

外泌体微小 RNA 调控骨质疏松骨代谢过程作用的研究进展

丁豪¹ 综述 卜宪敏² 吴彬³ 审校

(¹曹县人民医院骨科,曹县 274400;²济宁市第一人民医院病理科,济宁 272011;³济宁医学院附属医院骨科,济宁 272029)

摘要 骨质疏松症(OP)是常见的骨代谢疾病,由多种因素作用所致。随着研究的不断深入,外泌体微小 RNA(miRNA)在 OP 骨代谢过程中发挥调控作用的分子机制被不断发掘,外泌体 miRNA 通过影响骨髓间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞的生物学活性,并参与骨代谢、血管生成过程及骨免疫过程来调控 OP 骨代谢,且在 OP 的诊疗过程中具备极其重要的应用价值。本文就外泌体 miRNA 参与调控 OP 骨代谢进程中作用的研究进展做综述,为 OP 的治疗提供新的研究思路。

关键词 骨质疏松骨代谢;外泌体微小 RNA;骨髓间充质干细胞;成骨细胞;破骨细胞;血管生成

中图分类号:R602 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2024)10-431-04

Research progress on the role of exosomal microRNAs in regulating bone metabolism in osteoporosis

DING Hao¹, BU Xianmin², WU Bin³

(¹Department of Orthopedics, Caoxian People's Hospital, Caoxian 274400, China;²Pathology Department of Jining First People's Hospital, Jining 272011, China;³Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China)

Abstract: Osteoporosis (OP) is a common bone metabolism disease, which is caused by a variety of factors. With the deepening of research, the molecular mechanism of exosomal microRNAs (miRNAs) in OP bone metabolism has been continuously explored, and exosomal miRNAs regulate OP bone metabolism by affecting the biological activities of bone marrow mesenchymal stem cells, osteoblasts and osteoclasts, as well as by participating in the processes of bone metabolism, angiogenesis, and bone immunity, and have an extremely important application value in the diagnostic and therapeutic processes of OP. Therefore, this paper summarizes the research progress on the role of exosomal miRNAs in the regulation of OP bone metabolism, in an attempt to provide new research approaches for the treatment of OP.

Keywords: Osteoporosis bone metabolism; Exosomal microRNA; Bone marrow mesenchymal stem cells; Osteoblasts; Osteoclasts; Angiogenesis

机体骨代谢是一种复杂的生物学过程,主要包括成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞介导的骨吸收。在生理状态下两过程始终处于动态平衡,以维持骨代谢稳态^[1]。骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以骨量减少和骨组织微结构破坏为特征的进行性骨代谢疾病,临床上会导致骨折风险增加^[2]。近年来,外泌体微小 RNA(miRNA)参与 OP 骨

代谢成为许多研究者关注的重点。外泌体 miRNA 与 OP 的发生发展密切相关。本文从外泌体 miRNA 在调控 OP 骨代谢微环境的细胞活性及功能、血管生成和骨免疫方面进行综述。

1 外泌体 miRNA

外泌体是细胞衍生的直径为 30~120nm 的脂质双分子层囊泡,呈球状或杯型,广泛分布于生物的体液之中,其内富含多种生物活性分子,包括蛋白质、脂质、代谢物、mRNA、miRNA 和其他非编码 RNA。外泌体参与并维持机体的多种生理活动,如维持干细胞活性、组织修复、器官发育与血管生成等^[3]。外泌体调控骨代谢受多种因素影响,其不仅

[基金项目] 济宁医学院高层次科研项目培育计划(JYGC2021FKJ016); 济宁市重点研发计划项目(2021YXNS029, 2022YXNS129); 济宁医学院附属医院“主诊医师团队专项临床研究计划”项目(ZZTDMS-2023-04)

[通信作者] 吴彬, E-mail: wb0902@163.com

可以介导骨髓微环境内的细胞间信息传递,也参与多种骨骼疾病的发生发展。近年来,miRNA 愈发受到学者们的关注,miRNAs 是长度为 19~25 个核苷酸的单链非编码 RNA,miRNAs 可通过调控信使 RNA(mRNA)的翻译过程并加速 mRNA 降解来影响基因的表达。miRNAs 作为外泌体内容物之一,二者相辅相成,在基因层面与细胞间的信息传递层面对 OP 骨代谢微环境发挥着精确且高效的调控作用。

