional components of the extracellular matrix[J]. *Matrix Biol*, 2019(75/76): 201 – 219.
- [10] TKACH M, THERY C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go[J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1226 – 1232.
- [11] JEYARAMAN M, MUTHU S, GULATI A, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: a potential therapeutic avenue in knee osteoarthritis [J]. *Cartilage*, 2021, 13(1 – suppl): 1572S – 1585S.
- [12] FAZAELI H, KALHOR N, NASERPOUR L, et al. A comparative study on the effect of exosomes secreted by mesenchymal stem cells derived from adipose and bone marrow tissues in the treatment of osteoarthritis-induced mouse model[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9688138.
- [13] ZENG Q L, LIU D W. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: an emerging therapeutic strategy for normal and chronic wound healing [J]. *World J Clin Cases*, 2021, 9(22): 6218 – 6233.
- [14] ÁLVAREZ-VIEJO M. Mesenchymal stem cells from different sources and their derived exosomes: a pre-clinical perspective[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(2): 100 – 109.
- [15] CAO Z, LIU W, QU X, et al. MiR-296-5p inhibits IL-1 β -induced apoptosis and cartilage degradation in human chondrocytes by directly targeting TGF- β 1/CTGF/p38MAPK pathway[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(12): 1443 – 1453.
- [16] 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.
- [17] ZHU Y, HUANG Y, JI Q, et al. Interplay between extracellular matrix and neutrophils in diseases [J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021: 8243378.
- [18] HE L, HE T, XING J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes protect cartilage damage and relieve knee osteoarthritis pain in a rat model of osteoarthritis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 276.
- [19] GAO Z, WANG Q, GUO K, et al. Enpp1 deficiency caused chondrocyte apoptosis by inhibiting AMPK signaling pathway[J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1): 462.
- [20] ZHOU X, LIANG H, HU X, et al. BMSC-derived exosomes from congenital polydactyly tissue alleviate osteoarthritis by promoting chondrocyte proliferation[J]. *Cell Death Discov*, 2020, 6(1): 142.
- [21] YAN L, LIU G, WU X. Exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells in mechanical environment show improved osteochondral activity via upregulation of lncRNA H19[J]. *J Orthop Translat*, 2020, 26: 111 – 120.
- [22] YAN L, LIU G, WU X. The umbilical cord mesenchymal

- stem cell-derived exosomal lncRNA H19 improves osteochondral activity through miR-29b-3p/FoxO3 axis[J]. Clin Transl Med, 2021, 11(1): e255.
- [23] 付俊宁, 蓝常贡. 间充质干细胞来源外泌体治疗骨性关节炎机制的研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(9): 970-972.
- [24] 黄瑞, 朱叔敏, 莫景新, 等. 间充质干细胞来源外泌体促进软骨再生的研究进展[J]. 海南医学, 2022, 33(5): 626-629.
- [25] 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.
- [26] 杨定龙, 李鹏翠, 李皓乾, 等. 间充质干细胞外泌体在骨关节炎治疗修复中的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2022, 39(1): 199-204.
- [27] QI H, LIU D P, XIAO D W, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells inhibit mitochondrial dysfunction-induced apoptosis of chondrocytes via p38, ERK, and Akt pathways[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2019, 55(3): 203-210.
- [28] WANG S, DING P, XIA X, et al. Bugan Rongjin decoction alleviates inflammation and oxidative stress to treat the postmenopausal knee osteoarthritis through Wnt signaling pathway[J]. Biomed Eng Online, 2021, 20(1): 103.
- [29] DONG J, LI L, FANG X, et al. Exosome-encapsulated microRNA-127-3p released from bone marrow-derived mesenchymal stem cells alleviates osteoarthritis through regulating CDH11-mediated Wnt/beta-catenin pathway[J]. J Pain Res, 2021, 14: 297-310.
- [30] GAJTKÓ A, BAKK E, HEGEDÜS K, et al. IL-1 β Induced cytokine expression by spinal astrocytes can play a role in the maintenance of chronic inflammatory pain[J]. Front Physiol, 2020, 11: 543331.
- [31] 林璐璐, 石广霞, 屠建锋, 等. 膝关节疼痛机制研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2022, 28(6): 454-459.
- [32] VONK L A, VAN DOOREMALEN S F J, LIV N, et al. Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles promote human cartilage regeneration in vitro[J]. Theranostics, 2018, 8(4): 906-920.
- [33] ZHANG S, CHUAH S J, LAI R C, et al. MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity[J]. Biomaterials, 2018, 156: 16-27.
- [34] JIANG K, JIANG T, CHEN Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes modulate chondrocyte glutamine metabolism to alleviate osteoarthritis progression[J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021: 2979124.
- [35] 邢逸, 窦一鸣, 王敏, 等. 骨髓间充质干细胞来源外泌体对炎症微环境中巨噬细胞表型及软骨细胞的调控作用[J]. 天津医药, 2022, 50(4): 343-349.
- [36] ZHOU Y, MING J, LI Y, et al. Exosomes derived from miR-126-3p-overexpressing synovial fibroblasts suppress chondrocyte inflammation and cartilage degradation in a rat model of osteoarthritis[J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1): 37.
- [37] XIN Y, JIANG F, YANG C, et al. Role of autophagy in regulating the radiosensitivity of tumor cells[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2017, 143(11): 2147-2157.
- [38] 李田洋, 郑曙光. PI3K/Akt/mTOR 信号通路在骨关节炎中的作用[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(20): 58-63.
- [39] WU J, KUANG L, CHEN C, et al. MiR-100-5p-abundant exosomes derived from infrapatellar fat pad MSCs protect articular cartilage and ameliorate gait abnormalities via inhibition of mTOR in osteoarthritis[J]. Biomaterials, 2019, 206: 87-100.
- [40] LUO P, JIANG C, JI P, et al. Exosomes of stem cells from human exfoliated deciduous teeth as an anti-inflammatory agent in temporomandibular joint chondrocytes via miR-100-5p/mTOR[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 216.

(收稿日期: 2023-07-18 本文编辑: 吕宁)

(上接第 75 页)

- [67] ITATANI Y, KAWADA K, YAMAMOTO T, et al. Resistance to anti-angiogenic therapy in cancer-alterations to anti-VEGF pathway[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(4): 1232.
- [68] DAKOWICZ D, ZAJKOWSKA M, MROCZKO B. Relationship between VEGF family members, their receptors and cell death in the neoplastic transformation of colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3375.
- [69] HUSSAIN R M, SHAUKAT B A, CIULLA L M, et al. Vascular endothelial growth factor antagonists: promising players in the treatment of neovascular age-related macular degeneration[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 2653-2665.
- [70] GUALTIEROTTI R, TAFURI F, ARCUDI S, et al. Current and emerging approaches for pain management in hemophilic arthropathy[J]. Pain Ther, 2022, 11(1): 1-15.

(收稿日期: 2023-04-23 本文编辑: 郭毅曼)