

间充质干细胞移植治疗骨质疏松症的机制

https://doi.org/10.12307/2022.391

唐志宏, 段浩, 钟宗雨, 王伟舟, 陈永成, 李晓壮, 王旻昊, 刘追, 何飞

投稿日期: 2021-03-08

采用日期: 2021-04-28

修回日期: 2021-08-04

在线日期: 2021-08-21

中图分类号:

R459.9; R318; R861

文章编号:

2095-4344(2022)19-03090-05

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章特点—

△总结了不同来源间充质干细胞对骨质疏松症的治疗作用及具体机制, 为骨质疏松症的治疗提供新的思路和方法。

治疗骨质疏松症 的种子细胞选择

- (1) 骨髓间充质干细胞;
- (2) 脂肪间充质干细胞;
- (3) 脐带间充质干细胞。

间充质干细胞移植 治疗骨质疏松 的可能机制

- (1) 间充质干细胞的归巢;
- (2) 直接成骨分化作用;
- (3) 调节破骨细胞功能;
- (4) 调节骨内血管生成;
- (5) 间充质干细胞的旁分泌作用。

文题释义:

骨质疏松症: 是一种老年性退行性疾病, 其特点主要表现在2个方面: 骨量减少和骨微结构不完整, 一般可分为原发性骨质疏松、继发性骨质疏松, 常导致椎体、股骨颈及手腕部骨折, 严重影响患者生活质量。

间充质干细胞来源外泌体: 是由间充质干细胞分泌的大小50~100 nm的微小囊泡, 包含多种蛋白质、DNA以及微小RNA。大量研究结果表明, 间充质干细胞的治疗作用主要是通过其外泌体来实现的。

摘要

背景: 对于骨质疏松症, 细胞疗法是当前研究的热点, 如何选择种子细胞, 并了解其治疗机制有助于促进间充质干细胞的临床应用。

目的: 总结近10年来间充质干细胞治疗骨质疏松症的研究进展。

方法: 检索CNKI、万方数据库和PubMed数据库, 以“骨质疏松症, 间充质干细胞”为中文关键词, 以“osteoporosis, mesenchymal stem cells”为英文关键词, 限定文献资料时间为2010年1月至2021年1月, 初检得到158篇相关文献, 经过阅读分析后, 选取63篇文献进行总结。

结果与结论: 不同来源间充质干细胞均能对不同类型的骨质疏松症产生治疗效果, 但其治疗效果受到归巢效率的影响, 同时其治疗机制涉及成骨、成血管等多个方面, 这使得其在骨质疏松症治疗中具有巨大的优势, 但致畸致瘤等不良作用以及涉及到的相关伦理问题仍是阻碍其应用于临床的主要因素。

关键词: 干细胞; 间充质干细胞; 骨质疏松症; 外泌体; 归巢; 综述

Mechanism of mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of osteoporosis

Tang Zhihong, Duan Hao, Zhong Zongyu, Wang Weizhou, Chen Yongcheng, Li Xiaozhuang, Wang Yanghao, Liu Zhui, He Fei

First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Tang Zhihong, Master candidate, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Corresponding author: He Fei, MD, Chief physician, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Abstract

BACKGROUND: For the treatment of osteopenia, cell therapy is a hot spot in current research. How to select seed cells and understand its treatment mechanism will help promote the clinical application of mesenchymal stem cells.

OBJECTIVE: To summarize the research progress of mesenchymal stem cells in the treatment of osteoporosis in recent 10 years.

METHODS: With “osteoporosis, mesenchymal stem cells” as Chinese and English keywords, CNKI, Wanfang database and PubMed database were searched respectively. The search time was set from January 2010 to January 2021, and 158 related articles were initially found. After reading and analyzing, 63 articles were selected for summary.

RESULTS AND CONCLUSION: Mesenchymal stem cells from different sources can produce therapeutic effects on different types of osteoporosis. However, its therapeutic effect is affected by homing efficiency, and its therapeutic mechanism involves many aspects, such as osteogenesis and angiogenesis. This makes mesenchymal stem cells have great advantages over traditional drugs in the treatment of osteoporosis. However, the adverse effects of teratogenicity and tumorigenesis and the ethical issues involved are still the main factors hindering its clinical application.

Key words: stem cells; mesenchymal stem cells; osteoporosis; exosomes; homing; review

Funding: Major Science and Technology Project of Yunnan Province (Biomedicine), No. 2019ZF002 (to HF); Yunling Industrial Technology Leading Talent Project (to HF); Kunming Young and Middle-Aged Academic and Technical Leaders Project (to HF); Yunnan Provincial Bone and Joint Disease Clinical Medicine Center Project, No. ZX2019-03-04 (to HF)

昆明医科大学第一附属医院, 云南省昆明市 650032

第一作者: 唐志宏, 男, 1993年生, 四川省广安市人, 昆明医科大学在读硕士, 主要从事干细胞与骨组织工程研究。

通讯作者: 何飞, 博士, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院, 云南省昆明市 650032

https://orcid.org/0000-0003-3757-0683 (唐志宏)

基金资助: 云南省重大科技专项(生物医药)(2019ZF002), 项目负责人: 何飞; 云岭产业技术领军人才项目, 项目负责人: 何飞; 昆明市中青年学术技术带头人项目, 项目负责人: 何飞; 云南省骨关节疾病临床医学中心项目(ZX2019-03-04), 项目负责人: 何飞

引用本文: 唐志宏, 段浩, 钟宗雨, 王伟舟, 陈永成, 李晓壮, 王旻昊, 刘追, 何飞. 间充质干细胞移植治疗骨质疏松症的机制[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(19):3090-3094



How to cite this article: TANG ZH, DUAN H, ZHONG ZY, WANG WZ, CHEN YC, LI XZ, WANG YH, LIU Z, HE F. Mechanism of mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of osteoporosis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2022;26(19):3090-3094.