2 外泌体 miRNA 在 OP 骨代谢过程的调控作用

骨代谢微环境稳态受多种因素共同调控。OP 是临床上常见的骨代谢疾病,且易继发骨折,给当今医学和社会的发展带来严峻挑战,长期以来,虽然抗 OP 药物已经相继应用于临床,但对于严重 OP 患者的治疗效果仍不理想^[4]。外泌体是目前医学领域的研究热点之一,其介导的细胞间信息交流对骨骼系统至关重要。miRNAs 作为外泌体的主要内容物之一,在骨代谢过程中展现出关键潜能。已有报道,细胞内环境介导外泌体 miRNAs 的表达作用于靶细胞调控骨代谢过程,外泌体 miRNA-31a-5p 增强破骨细胞功能来加速骨吸收过程造成骨量流失,外泌体 miRNA-375 有效促进骨髓间充质干细胞的成骨过程,外泌体 miRNA-140-5p 加速软骨细胞的增殖和迁移^[5-7]。未来,外泌体 miRNA 将有望在 OP 诊疗领域成为一种有效的治疗策略。

2.1 外泌体 miRNA 调控 OP 骨代谢过程

2.1.1 外泌体 miRNA 调控骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 功能 BMSCs 具有多向分化潜能,能够分化成为成骨细胞、成脂细胞、成肌细胞和成软骨细胞,在 OP 骨代谢过程中发挥重要作用。BMSCs 的分化受多种信号通路及分子蛋白的调控,如成骨分化方向由 Wnt(wingless-related integration site)/ β -catenin 信号通路、骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic proteins, BMPs) 信号通路、PI3K/Akt/mTOR 信号通路、Hh(hedgehog) 信号通路、Runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2) 和 Osx(Osterix) 等调控^[8];成脂分化方向受过氧化酶体增殖活化受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR γ) 和 C/EBPs (CCAAT/enhancer-binding family of proteins) 等影响^[9]。外泌体 miRNA 可通过 Wnt/ β -catenin 信号通路、TGF- β /BMP 信号通路促进骨代谢过程中 BMSCs 成骨分化^[10],miR-27a 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进人 BMSCs 成骨分化^[11]。miRNA-22-3p 过表达后靶向作用于 α -酮戊二酸依赖性的双加氧酶 (FTO),可抑制 MYC/PI3K/AKT 通路的表达,从而促使 BMSCs 向成骨方向分化^[12]。外泌体 miRNA 可通过靶向作用于多种分子信号通路调控 BMSCs 的功能来作用于 OP 骨代谢过程。

2.1.2 外泌体 miRNA 调控骨形成过程 骨形成过程是骨代谢平衡中对抗骨量流失的关键,该过程主要包括 BMSCs 向成骨细胞的分化、成骨细胞的增殖及骨基质的矿化,并受多种因素的共同影响。在骨代谢微环境中,外泌体 miRNA

通过刺激成骨细胞的增殖、分化过程来调控骨代谢的骨形成过程。BMSCs-EXO 可调控丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路刺激成骨细胞增殖,使骨代谢平衡向骨形成方向倾斜,促进机体成骨^[13]。另有实验揭示出大鼠的 BMSCs-EXO miRNA-128-3p 可靶向作用于 Smad5 蛋白来加速骨代谢的成骨过程^[14]。此外,BMSCs 衍生的外泌体 miRNA-21-8p 靶向与 KLF3 3'-UTR 区结合促进成骨细胞分化来延缓 OP 的发生发展^[15]。如上所述,成骨细胞是骨形成过程的关键,外泌体 miRNA 可通过与多种分子蛋白相互作用刺激成骨细胞参与骨形成过程,促进骨代谢的成骨过程,进一步延缓 OP 进展。

