

## 外泌体在激素性股骨头坏死治疗中的作用机制研究进展

马学强<sup>1</sup> 曹林忠<sup>1,2,△</sup> 刘孟初<sup>1</sup> 王多贤<sup>1</sup> 万超超<sup>1</sup>

[关键词] 激素性股骨头坏死;外泌体;治疗;机制

[中图分类号] R681.1 [文献标志码] A [文章编号] 1005-0205(2022)07-0083-06

激素性股骨头坏死(Steroid-induced Avascular Necrosis of the Femoral Head, SANFH)是长期或大剂量使用糖皮质激素(Glucocorticoid, GC)导致骨内循环障碍、骨细胞代谢失衡,引起股骨头局部炎症、变性、髋关节疼痛和活动受限的疾病,其发病率逐年增高,约70%的患者须行髋关节置换手术<sup>[1-2]</sup>。外泌体是一类包裹着核酸、蛋白质、脂质、细胞因子等生物活性分子的细胞外囊泡,在骨关节炎、骨质疏松、股骨头坏死等骨科疾病的诊断、治疗中扮演着重要角色。研究表明不同来源的外泌体能够促进骨髓间充质干细胞(Bone Mesenchymal Stem Cells, BMSCs)成骨分化和血管生成、改善股骨头微循环等,从而调节骨代谢平衡、参与骨重建,在治疗 SANFH 方面发挥重要作用<sup>[3-4]</sup>。

## 1 外泌体的生物学功能

外泌体可来源于间充质干细胞、破骨细胞、血管内皮细胞、血清等。外泌体产生初期,细胞膜内陷形成胞内体,随后胞内体向腔内萌发出囊泡,进一步形成多泡体(Multivesicular Body, MVB)<sup>[5]</sup>。MVBs 与质膜融合并通过胞吐作用形成细胞外囊泡(Extracellular Vesicles, EVs)<sup>[6]</sup>。EVs 是一种装载有各种蛋白质、脂质和核酸的异质体,根据不同的产生途径、大小、沉降力、内容物、蔗糖密度和脂质组成,分为外泌体、凋亡小体和微囊泡<sup>[7]</sup>。外泌体是具有杯状结构的质膜结合磷脂囊泡,直径约为 30~150 nm。早期的研究认为外泌体是运送网织红细胞中不需要的膜蛋白或细胞内成分的容器<sup>[8]</sup>,近年来的研究显示外泌体含有丰富的蛋白质和遗传物质,包括脂质、膜蛋白、核蛋白、miRNAs、

mRNAs、DNA 和其他非编码 RNAs,并主要通过转运这些物质在细胞间通信和组织再生调节中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。外泌体相对稳定的脂质双层结构可以有效维持其负载内容物的活性,并稳定存在于所有生物液体中,成为疾病诊断、治疗的理想生物标志物<sup>[10]</sup>。同时,外泌体具有容易获得、无免疫原性、与靶细胞亲和性强等特性,参与了细胞凋亡、凝血反应、炎症反应生理病理活动,是一种天然的纳米级基因传递载体<sup>[11]</sup>,在自身免疫性疾病、神经系统疾病和癌症的发病、诊疗中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。外泌体从宿主细胞中释放出来并被受体细胞吸收(见图 1)<sup>[13]</sup>,MVBs 与细胞膜合并并释放到细胞外空间,在宿主细胞中产生外泌体。