0 引言 Introduction

骨质疏松症在医学中定义为一种全身性、退行性疾病，症状多表现为全身骨量减少，同时还会引起骨微观结构的破坏，因此常常引起腰椎、股骨颈等部位的骨折^[1]。骨质疏松症的出现严重阻碍了老年人生活水平的提高，对于家庭和社会来说也造成了巨大的负担。有关统计数据显示，有20%的骨质疏松症患者死于骨质疏松症引发的骨折，并且由于各种并发症的影响导致半数患者残疾。预计在2035年，中国用于治疗骨质疏松症及其并发症的费用将会达到1320亿元^[2]。

研究表明，骨质疏松症的发生是由于遗传因素或环境因素导致的体内激素平衡失调、局部氧化炎症，影响了破骨和成骨的动态平衡，使骨量减少以及骨微结构破坏^[3]，同时还伴随着骨髓间充质干细胞成骨分化活性降低和骨内血管生成减少^[4]。就目前治疗状况而言，临床通常使用骨吸收抑制剂和骨形成促进剂（如甲状旁腺素类似物）来进行骨质疏松症的缓解及改善，这些药物在骨质疏松症的防治方面虽然有着较好的疗效，但药物不良反应在一定程度上限制了这些药物的临床应用^[5]。因此，寻找骨质疏松症新的治疗方法成为当前的研究热点之一。

在科技不断进步、医疗手段不断升级的背景下，以间充质干细胞为主的细胞疗法被应用于治疗各类临床难治性疾病^[6]，成为当前研究的热点之一。同时，在老年退行性的骨与关节病变研究中，间充质干细胞也展示出良好的骨与软骨修复能力，为骨与关节疾病的治疗提供了新的方法和思路^[7-8]。在骨质疏松症研究中，间充质干细胞同样展示了巨大的治疗潜力^[9]。当前间充质干细胞对于骨与关节退行性病变的研究多停留在动物实验阶段，仅有少数临床研究，这在一定程度上阻碍了间充质干细胞的临床应用。因此，文章总结了近10年来间充质干细胞在骨质疏松症治疗中的研究进展，旨在为其临床应用提供理论依据。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 选择CNKI、万方和PubMed数据库，以“骨质疏松症，间充质干细胞”及“osteoporosis, mesenchymal stem cells”为中英文关键词进行检索，限定文献资料发表时间为2010年1月至2021年1月。

1.2 入选标准

1.2.1 纳入标准 ①文章的题目和摘要应与主题词相关；②文章的内容与间充质干细胞、骨质疏松症关系紧密；③实验研究数据真实可靠，能证明间充质干细胞与骨质疏松症存在密切联系。

1.2.2 排除标准 ①文章内容与主题词关联性不强的文章；②重复或观点陈旧的文章；③质量差、实验证据不足的文章；④资料无法提取的文章。

1.2.3 质量评估 通过阅读文献的标题和摘要初步筛选，排除不相关的文章，得到133篇文献，然后阅读文章的内容及结论，排除重复性实验及实验结果证据不足的文章，最终纳入63篇文章进行综述，见图1。

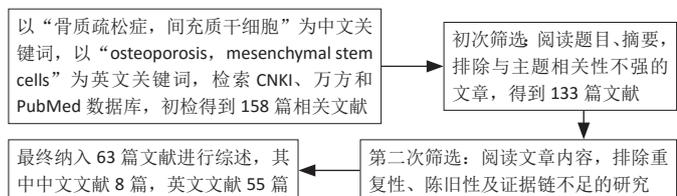


图1 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 治疗骨质疏松症的种子细胞选择 目前用于骨质疏松症治疗的间充质干细胞来源丰富，相对于传统的治疗药物而言，不论是原发性还是继发性骨质疏松症，间充质干细胞移植都具有更好的治疗效果，但目前间充质干细胞治疗骨质疏松症的研究仍处于基础阶段，随着研究日益增多，相信在未来间充质干细胞移植能非常好地应用于临床治疗骨质疏松症。

| | |
|-----------|-----------|
| ○骨髓间充质干细胞 | ○脐带间充质干细胞 |
| ○脂肪间充质干细胞 | |

2.1.1 骨髓间充质干细胞 骨髓间充质干细胞主要存在于长骨骨髓中，在健康人群体内，骨髓中骨髓间充质干细胞占0.01%~0.001%^[10]，随着年龄的增加，人体内的骨髓间充质干细胞含量降低，并且成骨成脂分化失衡，使得骨髓脂肪化，这是导致发生骨质疏松症的其中一个因素^[11-12]。骨髓间充质干细胞移植被认为是治疗骨质疏松症的一种新方法，同时多项研究也表明同种异体和自体来源骨髓间充质干细胞均具有治疗骨质疏松症的潜力^[13]。

