

外泌体miRNA与骨质疏松：中医药靶向治疗机制的前沿探索及研究进展

杨浩¹, 巫红利¹, 黎嘉濠¹, 唐锐¹, 张弛²

¹成都中医药大学附属医院临床医学院, 中医骨伤科, 四川 成都

²成都中医药大学养生康复学院, 中医养生学教研室, 四川 成都

收稿日期: 2024年8月24日; 录用日期: 2024年9月27日; 发布日期: 2024年10月9日

摘要

骨质疏松症(OP)在绝经后女性和老年男性中较为常见,是全球范围内极为普遍的一种慢性疾病。其主要特征是骨量呈下降趋势、骨骼的脆性不断提高以及骨微结构遭到破坏。外泌体包含了蛋白质、脂质、核酸等多种生物活性物质,能够在细胞间传递信息、调节生理功能,并在多种生理和病理过程中发挥重要作用。在其中,作为功能性组成部分的微小核糖核酸(miRNA)可通过对骨形成与骨吸收过程进行调控,进而参与骨质疏松症的发生和发展进程。虽然在中医典籍中没有明确关于骨质疏松症的记载,但是如今越来越多的人运用中医药来干预骨质疏松的进展。中医药具有副作用较小的优点,并且相关的体内外实验发现,中医药是通过调节外泌体miRNA来发挥作用的。本文阐述外泌体miRNA与骨质疏松骨组织更新和修复中的关系,以及总结中药如何通过外泌体miRNA对OP发挥作用。

关键词

骨质疏松症, 外泌体, miRNA, 中医药, 信号通路

Exosomal miRNA and Osteoporosis: Frontier Exploration and Research Progress of Targeted Treatment Mechanism of Traditional Chinese Medicine

Hao Yang¹, Hongli Wu¹, Jiahao Li¹, Rui Tang¹, Chi Zhang²

¹Department of Orthopedics and Traumatology of Traditional Chinese Medicine, School of Clinical Medicine, Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu Sichuan

²Teaching and Research Section of Health Preservation of Traditional Chinese Medicine, School of Health Preservation and Rehabilitation, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

文章引用: 杨浩, 巫红利, 黎嘉濠, 唐锐, 张弛. 外泌体 miRNA 与骨质疏松: 中医药靶向治疗机制的前沿探索及研究进展[J]. 中医学, 2024, 13(10): 2524-2531. DOI: 10.12677/tcm.2024.1310374

Abstract

Osteoporosis (OP) is relatively common in postmenopausal women and elderly men and is an extremely common chronic disease worldwide. Its main characteristics are a downward trend in bone mass, increasing brittleness of bones, and destruction of bone microstructure. Exosomes contain various bioactive substances, such as proteins, lipids, and nucleic acids. They can transmit information between cells, regulate physiological functions, and play an important role in various physiological and pathological processes. Among them, microRNAs (miRNAs), as functional components, can regulate the processes of bone formation and bone resorption and thus participate in the occurrence and development of osteoporosis. Although there is no clear record of osteoporosis in traditional Chinese medicine classics, nowadays more and more people use traditional Chinese medicine to intervene in the progress of osteoporosis. Traditional Chinese medicine has the advantage of relatively small side effects. And relevant *in vitro* and *in vivo* experiments have found that traditional Chinese medicine exerts its effects by regulating exosomal miRNAs. This article elaborates on the relationship between exosomal miRNAs and the renewal and repair of osteoporotic bone tissue, and summarizes how traditional Chinese medicine exerts its effects on OP through exosomal miRNAs.