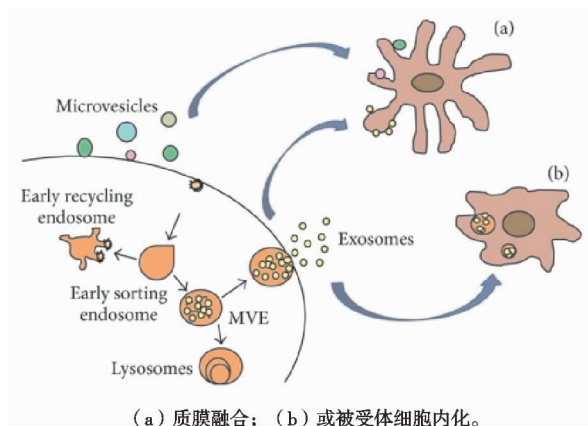


图 1 外泌体从宿主细胞中释放出来并被受体细胞吸收

MiRNA 是小的非编码 RNAs,很多种类的 miRNA 对骨重塑具有重要调节作用,作为外泌体的内容物之一,能够通过外泌体在细胞间转移<sup>[14-15]</sup>。外泌体 miRNA(Exo-miRNA)已被证明可以调节“受体”细胞功能,外泌体中特定 miRNA 能增强其成骨和血管生成能力<sup>[16]</sup>。将治疗性 miRNA 加载于外泌体主要包括源细胞的基因修饰和外泌体的直接加载,由于后者效率不稳定,因此源细胞的基因修饰是主流选择<sup>[17]</sup>。据报道,外泌体和骨关节炎、骨质疏松症等许多骨与关节疾病密切相关<sup>[18]</sup>,通过影响成骨分化和血管生成调节骨代谢平衡、参与骨重建,在干预 SANFH

基金项目:国家自然科学基金地区项目(81860859,82160915)

甘肃中医药大学研究生创新基金资助项目  
(2021CX02)<sup>1</sup> 甘肃中医药大学中医临床学院(兰州,730000)<sup>2</sup> 甘肃中医药大学附属医院老年骨科

△通信作者 E-mail:258773304@qq.com

进程方面发挥重要作用<sup>[19-20]</sup>。外泌体的形态和结构<sup>[21]</sup>见图2。

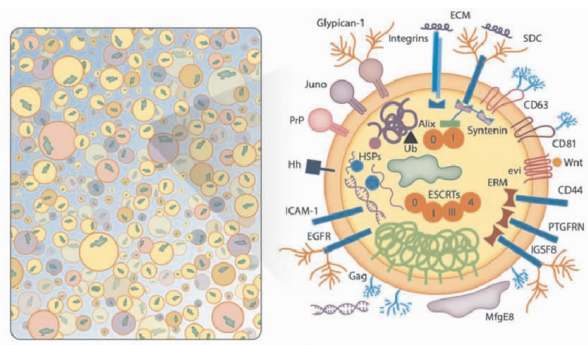


图2 外泌体的形态和结构

## 2 不同来源的外泌体在 SANFH 治疗中的机制及作用

### 2.1 骨髓间充质干细胞来源的外泌体(BMSC-exos)

成骨细胞和破骨细胞代谢的动态平衡是骨结构适应和骨功能优化的重要机制。GC 能损害成骨细胞的功能,破坏骨代谢的动态平衡。BMSCs 获取较为方便,并且能够离体扩增,在骨再生中发挥重要作用,其成骨分化和迁移障碍是 SANFH 发生发展的关键环节<sup>[22]</sup>。来自 SANFH 组织的外泌体(SANFH-exos)可导致 CD41 蛋白表达降低、抑制 BMSCs 的成骨分化和迁移从而诱导 SANFH 发生。在此病理过程中, SANFH-exos 导致 BMSCs 缺乏 CD41 而无法修复坏死骨是可能是 SANFH 加重的主要原因<sup>[23]</sup>。间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells, MSCs)能够趋向损伤部位,通过分泌细胞因子、调节局部炎症反应、自身分化而促进骨损伤修复,恢复“骨稳态”<sup>[24]</sup>。