在原发性骨质疏松症的治疗研究中，李云龙等^[14]将骨髓间充质干细胞和抗骨质疏松药物雷洛昔芬分别用于大鼠骨质疏松动物模型，结果发现骨髓间充质干细胞干预组大鼠股骨骨密度及各项力学性能明显高于雷洛昔芬组，表明了骨髓间充质干细胞对骨质疏松症的治疗作用优于传统骨质疏松药物；OCARINO等^[15]将健康大鼠同种异体骨髓间充质干细胞髓内注射到骨质疏松大鼠股骨中，结果发现大鼠股骨的小梁骨百分比与对照健康大鼠的股骨几乎相似；同时，健康大鼠骨髓间充质干细胞比骨质疏松大鼠骨髓间充质干细胞的成骨作用更强。在与年龄相关的骨质疏松症的治疗研究中，骨髓间充质干细胞同样具有较好的治疗效果。ICHIOKA等^[16]构建了加速衰老型小鼠(SAMP6)骨质疏松模型，通过局部注射同种异体小鼠骨髓间充质干细胞，发现成骨细胞生成和破骨细胞生成随年龄的增加而被抑制，同时脂肪生成增强，证明了同种异体骨髓间充质干细胞局部给药可增加骨小梁数量并抑制骨密度的下降；KIERNAN等^[17]也利用年龄相关性Sca-1骨质疏松小鼠模型证明了静脉给予同种异体骨髓间充质干细胞可以改善骨形成并维持骨微结构。SUI等^[18]通过腹腔注射糖皮质激素构建继发性骨质疏松小鼠模型，并将骨髓间充质干细胞经尾静脉移植到小鼠体内，结果显示骨质量和强度得到了提高，这意味着骨髓间充质干细胞在继发性骨质疏松的治疗中也起到了比较明显的效果。

此外，非鼠动物模型也被用于研究骨髓间充质干细胞移植治疗骨质疏松症的研究中。将自体骨髓间充质干细胞移植到双侧卵巢切除诱导的兔骨质疏松模型中，显示出更多的骨附着、更高的骨强度，同时也增加了骨小梁厚度和新形成的骨微结构。将骨髓间充质干细胞注射到绝经后骨质疏松山羊体内，也获得了类似的效果^[19]。

2.1.2 脂肪间充质干细胞 脂肪间充质干细胞大量存在于人体脂肪组织中，在2001年由ZUK等^[20]首次分离并鉴定，相对于骨髓间充质干细胞而言，除了具有良好的分化能力以外，它们还具备分离容易、在体内含量更加丰富等优点^[21]。这些特点使得脂肪间充质干细胞在临床学科中被广泛研究，也使得其成为治疗骨质疏松症的种子细胞之一。

脂肪间充质干细胞目前主要集中于激素相关性骨质疏松症的治疗研究中,张伟等^[22]构建了卵巢切除大鼠骨质疏松模型,并通过尾静脉注射移植脂肪间充质干细胞,结果发现细胞治疗后大鼠股骨骨小梁明显增多,碱性磷酸酶活性增高,这提示脂肪间充质干细胞治疗骨质疏松可能是通过增加成骨来实现的。SHEU等^[23]通过尾静脉将脂肪间充质干细胞和富含血小板的纤维蛋白释放物注入卵巢切除小鼠体内,结果发现骨密度、骨体积分数和骨小梁数量在胫骨近端区域显著高于卵巢切除组。URI等^[24]采用局部注射的方法将脂肪间充质干细胞移植到卵巢切除大鼠的股骨干骺端,结果发现脂肪间充质干细胞可促进骨再生、增加骨密度。YE等^[25]分离了卵巢切除术后的兔脂肪间充质干细胞,并将其用于治疗卵巢切除兔骨质疏松模型,结果发现脂肪间充质干细胞治疗后卵巢切除兔骨密度显著增加。

还有少数研究指出了脂肪间充质干细胞可用于年龄相关性骨质疏松的治疗,LIU等^[26]分离了年轻和衰老雌性SAMP8小鼠的脂肪间充质干细胞,并将其用于治疗去卵巢快速老化SAMP8小鼠骨质疏松模型,结果发现年轻SAMP8小鼠脂肪间充质干细胞活性高于衰老小鼠脂肪间充质干细胞,接受年轻脂肪间充质干细胞治疗的小鼠骨密度明显高于接受老年脂肪间充质干细胞治疗的小鼠(平均24.3%的骨密度改善),其结果表明衰老通过减少成骨信号阻碍了脂肪间充质干细胞改善骨质疏松的能力。此外,ZHENG等^[27]发现脂肪间充质干细胞移植后保留了原有的抗炎能力,并且能改变骨质疏松动物模型的骨骼微环境,同时还能影响骨重建平衡。

2.1.3 脐带间充质干细胞 脐带间充质干细胞主要是存于新生儿的脐带组织中,其活性与年龄无关,且相较骨髓间充质干细胞而言,其含量、分化能力等方面均存在明显的优势:例如极易进行取材、不会产生伦理方面的问题。脐带间充质干细胞也被相关研究学者当作是治疗骨质疏松症的种子细胞^[28]。