2.1.3 外泌体 miRNA 调控骨吸收过程 在骨代谢稳态中,骨吸收增加则会导致骨量过多流失,进一步造成骨质疏松症的发生。骨吸收过程主要是由破骨细胞介导的骨组织的分解过程,与骨形成过程共同维持骨代谢平衡稳态。外泌体 miRNA 可以协调多个信号通路来调控破骨细胞分化。miRNA-27a 可通过 Sqstm1/p62 信号通路靶向调节破骨细胞活性^[16]。随着研究的不断深入,源于破骨细胞的外泌体 (EXOs derived from osteoclasts, OC-EXOs) 在骨代谢过程中的作用被不断发掘。OC-EXOs 可通过破骨细胞与成骨细胞间的信息传递来调节骨代谢过程。有学者通过去势法构建骨质疏松模型,并在该实验中并发现其 OC-EXOs 中的 miR-214-3p 表达显著升高,在特异性抑制 miR-214-3p 的表达后发现机体骨生成增加^[17]。此外,肿瘤细胞相关的外泌体 miRNA 能调控破骨细胞活性在骨代谢过程中发挥作用,例如,乳腺癌细胞来源的外泌体可通过 miRNA-20a-5p 促进破骨细胞的增殖和分化^[18];前列腺癌细胞衍生的外泌体中的 miRNA-26a-5p、miRNA-27a-3p 和 miRNA-30e-5p 抑制成骨细胞活性,并激活破骨细胞介导的骨吸收过程^[19]。破骨细胞在上述过程中占据重要地位,其衍生的外泌体 miRNA 也是骨吸收作用的关键,并且由肿瘤疾病造成的骨质流失增加及病理性骨折亦与外泌体 miRNA 息息相关。

2.2 外泌体 miRNA 调控 OP 骨代谢血管形成

骨组织是高度血管化的组织,骨代谢过程与血管形成密切相关。外泌体 miRNA 可介导多种细胞刺激血管生成来增强血液灌注,进一步刺激 OP 骨代谢的成骨过程。外泌体 miRNAs 参与骨代谢的血管生成过程受到多种细胞及生物因子的调控。内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 是血管内皮细胞前体细胞,可经血液循环归巢到损伤区域并参与血管的修复,也可分泌外泌体 miRNA,刺激骨代谢的血管生成来加速骨组织再生,对骨骼、肌肉及神经等多种组织的血管生成及损伤修复有重要意义。EPC-Exos miRNA-126 可刺激内皮细胞的增殖、迁移和血管生成,并激活 Raf/ERK 信号共同参与骨生成过程^[20]。外泌体 miRNA-1260a 可抑制 HDAC7 和 COL4A2 表达来增强成骨过程并促进血管生成^[21]。血管生成和骨形成紧密耦合,外泌体 miRNA 在其过程中具有重要价值,间充质干细胞来源的外

泌体 miRNA-17-92 过表达会加速 HUVECs 的增殖、迁移及血管生成等过程影响骨代谢^[22]。基于此,外泌体 miRNA 通过调控血管生成过程来加速骨代谢的骨形成过程将会是治疗 OP 的新策略。

2.3 外泌体 miRNA 参与 OP 骨代谢相关骨免疫学

免疫细胞及免疫因子通过骨代谢的核因子(NF)- κ B 受体活化因子配体(RANKL)/NF- κ B 受体激活蛋白(RANK)/骨保护素(OPG)途径,调控骨代谢过程中的成骨细胞及破骨细胞^[23]。外泌体 miRNA 可与免疫细胞及免疫因子相互作用,影响 OP 骨代谢过程。B 淋巴细胞通过与促红细胞生成素(EPO)相结合来调控破骨细胞的活性参与并调节骨代谢微环境的稳态^[24]。外泌体 miRNA 也可影响 B 淋巴细胞的活性。miRNA-146a 可调控 B 淋巴细胞的增殖、活化、凋亡等过程^[25]。在 OP 骨代谢过程中,T 淋巴细胞通过分泌炎症因子或通过刺激免疫细胞产生炎症因子,激活 RANK 信号通路调控成骨细胞、破骨细胞活性在骨代谢稳态中发挥作用。肿瘤坏死因子(TNF- α)作为 T 淋巴细胞的细胞因子之一,其抑制成骨细胞系的活性并刺激破骨细胞的形成^[26]。另外,miRNA-183、miRNA-335-5p 通过调控 TNF- α 的表达,减少 RANKL 诱导的破骨细胞生成,从而减少成骨细胞凋亡,促进骨形成过程^[27-28]。miRNA-143-3p、miRNA-21 通过减少骨微环境中巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的水平,抑制破骨细胞分化,从而减少骨量丢失^[29-30]。