BMSC-exos 能促进 BMSCs 的成骨分化、抑制成脂分化,恢复骨-脂肪生成平衡,对坏死的股骨头进行修复。MiRNA 在调节细胞增殖、生存和迁移活动中发挥着关键作用,多种 miRNA 的表达改变参与了 SANFH 的发生发展<sup>[25-26]</sup>。Liao 等<sup>[27]</sup>研究发现,将 BMSC-exos 中的 miR-122-5p 过表达后, SANFH 兔股骨头骨矿物质密度(BMD)、小梁骨体积(TBV)和股骨头的平均小梁板厚度(MTPT)增加,并伴随着坏死股骨头的明显愈合,由此证明,携带过表达 miR-122-5p 的 BMSC-exos 通过 RTK/Ras/MAPK 信号通路下调 Sprouty2 (SPRY2)并提高受体酪氨酸激酶(RTK)的活性来抑制 SANFH 的发展。Fang 等<sup>[28]</sup>发现,经 BMSC-Exos 干预的 SANFH 细胞成脂分化被明显抑制,并使 Bmp2、Bmp6、Bmpr1b、Mmp9 和 Sox9 等 9 个成骨相关基因上调,有效抑制 SANFH 的发展。

BMSC-exos 对促进血管生长和抑制血栓形成同样具有重要作用。BMSCs-exos 中的 miR-133b-3p 可以靶向 PAI-1 mRNA 的 3'UTR 以降低纤溶酶原激活

剂抑制剂 1(PAI-1)的表达,从而抑制微血管中血栓的形成,显示出对 SANFH 良好的治疗效果<sup>[29]</sup>。PAI-1 可抑制纤溶酶原向纤溶酶的转化,降低血管中的纤溶水平,导致血栓形成,影响股骨头微循环,使股骨头血流量减少,最终导致股骨头塌陷、坏死。在 GC 诱导的兔 SANFH 模型中, PAI-1 水平明显升高,并处于促凝状态,进一步证实了 BMSCs-exos 抑制 PAI-1 表达而干预 SANFH 的进程<sup>[30]</sup>。另有研究发现,将 siRNA 封装到 BMSC-exos 中,随后在体外将 siRNA-BMSC-exos 递送到细胞中,可以有效促进血管生成<sup>[31]</sup>。SiRNA 作为一种外源合成 RNA 分子,可以通过细胞吸收或病毒传递在细胞中发挥作用。外泌体是 siRNA 封装的理想系统,得益于其磷脂双层膜结构,其中的 siRNA 几乎不会产生并发症<sup>[32]</sup>。另外,由突变体-缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 修饰的 BMSC-exos (BMSC-ExosMU)同样能够显著加速骨再生和血管生成,从而促进 SANFH 的修复<sup>[33]</sup>。而且 BMSC-ExosMU能够在保持常氧条件下有效表达功能蛋白作用的同时,又解决了容易生物降解的缺陷。

BMSCs 易于提取和培养,相关的基础研究充分, BMSC-exos 对 SANFH 的治疗作用主要表现在促进成骨、抑制成骨分化、促进血管生成以及抗血栓形成,有望在临床诊断和治疗中发挥重要作用。但是 BMSC-exos 的研究还主要停留在实验室阶段,其临床疗效缺乏充足证据支撑,其扮演的角色及确切机制仍有待研究明确。

### 2.2 血管内皮细胞来源的外泌体(VEC-exos)

VECs-exos 生物相容性高,血管生成能力强,可有效恢复坏死部位血供,同时具有良好的促成骨作用,可靶向修复骨损伤部位,对治疗 SANFH 具有重要意义。GC 可直接损害 VECs,导致股骨头坏死区出现高凝状态和异常微血栓形成,严重减少骨小梁的血液供应。将相关 miRNA 加载于 VECs-exos 可有效增强其促血管生成作用。同时, VECs 与成骨细胞间的通讯对促进 SANFH 股骨头修复有重要意义。Zhang 等<sup>[34]</sup>利用 miR-27a 修饰大鼠 VECs,获得 miR-27a 过表达的 VECs-exos,进一步将 miR-27a 递送至胚胎成骨细胞前体细胞(MC3T3-E1),从而解除 DKK2 对 Wnt 通路的抑制作用,显示出良好的促成骨活性。miR-26a 是骨生成活性最重要的调节剂之一,可诱导 BMSCs 向成骨分化进一步促进骨再生<sup>[35]</sup>。CD34 干细胞是一组血管祖细胞,具有非凡的血管生成特性,已在临床上用于治疗肢体缺血。研究人员发现 CD34-Exos 可以加强体外 VECs 的形成和体内血管生成,同时避免了 CD34 存活率低、肿瘤发生、遗传变异等缺陷<sup>[36]</sup>。在此基础上,将 miR-26a 转染至 CD34 并提取