目前针对脐带间充质干细胞治疗骨质疏松症的研究尚不多见,AN等^[29]构建了卵巢切除裸鼠动物模型,通过尾静脉移植脐带间充质干细胞,结果发现小鼠胫骨骨密度显著提高,并且胫骨的Micro-CT显示骨小梁数量和厚度以及骨体积分数显著增加;HENDRIJANTINI等^[30]构建了骨质疏松性下颌骨坏死大鼠模型,通过局部注射方式将脐带间充质干细胞注入下颌骨中,结果发现骨质疏松性下颌骨坏死大鼠骨再生明显增强,并且伴有Runx2等成骨相关蛋白表达与成骨细胞数量增高。虽然脐带间充质干细胞在治疗骨质疏松症方面的优势明显,但这些研究目前尚在基础阶段,尚未见临床报道。

2.2 间充质干细胞移植治疗骨质疏松症的机制 引起骨质疏松症的原因多且复杂,各种原因共同作用使得骨小梁结构被破坏,引起骨质量下降,导致了骨质疏松症的发生。应用间充质干细胞治疗骨质疏松症时,需要定向迁移至骨组织才能发挥其最佳治疗效果。间充质干细胞的多向分化能力及各种细胞调节作用使得间充质干细胞在治疗骨质疏松症过程中可以通过不同机制发挥共同的作用,相对于传统药物只针对增加成骨或抑制破骨的单一效果而言,具有更大优势。

- 间充质干细胞的归巢作用
- 调节骨内血管
- 直接成骨分化作用
- 旁分泌作用
- 调节破骨细胞的功能

2.2.1 间充质干细胞的归巢作用 间充质干细胞的归巢是指循环干细胞或外源性干细胞定位并进入相应损伤部位的能力,其归巢能力对其治疗效果存在巨大的影响^[31]。但间充质干细胞的自

发性归巢效率相当低,这也是间充质干细胞治疗骨质疏松症存在的难题之一。研究间充质干细胞在各种疾病中的治疗效果时,无论是通过静脉注射全身给药还是局部原位给药,间充质干细胞均需经过归巢到达病变部位,才能有效发挥其治疗效果^[32]。

由于间充质干细胞自发性归巢效率低,因此在研究中常通过增强间充质干细胞归巢效率,从而提高其治疗效果。LIU等^[33]将脂肪间充质干细胞经尾静脉注入卵巢切除大鼠体内,同时予以阿司匹林灌胃处理,结果发现经阿司匹林灌胃后,脂肪间充质干细胞向大鼠股骨的归巢数量相对于其对照组明显增多,并且联合应用阿司匹林和脂肪间充质干细胞可以逆转由卵巢切除引起大鼠骨丢失。余翔团队^[34]则在使用骨髓间充质干细胞治疗去势大鼠骨质疏松症模型时,给予龟板水灌胃,结果显示经过龟板水干预后,骨髓间充质干细胞大量聚集于去势大鼠的椎体等处,而且椎体的骨密度、骨结构及力学性能均得到了明显改善。

在间充质干细胞的归巢过程中,SDF-1/CXCR4轴作为最重要的影响因素被广泛研究^[35-36]。虽然基质细胞衍生因子1通过促进间充质干细胞归巢来治疗骨质疏松症的研究少有报道,但YANG等^[37]招募了91例绝经后骨质疏松症女性患者,并将88例绝经后非骨质疏松症女性和90例健康女性作为对照,通过检测骨密度和血浆基质细胞衍生因子1水平得出结论:血浆基质细胞衍生因子1水平与腰椎、髌部等处的骨密度呈反比,这提示体内基质细胞衍生因子1水平与骨质疏松症的严重程度呈正相关。同时,PANG等^[38]通过检测正常患者和骨质疏松症患者的股骨头中基质细胞衍生因子1基因的表达,发现骨质疏松症患者股骨头内基质细胞衍生因子1水平明显增高,而且基质细胞衍生因子1增多也抑制了成骨细胞的增殖。这些研究虽然没有直接证明基质细胞衍生因子1通过促进间充质干细胞归巢来治疗骨质疏松症,但却在间充质干细胞治疗其他骨疾病的研究中得到了证实。梁至洁等^[39]利用基质细胞衍生因子1 α 修饰大鼠脂肪干细胞后发现其增殖、趋化迁移能力得到明显提高;王鑫等^[40]在骨髓间充质干细胞治疗小鼠骨折模型时,通过尾静脉注射基质细胞衍生因子1 α 特异性阻断剂后发现骨髓间充质干细胞在骨折处聚集的数量明显低于对照组,表明了基质细胞衍生因子1 α 在体内也具有促进干细胞归巢的作用;XIANG等^[41]利用基质细胞衍生因子1 α 转染的骨髓间充质干细胞治疗骨关节炎时,发现其具有更好的向受损软组织迁移的能力。这些研究表明基质细胞衍生因子1理论上可通过在骨质疏松症患者骨组织内高表达使间充质干细胞定向归巢于受损的骨组织,从而达到对骨质疏松症的治疗效果,但仍需进一步实验来证实。CXCR4作为基质细胞衍生因子1的特异性受体,其高表达同样可以促进间充质干细胞的归巢,加强间充质干细胞的治疗效果。SANGHANI等^[42]将CXCR4转染的骨髓间充质干细胞通过静脉注射用于卵巢切除大鼠的治疗,结果发现大鼠椎体骨密度和生物力学性能明显提高。这些研究均提示运用间充质干细胞治疗骨质疏松症时,间充质干细胞的归巢在治疗过程中起到决定性作用,可以使得间充质干细胞发挥出更大的治疗效果。