3 展望与小结

骨代谢是由多种细胞、生物因子及其他物质参与的动态过程,其稳态的失衡会造成 OP 的发生。当前,随人口老龄化去势的上升,OP 发生率也不断攀升,并逐步成为全球性的公共卫生问题。外泌体 miRNA 不仅具有干细胞移植高效治疗能力,且避免了细胞移植带来的弊端,为 OP 骨代谢疾病的诊疗开创了新的途径。

综上所述,骨微环境中的细胞能够以外泌体为信息载体,并通过其内容物 miRNA 对下游信号通路的靶向调控来实现骨微环境中细胞间的信号传导。此外,外泌体 miRNA 通过调控骨相关细胞的活性、血管生成等及骨免疫方面来影响骨代谢。基于此,外泌体 miRNA 有望作为一种潜在有效的诊疗方式,在 OP 的早期预防、诊断及治疗方面具备不可替代的应用价值。然而,目前外泌体 miRNA 进行细胞间信息传递的具体机制仍不完全清楚,也有待进一步研究加以阐明。总之,外泌体 miRNA 作为重要的分子物质在延缓 OP 骨代谢进程中具有良好的应用前景。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

[1] Zhang L,Zheng YL,Wang R, et al. Exercise for osteoporosis;a literature review of pathology and mechanism[J]. Front Immunol, 2022,13:1005665. DOI:10.3389/fimmu.2022.1005665.

[2] Wang K,Zhao X,Yang S, et al. New insights into dairy management and the prevention and treatment of osteoporosis: the shift from single nutrient to dairy matrix effects-A review[J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2024, 23(4): e13374. DOI: 10.1111/1541-4337.13374.

[3] Xie X,Xiong Y,Panayi AC, et al. Exosomes as a novel approach to reverse osteoporosis:a review of the literature[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2020, 8:594247. DOI:10.3389/fbioe.2020.594247.

[4] Li QC, 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. DOI:10.2174/1381612828666220128104206.

[5] Xu R,Shen X,Si Y, et al. MicroRNA-31a-5p from aging BMSCs links bone formation and resorption in the aged bone marrow microenvironment[J]. Aging Cell, 2018, 17(4): e12794. DOI: 10.1111/ace1.12794.

[6] Chen S, Tang Y, Liu Y, et al. Exosomes derived from miR-375-overexpressing human adipose mesenchymal stem cells promote bone regeneration[J]. Cell Prolif, 2019, 52(5): e12669. DOI: 10.1111/cpr.12669.

[7] Tao SC, Yuan T, Zhang YL, 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. DOI:10.7150/thno.17133.

[8] Pang X,Zhong Z,Jiang F, et al. Juglans regia L. extract promotes osteogenesis of human bone marrow mesenchymal stem cells through BMP2/Smad/Runx2 and Wnt/ β -catenin pathways[J]. J Orthop Surg Res, 2022, 17(1): 88. DOI: 10.1186/s13018-022-02949-1.

[9] Liu C, Xiong Q, Li Q, et al. CHD7 regulates bone-fat balance by suppressing PPAR- γ signaling[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1989. DOI: 10.1038/s41467-022-29633-6.

[10] Mazziotta C, Lanzillotti C, Jaquinta MR, et al. MicroRNAs modulate signaling pathways in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5). DOI:10.3390/ijms22052362.

[11] Tang J, Yu H, Wang Y, et al. miR-27a promotes osteogenic differentiation in glucocorticoid-treated human bone marrow mesenchymal stem cells by targeting PI3K[J]. J Mol Histol, 2021, 52(2): 279-288. DOI: 10.1007/s10735-020-09947-9.

[12] Zhang X, Wang Y, Zhao H, et al. Extracellular vesicle-encapsulated miR-22-3p from bone marrow mesenchymal stem cell promotes osteogenic differentiation via FTO inhibition[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 227. DOI:10.1186/s13287-020-01707-6.

[13] Zhao P, Xiao L, Peng J, et al. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells improve osteoporosis through promoting osteoblast proliferation via MAPK pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(12): 3962-3970. DOI: 10.26355/eurrev_201806_15280.