其外泌体(miR-26a-CD34-Exos),再将其注射到 SANFH 大鼠模型中,结果显示 CD34-Exos 的促血管生成作用和 miR-26a 的促骨生成作用结合在 miR-26a-CD34-Exos 中,能够协同作用逆转 SANFH 病理发展过程。并且增加了 CD34-Exos 中成骨 miRNA 的比例,增强 CD34-Exos 成骨能力<sup>[35]</sup>。可见 VEC-exos 在成骨过程中扮演了重要角色,在促进血管生成和成骨两个方面均对治疗 SANFH 起着关键作用。

### 2.3 脂肪源性干细胞来源的外泌体(ASCs-exos)

脂肪组织来源的干细胞(Adipose Stem Cells, ASCs)同样具有促进成骨和血管生成分化的能力,但 ASCs 缺乏骨诱导作用,对治疗 SANFH 有一定限制<sup>[37]</sup>。ASCs-exos 可有效促进缺血性疾病中的细胞迁移和新血管生成<sup>[38]</sup>,同时促进 BMSCs 增殖、迁移和成骨,对骨再生障碍具有重要治疗作用<sup>[39]</sup>。Kai 等<sup>[40]</sup>研究发现,来自 miRNA-378 修饰的 ASCs-exos 通过靶向 miR-378 负调节的融合抑制因子丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶抑制剂(Sufu),增强血管生成和成骨而达到预防 SANFH 的目的。此外,miR-378-ASCs-Exos 增强了血管生成相关基因(如 VEGF、ANG1 等)的表达。miR-378 是多种细胞和有机代谢过程的重要调节剂,可显著促进细胞存活和缺氧缺血环境中的新生血管形成<sup>[41]</sup>,同时可以直接增强 BMP2 诱导的 C2C12 成肌细胞向成骨分化<sup>[42]</sup>。另一方面,miR-378 通过外泌体转移到“受体”细胞中,下调 Sufu 表达并激活 Shh 信号通路,使骨组织修复基质沉积增加,并通过分泌血管生成生长因子促进新生血管形成<sup>[40,43-45]</sup>。研究表明 Shh 通路通过提高 Runx2 的表达来调节成骨细胞的分化和间充质祖细胞的增殖<sup>[46]</sup>,并通过分泌血管生成生长因子促进新生血管形成<sup>[46]</sup>。因此 Shh 通路可能是骨修复过程中联系成骨和血管生成的关键通路之一,miR-378-ASCs-Exos 通过激活 Shh 信号通路增强新血管形成和成骨。ASCs-exos 可存储于全身,来源相对丰富,容易获取且具有较强的扩增能力,具有良好的临床应用前景。

### 2.4 其他来源的外泌体

人类诱导多功能干细胞(Human-induced Pluripotent Stem Cells, hiPSMSCs)可以向内、中和外三胚层方向分化,在保留向骨、软骨和脂肪组织等分化能力的同时,还具有很强的自我更新和增殖能力。HiPSMSC-Exos 与 miR-135b 结合能够抑制 SANFH 细胞凋亡,降低程序性细胞死亡蛋白 4(PDCD4)表达水平,还能够促进血管生成和防止骨质流失<sup>[47]</sup>,而 PDCD4 的过表达或沉默会极大地影响细胞存活和生长。另据 Liu 等<sup>[48]</sup>报道,hiPSMSC-Exos 可以通过激活内皮细胞中的 PI3K/Akt 信号通路促进局部血管生