2.2.2 直接成骨分化作用 大量实验证明,人体内的骨髓间充质干细胞受年龄影响,年龄越大,其活性和数量也随之降低,并且其分化方向更加偏向于成脂分化,使得骨重塑过程中成骨与破骨作用发生变化,不再处于平衡状态。WU等^[43]敲除了骨髓间充质干细胞的Met13基因,引起了成骨分化能力减低和骨髓脂肪化增加,导致骨量减少,而骨髓间充质干细胞过表达Met13后,预防了卵巢切除小鼠骨质疏松症的发生,这表明骨髓间充质干细胞可通过成骨分化来保持骨量,预防骨质疏松症的发生。LEE等^[44]将骨髓间充质干细胞植入大鼠颅骨缺损动物模型中,在缺损处观察到新骨形成,同时碱性磷酸酶、RUNX2和骨

钙素表达增高。DEBNATH 等^[45]在骨膜内发现了骨膜干细胞,其存在于小鼠的长骨和颅骨中,可以直接膜内成骨。DE SANTANA SANTOS 等^[46]将骨髓间充质干细胞和成骨细胞联合植入颅骨缺损动物模型中,结果表明联合植入较单独植入骨髓间充质干细胞而言,具有更好的成骨作用和骨修复能力。

2.2.3 调节破骨细胞的功能 破骨细胞是从单核细胞/巨噬细胞系产生的,其主要功能是骨吸收作用。破骨细胞的激活与 RANKL 信号通路相关,其主要调节因子是 NFATc1。RANKL 信号通路激活诱导破骨细胞生成基因表达,造成破骨细胞数量增加引起了骨质的破坏^[47]。体内破骨和成骨作用的相对平衡保证了骨量的平衡,当破骨作用增加,骨生成和骨吸收不再保持原有的平衡状态,导致了骨质疏松症的发生^[48]。ABE 等^[49]将间充质干细胞与破骨前体细胞体外共培养发现,间充质干细胞通过分泌骨保护素抑制破骨前体细胞向破骨细胞分化;WANG 等^[50]敲除小鼠 WNT-1 基因,结果发现小鼠骨髓间充质干细胞的 WNT-1 基因缺失使其成骨分化能力减弱,导致 WNT-1 基因缺失小鼠出现自发性骨折,同时检测到小鼠骨组织内破骨细胞数量增多,这表明骨髓间充质干细胞可以通过 WNT-1 的表达来抑制破骨细胞分化,从而维持骨量的平衡

2.2.4 调节骨内血管 以往人们认为骨质疏松症主要是由骨量减少、骨微结构破坏及局部炎症反应引起,但随着研究的深入,发现骨量也会受到骨内血管的影响。骨组织含有丰富的血管网,在静息时,骨内血液含量可占心输出量的 10%-15%^[51]。骨内的血管网络结构不仅仅起着提供营养和运输代谢废物作用,而且对于骨组织的稳定、发育和修复也必不可少^[52]。

目前关于间充质干细胞直接促进骨内血管修复或生成的文献报道较少,ZHANG 等^[53]研究发现,骨髓间充质干细胞可以通过促进血管生成从而促进成骨,修复大鼠骨不连;JIA 等^[54]构建大鼠胫骨骨缺损模型,局部注射外泌体,结果发现外泌体对于内皮细胞的迁移能力起到了增强的作用,加快了血管生成,这对于骨修复来说十分有利;QI 等^[55]提取人诱导多能干细胞的外泌体,并将其用于治疗大鼠颅骨缺损,结果发现外泌体不但具有促成骨作用,而且还可以通过刺激血管生成来加强其成骨效应,且成骨与成血管作用与外泌体的浓度呈正相关。以上研究虽然没有直接证明间充质干细胞在体内可以通过成血管作用来修复受损的骨组织,但证明了其外泌体可以通过调节血管生成来间接促进成骨,这提示了成血管与外泌体的分泌均可能是治疗骨质疏松的机制之一,但仍需进一步研究来加以证明。

2.2.5 旁分泌作用 间充质干细胞的旁分泌作用主要是通过分泌外泌体来实现。间充质干细胞来源外泌体是由间充质干细胞分泌的大小为 50-100 nm 的微小囊泡,包含多种蛋白质、DNA 以及微小 RNA^[56]。大量研究结果表明,间充质干细胞的治疗作用主要是通过其外泌体来实现的^[57]。

研究表明,骨髓间充质干细胞来源外泌体对于成骨细胞的增殖具有促进作用。ZUO 等^[58]构建了大鼠卵巢切除骨质疏松模型,静脉注射外泌体治疗,结果发现与未治疗组相比,外泌体治疗组大鼠股骨的钙盐沉积明显增多,并且 Runx2 基因表达明显增高。WEILNE 等^[59]利用脂肪间充质干细胞来源外泌体治疗骨质疏松也得到了相似的结果。除此之外,脐血间充质干细胞来源外泌体同样对骨质疏松症具有治疗作用。HU 等^[60]使用脐血间充质干细胞来源外泌体治疗老年性骨质疏松小鼠时发现,治疗组小鼠骨小梁体积分数、厚度、数量和皮质骨厚度增加,同时伴有成骨相关蛋白如碱性磷酸酶、Runx2 等增高,表明外泌体可以通过促进成骨达到治疗骨质疏松的目的。诱导多能干细胞来源外泌体增强了卵巢切除大鼠骨髓间充质干细胞成骨相关蛋白的表达,同时在颅骨缺