Keywords

Osteoporosis, Exosomes, miRNA, Traditional Chinese Medicine, Signal Pathway

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

骨质疏松症(OP)多见于绝经后女性和老年男性,在全球范围内是极为普遍的一种慢性疾病。其主要特征是骨量呈下降趋势、骨骼的脆性不断提高以及骨微结构遭到破坏[1][2]。老年人骨质疏松症的患病几率颇高,在中国,65岁以上人群中其患病率约30%,乃是老年人致残甚至致死的重要原因之一[3]。统计数据表明,绝经后的女性群体中,骨质疏松症患病率约32%,这一数值远远超出同龄男性6.0%的患病率水平。并且,当年龄超过65岁时,妇女的患病率更是接近52%[4]。OP往往因出现骨折、瘫痪等严重并发症未能得到及时且有效的诊治,进而使得治疗费用与难度显著提升,给社会带来了沉重的财政负担[5]。据相关研究表明,在欧盟有2200万女性和550万男性患骨质疏松症,发生了350万例新的脆性骨折。新发生和既往的脆性骨折带来的经济负担高达370亿欧元,其中新发生骨折占比66%,长期骨折护理占29%,药物预防仅占5%。预计到2025年费用将增加25%[6]。近年来,通过对OP的研究逐渐深入,科研工作者意识到雌激素水平的改变并非OP发生、发展的唯一致病因素。在OP的发病机制当中,诸如氧化应激、自噬、肠道菌群失衡以及铁负荷过重等生物学机制发挥着重要作用[6]。

外泌体包含了蛋白质、脂质、核酸等多种生物活性物质,能够在细胞间传递信息、调节生理功能,

并在多种生理和病理过程中发挥重要作用,例如免疫调节、肿瘤发生与发展等。在其中,作为功能性组成部分的微小核糖核酸(miRNA)可通过对骨形成与骨吸收过程进行调控,进而参与 OP 的从开始出现到逐步演变、推进的整个过程[7]。miRNA 作为一组由内源性基因编码而成的单链非编码 RNA,主要通过靶向信使 RNA (mRNA)的方式,深度参与到转录后基因表达的调控过程当中,在细胞内起着重要的调节作用[8]。在对 miRNA 许多的研究中,不断有证据表明,miRNA 和许多疾病的出现及演变存在密切关系,特别是炎症性及代谢性疾病和癌症等多种病症[6] [9]。在骨骼组织内的一系列化学过程中,miRNA 能参与骨代谢的关键物质及相关信息传递途径,这些物质和途径在特定生理或病理过程中扮演重要角色[10]。OP 的发生与发展进程中,发挥着重要作用的是这些受到调控的因子以及通路。它们对生物体内,细胞彼此之间以及细胞与周围基质环境进行相互作用和信息传递的感知过程,同时还包括细胞自然死亡和数量增加的现象以及骨骼逐渐变得坚硬和坚固的过程等方面产生作用[11]。

虽然在中医典籍中没有明确关于骨质疏松症的记载,但是如今越来越多的人运用中医药来干预骨质疏松的进展。中医药具有副作用较小的优点,并且相关的体内外实验发现,中医药是通过调节外泌体 miRNA 来发挥作用的。近些年来,有关 OP 防治的中药研究持续增加。中医基础确立了“肾主骨”理论,并以“治未病”以及“标本兼治”等整体治疗理念作为防治 OP 的指导思想。中药一方面能够推动骨修复、提高骨含量以及改善骨的生物力学性能,另一方面又可以对全身多个系统的功能状态紊乱进行调节,且不良反应较小,极大地提升了临床治疗效果。

2. 外泌体 miRNA 与骨质疏松

对骨质疏松症病理生理学的理解已经发展到包括由以下几个因素引起的受损的骨强度和骨骼脆性:(1) 骨小梁微观结构的缺陷;(2) 骨组织内在材料特性的缺陷;(3) 正常日常活动中微损伤的修复缺陷;(4) 过度的骨重塑速率[12]。经证实,在骨骼形成和重塑过程中,重要细胞类型中所发现的特殊外泌体 miRNA 具有调控成骨细胞和破骨细胞分化以及信号传导的能力,进而促使骨重塑过程实现[13] [14]。外泌体 miRNA 由于在 OP 患者血清中具有差异调节作用,逐渐被视作 OP 的重要生物标志物[15]。