成和防止骨质流失,对 SANFH 产生预防作用。随着技术的发展,hiPSMSCs 已具备较高的安全性和构建效率,未来有望实现针对不同患者的个体化治疗。

源自人富含血小板的血浆的外泌体(Exosomes Derived from Platelet-rich Plasma, PRP-Exos)在治疗 SANFH 中具有抗细胞凋亡、促进成骨分化的重要作用。PRP-Exos 对 GC 相关内质网应激诱导的细胞凋亡具有显著的抑制作用,从而达到治疗或延缓 SANFH 进程的目的,在此过程中,AKT-BAD-BCL-2 信号通路可能发挥着重要作用。PRP-Exos 能够在内质网应激下激活 Akt 和 Erk 通路以促进血管生成。同时,Akt 通路的激活可促进 B 细胞淋巴瘤 2(Bcl-2)等抗凋亡蛋白的表达,从而在 SANFH 大鼠模型中预防 GC 诱导的细胞凋亡<sup>[49]</sup>。近期研究表明,正常血浆外泌体中 tsRNA-10277 可在 SANFH 中通过 Wnt 信号通路增强 BMSCs 的成骨分化能力<sup>[50]</sup>。PRP-Exos 可通过抗细胞凋亡、促进成骨分化对 SANFH 进行干预,但是从 PRP 中提取的外泌体非常有限,因此 PRP-Exos 的提取需要大量的血浆,这对于 PRP-Exos 在临床上的应用也带来了很大的限制。

滑膜间充质干细胞(Synovial Mesenchymal Stem Cells, SMSCs)由关节滑膜组织提取纯化而来,临床上取材来源相对丰富,能够大量提取应用,而且较 BMSCs 有更强的成骨分化能力。SMSC-Exos 中含有丰富的 Wnt5a 及 Wnt5b 蛋白,能够通过调控 Wnt5a/YAP 信号通路促进软骨细胞增殖及迁移<sup>[51]</sup>。另外,SMSC-Exos 可以增强 BMSCs 的增殖能力和抗凋亡反应<sup>[52]</sup>。但是,SMSC-Exos 在 SANFH 中的基础研究极少,其作用机制仍有待明确。

人脐带间充质干细胞来源的外泌体(Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cellsexosomes, HUCMSC-Exos)来源丰富,可应用于个体化治疗,具有促进 BMSCs 成骨分化和抗细胞凋亡能力。HUCMSC-Exos 能够通过 miR-365a-5p/SAV1/YAP 轴介导成骨并促进骨再生和修复<sup>[53]</sup>。MiR-365a-5p 具有较强的成骨作用,能够上调 SANFH 中 BMP2、Sp7 和 Runx 等骨形成相关基因,同时激活 Yes 相关蛋白(YAP)而调节转录因子 Runx2 诱导 BMSCs 向成骨细胞分化。YAP 是 Hippo 信号通路的关键分子,参与调节细胞增殖、存活和分化。另外,HUCMSC-Exos 中的 miR-21 能够特异性上调 PTEN-AKT 而抑制 BAD 和 Caspase3 等蛋白而减少骨细胞凋亡,延缓 SANFH 的进程<sup>[54-55]</sup>。HUCMSCs 很容易从脐带中提取,并具有干细胞样特性,显示出良好的组织再生潜力。HUCMSC-Exos 有较强的促组织修复能力,但其潜在的作用机制有待明确。