损动物模型中也取得了良好的治疗效果^[55]。这些研究都表明不同间充质干细胞来源外泌体对于骨质疏松症都具有良好的治疗效果,并且与其促进成骨相关。

除外泌体的成骨作用以外,其对破骨细胞和血管也具有一定的调节作用,以此达到治疗骨质疏松症的目的。研究表明,外泌体可以通过 RANKL 信号通路及微小 RNA 如 miR-218 和 miR-148a 调节骨重塑过程中的破骨细胞功能,以达到维持骨稳态的目的^[61]。WANG 等^[62]发现外泌体改善了卵巢切除小鼠的微血管体积,增加了 H 型血管的数量、骨矿物质含量和骨密度,这个过程与 miR-214-3p 的下调有关,LU 等^[63]提取了小鼠骨髓间充质干细胞来源外泌体,并将其用于治疗年龄相关性骨质疏松症,结果发现骨髓间充质干细胞来源外泌体治疗组小鼠骨组织出现较多内皮细胞,在骨表面出现大量成骨细胞,这个过程与 miR-29a 的上调有关。由此可见,间充质干细胞分泌的外泌体在骨质疏松症治疗中起着重要作用,多与其包含的微小 RNA 相关。

3 讨论 Discussion

目前骨质疏松症的病因尚未完全阐明,但可能导致骨质疏松症发生的原因有:①体内的激素平衡失调,局部氧化炎症反应;②成骨和破骨作用失衡,导致了骨重塑过程失衡,向骨破坏方向倾斜;③骨髓间充质干细胞的数量及活性受到年龄的影响,年龄的增加影响了骨髓间充质干细胞成骨成脂肪平衡,使得其分化向成脂肪方向偏移;④骨内血管的减少导致骨质丢失以及骨小梁结构破坏。间充质干细胞移植相较于传统药物而言具有更好疗效,但间充质干细胞的治疗效果受到其归巢效率的影响。间充质干细胞在归巢后不仅抑制了破骨细胞的骨吸收,而且通过增加成骨、成血管能力等不同机制来全面防治骨质疏松症。

此外,间充质干细胞分泌的外泌体既是治疗机制,也是治疗骨质疏松症的手段。但间充质干细胞移植目前仍面临着许多问题,如何有效提高其归巢效率成为其应用中需要解决的主要问题之一;此外如伦理问题、间充质干细胞移植的安全性、致瘤性等一系列问题也在一定程度上遏制了间充质干细胞在临床上的运用。随着研究的深入,这些问题在未来可能会得到更好的解决,最终造福全人类。

作者贡献: 唐志宏负责构思论文总体框架,陈永成、王阳昊、刘迪负责整理归纳参考文献,段浩、钟宗雨、王伟舟负责文章写作校对并提出修改意见,何飞负责项目指导工作。全体作者都阅读并同意最终的文本。

经费支持: 该文章接受了“云南省重大科技专项(生物医药)(2019ZF002)”“云岭产业技术领军人才项目”“昆明市中青年学术技术带头人项目”和“云南省骨关节炎临床医学中心项目(ZX2019-03-04)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 夏维波,章振林,林华,等.原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(3):281-309.
- [2] 乔林,熊英,徐克惠.绝经后骨质疏松概述[J].实用妇产科杂志,2020,36(7):481-484.
- [3] ARMAS LA, RECKER RR. Pathophysiology of osteoporosis: new mechanistic insights. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2012;41(3):475-486.