2.1. 外泌体微小核糖核酸与老年型骨质疏松病症

随着机体的老化,衰老细胞会把相关表型的分子释放至骨微环境之中。这些成分能够在骨髓间充质干细胞(BMSCs)与破骨细胞之间进行信号传递,从而对骨组织不断进行更新和改造的过程起到调节作用[16]。这被视作老年型骨质疏松症骨量丢失的主要缘由,并且众多研究显示 miRNA 或许起着主要作用,如: miR-31a-5p、miRNA-19b-3p、miR-139-5p 及 miR-145-5p 等。同样重要的是,外泌体释放至围绕细胞的外部空间和条件后,能够把分泌物转运至对应目标细胞,对分泌物在运输过程中起到保护作用,使其不被降解[17]。所以 BMSCs 和破骨细胞之间的相互作用可能取决于外泌体 miRNA 在骨髓微环境中的穿梭,从而对骨重塑进行调节[18]。Xu 等率先进行了报道,指出 miR-31a-5p 能够借助促进衰老相关异染色质病灶的形成,以机械方式对细胞衰老予以调节。他们的研究成果表明,在 miR-31a-5p 表达水平上升的情况下,老龄大鼠的 BMSCs 展现出成骨功能降低以及衰老表型增多的现象[19]。实验表明,老年 OP 大鼠 BMSCs 的成骨分化在疲劳负荷后出现减弱的情况,而这种降低能够通过高表达 miRNA-19b-3p 的年轻大鼠血清外泌体得以改善[19]。Lu 等[20]人发现,源自衰老成骨细胞的外泌体 miR-139-5p 能够促进衰老与凋亡,并且通过发挥于靶点 TBX1,降低血管内皮细胞数量增加以及位置移动的生理现象。

2.2. 外泌体微小核糖核酸与绝经后骨质疏松症

女性在绝经后体内雌激素减少,雌激素受体的表达水平下降,进而导致了绝经后骨质疏松症的产生。

这一情况使得成骨细胞的功能变弱，而破骨细胞的活性增强，进而致使骨代谢的偶联状态失衡。其具体表现为成骨细胞的数量降低、破骨细胞的数量增多，最终引发了骨质疏松的现象[21][22]。研究显示，外泌体能够提升骨细胞对雌激素这种激素产生反应和受其影响的程度，同时促进骨再生[23]。Luo 等[24]研究发现，骨髓基质细胞外泌体(bone marrow stromal cell-derived exosomes, STExos)可增强体外 BMSCs 成骨分化，但在去除卵巢的绝经后 OP 小鼠中，单纯静脉输注 STExos 改善 OP 表型效果不佳。因 STExos 与骨髓基质细胞特异性适配体结合，适配体可将其递送至骨髓基质细胞。静脉注射 STExo-适配体复合物可提升 OVX 小鼠骨量并加速股骨骨折小鼠模型骨愈合，证实其靶向促进骨再生的有效性[24]。此外，也有实验表明来源于供体的外泌体可利用转运 miRNA-26a 恢复绝经后骨质疏松症模型大鼠的 BMSCs 功能并缓解骨质疏松[25]。

3. 外泌体 miRNA 与成骨、破骨分化

人体骨骼在生命过程中不断形成、增长和成熟的过程以及修复进程中，成骨细胞充当着极为重要的角色。成骨细胞主要承担着骨的形成任务，而破骨细胞则踊跃参与骨的吸收以及重建工作。破骨细胞具有强大的溶解骨组织能力，它们能够分泌酸性物质和酶，分解骨矿物质，破坏骨基质，将老旧的骨组织分解掉[26]。外泌体 miRNA 依托特定的机制及信号通路，作用于成骨细胞和破骨细胞的发育、成熟与功能，以此实现对它们分化进程的准确调控。这种调控对于维系骨骼的正常生理均衡以及确保骨骼健康起着重要作用。