### 3 总结与展望

SANFH 发病隐匿,早期诊断和治疗方法有限,到病程中晚期才会出现明显的髌关节疼痛、活动受限等症状,然而,目前没有任何治疗方法能够完全治愈该病。近年来,利用干细胞治疗骨科疾病是一大热点,但是直接干细胞移植具有存活率低、基因改造和肿瘤形成等缺陷<sup>[56]</sup>。越来越多的证据表明,干细胞移植到损伤组织后,组织修复不是来源于植入细胞本身的增殖和分化,而是来源于干细胞的旁分泌功能<sup>[57]</sup>。干细胞向损伤部位分泌生长因子、细胞因子、趋化因子、微泡和外泌体(exosomes),促进损伤部位细胞的趋化、增殖和分化。外泌体具有容易获得、无免疫原性、与靶细胞亲和性强等特性,在细胞凋亡、凝血反应、炎症反应以及蛋白质 RNA 等物质转运方面均有参与<sup>[58]</sup>,外泌体的膜结构与其亲本细胞具有高度相似性,能够保持膜内的 miRNA 生物活性并提供有效的细胞-靶标递送系统。作为天然纳米级生物材料兼具优良生物活性,外泌体在心肌梗死修复、改善肺动脉高压、促进神经再生等方面显示出疗效与优势<sup>[59-61]</sup>。在骨再生领域,外泌体能够更好地促进成骨分化、骨形成和微血管形成,抑制骨细胞凋亡和血栓形成,对各种原因造成的骨缺损和局部微环境的破坏具有积极地修复作用,这是其他治疗方法所不能比拟的。

在 SANFH 治疗相关的外泌体中,BMSC-exos、VEC-exos、ASCs-exos 来源较丰富,生物活性稳定,获取和扩增相对容易,当前的研究应用较多。其他种类的外泌体在治疗 SANFH 方面也有其不可替代的作用与优势,但是当前研究十分有限,包含在外泌体内的种类繁多的生物信息及其作用于靶细胞的途径也是研究的难点,其确切的治疗机制、进一步提高骨靶向性能的方案、miRNA 的选择以及加载方式优化等,有待进一步研究明确。同时,当前关于外泌体的治疗作用主要集中在基础研究和实验室阶段,外泌体疗法的临床应用如何开展、疗效如何是当前从基础到临床研究面临的重要问题。因此,在未来研究中,外泌体对 SANFH 的直接相关性研究和临床循证医学研究应成为着力点,以此来促进外泌体治疗相关骨疾病的机制研究、诊断和治疗。

### 参考文献

- [1] WU X, SUN W, TAN M. Noncoding noncoding RNAs in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *BioMed Research International*, 2019, 2019: 8140595.
- [2] ZHENG H, LIU J, TYCKSEN E, et al. MicroRNA-181a/b-1 over-expression enhances osteogenesis by modulating PTEN/PI3K/AKT signaling and mitochondrial metabolism [J]. *Bone*, 2019, 123: 92-102.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 余沈桐, 韦伊芳, 张健. 细胞外囊泡与肿瘤相关性的研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(8): 1302-1306.
- [6] ABELS E R, BREAKFIELD X O. Introduction to extracellular vesicles: biogenesis, RNA cargo selection, content, release, and uptake [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2016, 36(3): 301-312.
- [7] SHAO H, IM H, CASTRO C M, et al. New technologies for analysis of extracellular vesicles [J]. *Chem Rev*, 2018, 118(4): 1917-1950.
- [8] BLANC L, VIDAL M. Reticulocyte membrane remodeling: contribution of the exosome pathway [J]. *Curr Opin Hematol*, 2010, 17(3): 177-183.
- [9] SATO-KUWABARA Y, MELO S A, SOARES F A, et al. The fusion of two worlds: non-coding RNAs and extracellular vesicles-diagnostic and therapeutic implications (Review) [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(1): 17-27.
- [10] SIMPSON R J, LIM J W, MORITZ R L, Mathivanan S. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential [J]. *Expert Rev: Proteomic*, 2009, 6(3): 267-283.
- [11] BURKE J, KOLHE R, HUNTER M, et al. Stem cell-derived exosomes: a potential alternative therapeutic agent in orthopaedics [J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 5802529.
- [12] PANT S, HILTON H, BURCZYNSKI M E. The multifaceted exosome: biogenesis, role in normal and aberrant cellular function, and frontiers for pharmacological and biomarker opportunities [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(11): 1484-1494.
- [13] WHITFORD W, GUTERSTAM P. Exosome manufacturing status [J]. *Future Med Chem*, 2019, 11(10): 1225-1236.
- [14] 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.
- [15] LI Z, YANG B, WENG X, et al. Emerging roles of microRNAs in osteonecrosis of the femoral head [J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(1): e12405.
- [16] XU B, ZHANG Y, DU X F, et al. Neurons secrete miR-132-containing exosomes to regulate brain vascular integrity [J]. *Cell Res*, 2017, 27(7): 882-897.
- [17] BURNOUF T, AGRAHARI V, AGRAHARI V. Extracellular vesicles as nanomedicine: hopes and hurdles in