- [4] BLACK DM, ROSEN CJ. Postmenopausal Osteoporosis. *N Engl J Med.* 2016;374(21):2096-2097.
- [5] 卢春燕, 陈德才. 绝经后骨质疏松症的药物治疗 [J]. *实用妇产科杂志*, 2020, 36(7):489-492.
- [6] BROWN C, MCKEE C, BAKSHI S, et al. Mesenchymal stem cells: Cell therapy and regeneration potential. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019;13(9):1738-1755.
- [7] KINGERY MT, MANJUNATH AK, ANIL U, et al. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Therapy and Related Bone Marrow-Derived Orthobiologic Therapeutics. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2019;12(4): 451-459.
- [8] GARZA JR, CAMPBELL RE, TJOUMAKARIS FP, et al. Clinical Efficacy of Intra-articular Mesenchymal Stromal Cells for the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Double-Blinded Prospective Randomized Controlled Clinical Trial. *Am J Sports Med.* 2020;48(3):588-598.
- [9] JIANG Y, ZHANG P, ZHANG X, et al. Advances in mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of osteoporosis. *Cell Prolif.* 2021; 54(1):e12956.
- [10] GIAMPIETRO PF, MCCARTY C, MUKESH B, et al. The role of cigarette smoking and statins in the development of postmenopausal osteoporosis: a pilot study utilizing the Marshfield Clinic Personalized Medicine Cohort. *Osteoporos Int.* 2010;21(3):467-477.
- [11] INFANTE A, RODRÍGUEZ CI. Osteogenesis and aging: lessons from mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):244.
- [12] DUQUE G. Bone and fat connection in aging bone. *Curr Opin Rheumatol.* 2008; 20(4):429-434.
- [13] MACÍAS I, ALCORTA-SEVILLANO N, RODRÍGUEZ CI, et al. Osteoporosis and the Potential of Cell-Based Therapeutic Strategies. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1653.
- [14] 李云龙, 黄炳哲, 李正伟, 等. 骨髓间充质干细胞干预治疗骨质疏松症中的骨组织生物学性能 [J]. *北京生物医学工程*, 2021,40(1): 74-78,84.
- [15] OCARINO NDE M, BOELONI JN, JORGETTI V, et al. Intra-bone marrow injection of mesenchymal stem cells improves the femur bone mass of osteoporotic female rats. *Connect Tissue Res.* 2010;51(6):426-433.
- [16] ICHIOKA N, INABA M, KUSHIDA T, et al. Prevention of senile osteoporosis in SAMP6 mice by intrabone marrow injection of allogeneic bone marrow cells. *Stem Cells.* 2002;20(6):542-551.
- [17] KIERNAN J, HU S, GRYPAS MD, et al. Systemic Mesenchymal Stromal Cell Transplantation Prevents Functional Bone Loss in a Mouse Model of Age-Related Osteoporosis. *Stem Cells Transl Med.* 2016;5(5):683-693.
- [18] SUI B, HU C, ZHANG X, et al. Allogeneic Mesenchymal Stem Cell Therapy Promotes Osteoblastogenesis and Prevents Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Stem Cells Transl Med.* 2016;5(9):1238-1246.
- [19] CAO L, LIU G, GAN Y, et al. The use of autologous enriched bone marrow MSCs to enhance osteoporotic bone defect repair in long-term estrogen deficient goats. *Biomaterials.* 2012;33(20):5076-5084.
- [20] ZUK PA, ZHU M, MIZUNO H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001; 7(2):211-228.
- [21] KERN S, EICHLER H, STOEVE J, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells.* 2006;24(5):1294-1301.
- [22] 张伟, 刘媛, 白力, 等. 脂肪间充质干细胞对去卵巢骨质疏松大鼠治疗作用的实验研究 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2013,17(4):236-239,289.
- [23] SHEU SY, HSU YK, CHUANG MH, et al. Enhanced Bone Formation in Osteoporotic Mice by a Novel Transplant Combined with Adipose-derived Stem Cells and Platelet-rich Fibrin Releasates. *Cell Transplant.* 2020;29:963689720927398.
- [24] URI O, BEHRBALK E, FOLMAN Y. Local implantation of autologous adipose-derived stem cells increases femoral strength and bone density in osteoporotic rats: A randomized controlled animal study. *J Orthop Surg (Hong Kong).* 2018; 26(3):2309499018799534.
- [25] YE X, ZHANG P, XUE S, et al. Adipose-derived stem cells alleviate osteoporosis by enhancing osteogenesis and inhibiting adipogenesis in a rabbit model. *Cytotherapy.* 2014;16(12):1643-1655.
- [26] LIU HY, CHIOU JF, WU AT, et al. The effect of diminished osteogenic signals on reduced osteoporosis recovery in aged mice and the potential therapeutic use of adipose-derived stem cells. *Biomaterials.* 2012;33(26):6105-6112.
- [27] ZHENG CX, SUI BD, LIU N, et al. Adipose mesenchymal stem cells from osteoporotic donors preserve functionality and modulate systemic inflammatory microenvironment in osteoporotic cytotherapy. *Sci Rep.* 2018;8(1):5215.
- [28] ILIC D, MIERE C, LAZIC E. Umbilical cord blood stem cells: clinical trials in non-hematological disorders. *Br Med Bull.* 2012;102:43-57.
- [29] AN JH, PARK H, SONG JA, et al. Transplantation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells or their conditioned medium prevents bone loss in ovariectomized nude mice. *Tissue Eng Part A.* 2013;19(5-6):685-696.
- [30] HENDRIJANTINI N, KUSUMANINGSIH T, ROSTINY R, et al. A potential therapy of human umbilical cord mesenchymal stem cells for bone regeneration on osteoporotic mandibular bone. *Eur J Dent.* 2018; 12(3):358-362.
- [31] LIESVELD JL, SHARMA N, ALJITAWI OS. Stem cell homing: From physiology to therapeutics. *Stem Cells.* 2020;38(10):1241-1253.