3.1. miRNA 作用于成骨分化的靶点及途径

在推动成骨分化的相关通路之中，Wnt/ β -catenin 信号通路以及骨形态发生蛋白/Smad (BMP/Smad)信号通路的表现显得尤为突出，它们成为了众多 miRNA 所作用的关键靶点。miR-20a 可能通过激活 BMP/Runx2 信号通路来推动 BMSCs 的成骨分化。miR-20a 能够靶向降低过氧化物酶体增殖物激活受体、促激蛋白膜结合抑制因子同源物及半胱氨酸丰富跨膜成骨蛋白调控因子(它们都是 BMP/Runx2 信号通路的拮抗物质)的表达水平，提升成骨细胞标志的表达量，从而发挥促进成骨分化的作用[27]。miR-15b 是一种微小 RNA 的名称。miR-15b 并非是一般性或潜在性地参与，而是明确、切实地介入到多种生物学的活动流程中，对其进行了一定的调节和掌控，以影响这些过程的发展和结果，包括细胞增殖、分化、凋亡等，其作用机制和具体功能会因细胞类型和生理状态的不同而有所差异，研究发现它可通过间接保护 Runx2 蛋白不受 Smad 泛素化调节因子 1 (Smurf1)介导的分解作用影响，以此增强成骨细胞的分化[28][29]。在成骨细胞数量开始增加的最初阶段，miR-29a 与 miR-29b 作用关键，它们能够减少 Wnt 信号通路抑制因子，激活 Wnt/ β -catenin 信号通路，从而促进成骨细胞增殖[30]。

3.2. miRNA 作用于破骨分化的靶点及途径

要激发破骨细胞的分解骨骼作用，其中关键的一步是单核细胞融合并慢慢发展为多核细胞。树突状细胞特异性跨膜蛋白(DC-STAMP)是指在树突状细胞中具有特异性存在的、跨越细胞膜的蛋白质，它对于破骨细胞融合的过程起着极为重要的连接作用[31][32]。以 DC-STAMP 为作用目标，MiR-7b 能直接减少其表达量，还可抑制整合素相关蛋白、囊泡型 ATP 酶、破骨细胞多次跨膜蛋白等融合基因，以及活化 T 细胞 C1 核因子等破骨细胞特异性基因的表达，从而阻止破骨细胞多核化融合[33]。有研究表明，miR-124 可以通过降低破骨细胞多次跨膜蛋白的表达水平，从而对小鼠骨髓源巨噬细胞在向破骨细胞分化过程中所呈现出的抑制效果[34]。研究表明，miRNA 能够通过靶向降低 Rab27a (一种具有调节溶酶体相关细胞多核化功能的蛋白质)的表达量，进而减弱髓单核细胞在特定生理和病理条件下所经历的一系列复杂且

精细的变化, 以此逐步促使其向破骨细胞分化。并且进一步实验发现, 对于接受了卵巢切除手术的小鼠, 其来源于骨髓的巨噬细胞和破骨细胞中 miRNA 表达量出现减少时, 将会打破正常的生理平衡, 引发骨吸收的程度超出正常范围, 可能导致相关的骨骼健康问题[35] [36]。

4. 中医药通过 miRNA 在 OP 治疗中的研究进展

目前, 临床所应用的诸如雌二醇、阿仑膦酸钠等药物, 虽疗效获得认可, 然而其在长期服用过程中产生的不良反应, 使得我们必须去探寻更多具有低副作用的治疗方式[37]。OP 大多是由“先天肾精不足或亏损、骨失濡养”而逐渐演变[38]。《黄帝内经》中给出了针对“骨痿”的治疗准则: 以补肾之法来治疗骨痿[39]。