- clinical translation[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 8847-8859.
- [18] SONG H, LI X, ZHAO Z, et al. Reversal of osteoporotic activity by endothelial cell-secreted bone targeting and biocompatible exosomes [J]. *Nano Lett*, 2019, 19 (5): 3040-3048.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] PEGTEL D M, GOULD S J. Exosomes[J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 487-514.
- [22] WU F, JIAO J, LIU F, et al. Hypermethylation of Frizzled1 is associated with Wnt/ $\beta$ -catenin signaling inactivation in mesenchymal stem cells of patients with steroid-associated osteonecrosis[J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(2): 1-9.
- [23] ZHU W, GUO M, YANG W, et al. CD41-deficient exosomes from non-traumatic femoral head necrosis tissues impair osteogenic differentiation and migration of mesenchymal stem cells[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 293.
- [24] GRAYSON W L, BUNNELL B A, MARTIN E, et al. Stromal cells and stem cells in clinical bone regeneration[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(3): 140-150.
- [25] WEN Z, ZHENG S, ZHOU C, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells for post-myocardial infarction cardiac repair; microRNAs as novel regulators[J]. *Cell Mol Med*, 2012, 16(4): 657-671.
- [26] WU X, ZHANG Y, GUO, X et al. Identification of differentially expressed microRNAs involved in non-traumatic osteonecrosis through microRNA expression profiling [J]. *Gene*, 2015, 565(1): 22-29.
- [27] 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.
- [28] 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*, 2018, 13: 45-55.
- [29] LI L, WANG Y, YU X, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes promote plasminogen activator inhibitor 1 expression in vascular cells in the local microenvironment during rabbit osteonecrosis of the femoral head[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 480.
- [30] BOND J, ADAMS S, RICHARDS S, et al. Polymorphism in the PAI-1 (SERPINE1) gene and the risk of osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2011, 118(9): 2632-2633.
- [31] 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.
- [32] WIKLANDER O P B, NORDIN J Z, O'LOUGHLIN A, et al. Extracellular vesicle in vivo biodistribution is determined by cell source, route of administration and targeting[J]. *Extracell Vesicles*, 2015, 4: 26316.
- [33] LI H, LIU D, LI C, et al. Exosomes secreted from mutant-HIF-1 $\alpha$ -modified bone-marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate early steroid-induced avascular necrosis of femoral head in rabbit [J]. *Cell Biol Int*, 2017, 41 (12): 1379-1390.
- [34] ZHANG G, LIU R, DANG X, et al. Experimental study on improvement of osteonecrosis of femoral head with exosomes derived from miR-27a-overexpressing vascular endothelial cells[J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2021, 35(3): 356-365.
- [35] ZUO R, KONG L, WANG M, et al. Exosomes derived from human CD34<sup>+</sup> 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.
- [36] LOSORDO D W, KIBBE M R, MENDELSON F, et al. A randomized, controlled pilot study of autologous CD34<sup>+</sup> cell therapy for critical limb ischemia[J]. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 2012, 5(6): 821-830.
- [37] SONG H, LI X, ZHAO Z, et al. Reversal of osteoporotic activity by endothelial cell-secreted bone targeting and biocompatible exosomes [J]. *Nano Lett*, 2019, 19 (5): 3040-3048.
- [38] COOPER D R, WANG C, PATEL R, et al. Human adipose-derived stem cell conditioned media and exosomes containing MALAT1 promote human dermal fibroblast migration and ischemic wound healing [J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2018, 7(9): 299-308.
- [39] LI W, LIU Y, ZHANG P, et al. Tissue-engineered bone immobilized with human adipose stem cells-derived exosomes promotes bone regeneration[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(6): 5240-5254.
- [40] NAN K, ZHANG Y, ZHANG X, et al. Exosomes from miRNA-378-modified adipose-derived stem cells prevent glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head by enhancing angiogenesis and osteogenesis via targeting miR-378 negatively regulated suppressor of fused (Sufu) [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 331.
- [41] XING Y, HOU J, GUO T, et al. microRNA-378 promotes mesenchymal stem cell survival and vascularization under