- [32] ZHOU Q, YANG C, YANG P. The Promotional Effect of Mesenchymal Stem Cell Homing on Bone Tissue Regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2017;12(5):365-376.
- [33] LIU H, LI W, LIU Y, et al. Co-administration of aspirin and allogeneic adipose-derived stromal cells attenuates bone loss in ovariectomized rats through the anti-inflammatory and chemotactic abilities of aspirin. *Stem Cell Res Ther.* 2015;6:200.
- [34] 余翔, 任辉, 尚奇, 等. 龟板诱导干细胞归巢预防绝经后骨质疏松症的机制探讨 [J]. *中华中医药杂志*, 2019,34(5):2071-2075.
- [35] MARIE PJ. Targeting integrins to promote bone formation and repair. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;9(5):288-295.
- [36] DANIEL SK, SEO YD, PILLARISETTY VG. The CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis as a mechanism of immune resistance in gastrointestinal malignancies. *Semin Cancer Biol.* 2020;65:176-188.
- [37] YANG XW, HUANG HX, WANG F, et al. Elevated plasma CXCL12/SDF-1 levels are linked with disease severity of postmenopausal osteoporosis. *Innate Immun.* 2020;26(3):222-230.
- [38] PANG T, GONG M, HAN J, et al. Relationship between osteoporosis and expression of Bcl-2 and CXCL12. *Exp Ther Med.* 2018;15(2):1293-1297.
- [39] 梁至洁, 黄东琳, 张木子, 等. 基质细胞衍生因子 1 α 修饰促进大鼠脂肪干细胞迁移能力的体外实验研究 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2020,34(10):1305-1312.
- [40] 王鑫, 荀文隆, 徐小龙, 等. 骨髓间充质干细胞归巢促小鼠骨折愈合的实验研究 [J]. *国际骨科学杂志*, 2015,36(3):218-223.
- [41] XIANG X, LIU H, WANG L, et al. Ultrasound combined with SDF-1 α chemotactic microbubbles promotes stem cell homing in an osteoarthritis model. *J Cell Mol Med.* 2020;24(18):10816-10829.
- [42] SANGHANI A, OSAGIE-CLOUARD L, SAMIZADEH S, et al. CXCR4 Has the Potential to Enhance Bone Formation in Osteopenic Rats. *Tissue Eng Part A.* 2018;24(23-24):1775-1783.
- [43] WU Y, XIE L, WANG M, et al. Mettl3-mediated m6A RNA methylation regulates the fate of bone marrow mesenchymal stem cells and osteoporosis. *Nat Commun.* 2018;9(1):4772.
- [44] LEE YC, CHAN YH, HSIEH SC, et al. Comparing the Osteogenic Potentials and Bone Regeneration Capacities of Bone Marrow and Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Calvarial Bone Defect Model. *Int J Mol Sci.* 2019;20(20):5015.
- [45] DEBNATH S, YALLOWITZ AR, MCCORMICK J, et al. Discovery of a periosteal stem cell mediating intramembranous bone formation. *Nature.* 2018;562(7725):133-139.
- [46] DE SANTANA SANTOS T, FLORES ABUNA RP, BACHA LOPES H, et al. Association of mesenchymal stem cells and osteoblasts for bone repair. *Regen Med.* 2015; 10(2):127-133.
- [47] ONO T, NAKASHIMA T. Recent advances in osteoclast biology. *Histochem Cell Biol.* 2018;149(4):325-341.
- [48] CHEN X, WANG Z, DUAN N, et al. Osteoblast-osteoclast interactions. *Connect Tissue Res.* 2018;59(2):99-107.
- [49] ABE T, SUMI K, KUNIMATSU R, et al. The effect of mesenchymal stem cells on osteoclast precursor cell differentiation. *J Oral Sci.* 2019;61(1): 30-35.
- [50] WANG F, TARKKONEN K, NIEMINEN-PIHALA V, et al. Mesenchymal Cell-Derived Juxtacrine Wnt1 Signaling Regulates Osteoblast Activity and Osteoclast Differentiation. *J Bone Miner Res.* 2019;34(6):1129-1142.
- [51] TOMLINSON RE, SILVA MJ. Skeletal Blood Flow in Bone Repair and Maintenance. *Bone Res.* 2013;1(4):311-322.
- [52] HU K, OLSEN BR. The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration. *Bone.* 2016;91:30-38.
- [53] 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. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):38.
- [54] JIA Y, ZHU Y, QIU S, et al. Exosomes secreted by endothelial progenitor cells accelerate bone regeneration during distraction osteogenesis by stimulating angiogenesis. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):12.
- [55] QI X, ZHANG J, YUAN H, et al. Exosomes Secreted by Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Repair Critical-Sized Bone Defects through Enhanced Angiogenesis and Osteogenesis in Osteoporotic Rats. *Int J Biol Sci.* 2016;12(7):836-849.
- [56] PEGTEL DM, GOULD SJ. Exosomes. *Annu Rev Biochem.* 2019;88:487-514.
- [57] LI Y, JIN D, XIE W, et al. Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomes: A Possible Therapeutic Strategy for Osteoporosis. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2018;13(5):362-368.
- [58] 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/ β -catenin signaling. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):30.
- [59] WEILNER S, SCHRAML E, WIESER M, et al. Secreted microvesicular miR-31 inhibits osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Aging Cell.* 2016;15(4):744-754.
- [60] HU Y, XU R, CHEN CY, et al. Extracellular vesicles from human umbilical cord blood ameliorate bone loss in senile osteoporotic mice. *Metabolism.* 2019;95:93-101.
- [61] LIU M, SUN Y, ZHANG Q. Emerging Role of Extracellular Vesicles in Bone Remodeling. *J Dent Res.* 2018;97(8):859-868.
- [62] 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. *FASEB J.* 2021;35(1):e21150.
- [63] LU GD, CHENG P, LIU T, et al. BMSC-Derived Exosomal miR-29a Promotes Angiogenesis and Osteogenesis. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8: 608521.

(责任编辑: MZH, ZN, ZH)