[14] Xu T, Luo Y, Wang J, et al. Exosomal miRNA-128-3p from mesenchymal stem cells of aged rats regulates osteogenesis and bone

- fracture healing by targeting Smad5 [J]. *J Nanobiotechnology*, 2020, 18(1): 47. DOI: 10. 1186/s12951-020-00601-w.
- [15] You M, Ai Z, Zeng J, et al. Bone mesenchymal stem cells (BM-SCs)-derived exosomal microRNA-21-5p regulates Kruppel-like factor 3 (KLF3) to promote osteoblast proliferation in vitro [J]. *Bioengineered*, 2022, 13 (5): 11933-11944. DOI: 10. 1080/21655979. 2022. 2067286.
- [16] Wang S, Maruyama EO, Martinez J, et al. miRNA-27a is essential for bone remodeling by modulating p62-mediated osteoclast signaling [J]. *Elife*, 2023, 12. DOI: 10. 7554/eLife. 79768.
- [17] Li D, Liu J, Guo B, et al. Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10872. DOI: 10. 1038/ncomms10872.
- [18] Guo L, Zhu Y, Li L, et al. Breast cancer cell-derived exosomal miR-20a-5p promotes the proliferation and differentiation of osteoclasts by targeting SRCIN1 [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(12): 5687-5701. DOI: 10. 1002/cam4. 2454.
- [19] Furesi G, de Jesus Domingues AM, Alexopoulou D, et al. Exosomal miRNAs from prostate cancer impair osteoblast function in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3). DOI: 10. 3390/ijms23031285.
- [20] Jia Y, Zhu Y, Qiu S, et al. Exosomes secreted by endothelial progenitor cells accelerate bone regeneration during distraction osteogenesis by stimulating angiogenesis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 12. DOI: 10. 1186/s13287-018-1115-7.
- [21] Wu D, Chang X, Tian J, et al. Bone mesenchymal stem cells stimulation by magnetic nanoparticles and a static magnetic field: release of exosomal miR-1260a improves osteogenesis and angiogenesis [J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 209.
- [22] Nie W, Huang X, Zhao L, et al. Exosomal miR-17-92 derived from human mesenchymal stem cells promotes wound healing by enhancing angiogenesis and inhibiting endothelial cell ferroptosis [J]. *Tissue Cell*, 2023, 83: 102124. DOI: 10. 1016/j. tice. 2023. 102124.
- [23] 张慎启, 石磊, 李文金, 等. 骨质疏松相关骨免疫学进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(13): 2907-2912. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2021. 13. 062.
- [24] Deshet-unger N, Kolomansky A, Ben-califa N, et al. Erythropoietin receptor in B cells plays a role in bone remodeling in mice [J]. *Theranostics*, 2020, 10(19): 8744-56.
- [25] 吕安坤, 史红霞, 孙红艳. 过表达或沉默微小 RNA-146a 对人 CD19⁺B 淋巴细胞增殖、凋亡的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(6): 824-828. DOI: 10. 13699/j. cnki. 1001-6821. 2023. 06. 014.
- [26] Lechner J, Rudi T, von Baehr V. Osteoimmunology of tumor necrosis factor-alpha, IL-6, and RANTES/CCL5: a review of known and poorly understood inflammatory patterns in osteonecrosis [J]. *Clin Cosmet Investig Dent*, 2018, 10: 251-262. DOI: 10. 2147/CCIDE. S184498.
- [27] Tao Z, Zhou Y, Zeng B, et al. MicroRNA-183 attenuates osteoarthritic pain by inhibiting the TGF α -mediated CCL2/CCR2 signaling axis [J]. *Bone Joint Res*, 2021, 10(8): 548-557. DOI: 10. 1302/2046-3758. 108. BJR-2019-0308. R2.
- [28] Lian J, Wu X, Liu Y, et al. Potential roles of miR-335-5p on pathogenesis of experimental periodontitis [J]. *J Periodontal Res*, 2020, 55(2): 191-198. DOI: 10. 1111/jre. 12701.
- [29] Jiang B, Yuan C, Han J, et al. miR-143-3p inhibits the differentiation of osteoclast induced by synovial fibroblast and monocyte coculture in adjuvant-induced arthritic rats [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 5565973. DOI: 10. 1155/2021/5565973.
- [30] Li HW, Zeng HS. Regulation of JAK/STAT signal pathway by miR-21 in the pathogenesis of juvenile idiopathic arthritis [J]. *World J Pediatr*, 2020, 16(5): 502-513. DOI: 10. 1007/s12519-019-00268-w.

(收稿日期 2023-04-09)

(本文编辑: 石俊强)