- hypoxic-ischemic conditions in vitro[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(6):130.
- [42] HUPKES M, SOTOCA A M, HENDRIKS J M, et al. MicroRNA miR-378 promotes BMP2-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells[J]. *BMC Mol Biol*, 2014, 15:1.
- [43] BAHT G S, SILKSTONE D, NADESAN P, et al. Activation of hedgehog signaling during fracture repair enhances osteoblastic-dependent matrix formation[J]. *Orthop Res*, 2014, 32(4):581-586.
- [44] DUNAEVA M, MICHELSON P, KOGERMAN P, et al. Characterization of the physical interaction of gli proteins with SUFU proteins[J]. *Biol Chem*, 2003, 278(7):5116-5122.
- [45] LIU L, ZHAO B, XIONG X, et al. The neuroprotective roles of Sonic Hedgehog signaling pathway in ischemic stroke[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(12):199-211.
- [46] HUANG C, TANG M, YEHLING E, et al. Overexpressing Sonic Hedgehog peptide restores periosteal bone formation in a murine bone allograft transplantation model[J]. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*, 2014, 22(2):430-439.
- [47] ZHANG X, YOU J M, DONG X J, et al. Administration of mircoRNA-135b-reinforced exosomes derived from-MSCs ameliorates glucocorticoid-induced osteonecrosis of femoral head (ONFH) in rats[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(23):13973-13983.
- [48] 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.
- [49] 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.
- [50] FANG S, HE T, JIANG J, et al. Osteogenic effect of tsRNA-10277-loaded exosome derived from bone mesenchymal stem cells on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14:4579-4591.
- [51] 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.
- [52] 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.
- [53] KUANG M J, ZHANG K H, QIU J, et al. Exosomal miR-365a-5p derived from HUC-MSCs regulates osteogenesis in GIONFH through the Hippo signaling pathway[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 23:565-576.
- [54] 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.
- [55] 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.
- [56] HERBERTS C A, KWA M S, HERMSEN H P. Risk factors in the development of stem cell therapy[J]. *J Transl Med*, 2011, 9:29.
- [57] RATAJCZAK M Z, JADCZYK T, PEDZIWIATR D, et al. New advances in stem cell research: practical implications for regenerative medicine[J]. *Pol Arch Med Wewn*, 2014, 124:417-426.
- [58] BURKE J, KOLHE R, HUNTER M, et al. Stem cell-derived exosomes: a potential alternative therapeutic agent in orthopaedics[J]. *Stem Cells Int*, 2016:5802529.
- [59] ADAMIAK M, CHENG G, BOBIS-WOZOWICZ S, et al. Induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived extracellular vesicles are safer and more effective for cardiac repair than iPSCs[J]. *Circ Res*, 2018, 122(2):296-309.
- [60] ZHANG S, LIU X, GE L L, et al. Mesenchymal stromal cell-derived exosomes improve pulmonary hypertension through inhibition of pulmonary vascular remodeling[J]. *Respir Res*, 2020, 21(1):71.
- [61] QING L, CHEN H, TANG J, et al. Exosomes and their microRNA cargo: new players in peripheral nerve regeneration[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2018, 32(9):765-776.

(收稿日期:2021-12-09)