4.1. 中药复方

中药复方是中医用药的主要形式之一, 其通过多种中药的协同作用, 以达到治疗疾病、调理身体机能等目的。Zhang 等[40]研究发现, 健骨颗粒发挥作用, 阻止了 miR-141 与特定基因位点的整合。由于 miR-141 表达下调, 使得原本受到抑制的 *Dlx5* 活性得到解放, 同时降低了 *Dlx5* 的同源异形基因 *Msx2* 的表达。这种一增一减的作用, 促使成骨核心转录因子 *Runx2* 能够更充分地表达并且其活性得以增强, 进而增强 BMSCs 的成骨分化以及骨骼中结节部位发生矿物质沉积和硬化的现象。二仙汤常用于治疗肾阴阳两虚所致的多种病症。相关研究显示, 二仙汤含有的药血清具有一定作用, 能够使 miR-335-5p 更明显地呈现出来, 让 Wnt 信号通路的表达得以增强, 进而提高 BMSCs 的活性, 并且推动 BMSCs 向成骨方向分化[41]。有实验发现, 补肾方能够增强 miRNA 的表达, 在翻译层面减弱靶基因骨形态发生蛋白相互作用的受体(*Bmpr1 α*)的显现, 然后通过降低 BMSCs 向脂肪细胞转化和发育的过程, 进而干预 OP [42]。滋肾降糖丸常用于降血糖等, 通过研究发现它还能够通过激活特定的通路来干预 OP。其能降低 Wnt 上游靶基因表达量, 增加 miR-124-3p 表达量。借助 Wnt/ β -catenin 通路来改良骨转换标志, 增加骨密度[43]。近期有研究表明, 左归丸能够降低成脂相关因子的水平, 提高成骨核转录因子的水平。同时, 左归丸能提高 miR-34a 的表达, 从而抑制其靶基因的表达。基于这些作用, 左归丸能够促进 BMSCs 的增殖以及成骨分化[44]。

4.2. 中药单体

淫羊藿在药理方面发挥着诸多重要作用, 其中包括促进骨形成, 能够有效地刺激骨骼的生长与修复, 为骨骼健康提供有力的支持; 拥有抗炎功效, 可降低机体的炎症反应, 控制因炎症带来的不适与损害; 还能够调节免疫功能, 对免疫系统进行精细地调控, 增强机体的免疫力, 使其更好地抵御各种疾病的侵袭[45]。通过实验发现, 淫羊藿苷可以增强 BMSCs 的增殖能力, 从而减少细胞的凋亡, 为细胞的延续提供保障。同时, 淫羊藿苷还显著提高了多种 miRNA 在 BMSCs 当中的表达水平, 这些微小 RNA 的表达变化可能对 BMSCs 的生物学功能产生重要影响[46]。相关研究显示, 通过使用淫羊藿苷来处 BMSCs, 能够实现对 miRNA 参与的信号轴的调控, 从而推动 BMSCs 向成骨细胞分化, 达到干预 OP 的进程作用[47]。有体外实验表明, 特定的 miRNA 可以降低 *Smad4* 基因和骨标志物的表达从而抑制成骨细胞分化, 而淫羊藿苷则能够调控与 miRNA 相关的信号轴, 进而促进成骨细胞分化, 解释了淫羊藿苷的干预作用[48] [49]。抗骨质疏松活性的中药还有异补骨脂素, 它是补骨脂的主要活性成分之一。经实验得知, 异补骨脂素对 BMSCs 进行刺激后所释放的外泌体, 可以促使碱性磷酸酶、骨保护素以及骨形态发生蛋白的表达上调[50]。在体外实验中发现, 葛根素具有特定的作用机制。其中, miRNA 能够对成骨核心转录因子起到负向调节作用, 进而抑制成骨分化。然而, 葛根素能够通过降低相关 miRNA 的水平, 促进成骨核心

转录因子的蛋白表达, 以此来对成骨细胞的分化进行调节[51]。青蒿琥酯作为中药青蒿的提取物, 有研究表明, 它可以增加 miR-503 的表达, 抑制破骨相关基因的表达以及 RANKL 诱导的信号通路的激活, 从而减弱破骨细胞的相关功能, 最终改善 OP [52]。也有研究表明, 青蒿琥酯能够诱导 miR-34a 的高表达以及 DKK1 的低表达, 从而促进 Wnt 信号通路的激活, 加速 BMSC 的成骨细胞分化[53]。白藜芦醇作为中药虎杖的活性成分之一, 具有类似雌激的作用。它能够提高 miR-92b-3p 的表达, 抑制 NADPH 氧化酶 4 (Nox4)/NF- κ B 信号通路的表达, 进而促进 BMSCs 成骨细胞的增殖和分化, 提高骨保护素及骨密度水平, 能够有效缓解因卵巢分泌的类固醇激素缺乏引起的 OP [54]。同样, 来源于虎杖的提取物虎杖多糖能够下调 miR-1224 的表达, 进而促进 Wnt 信号通路的激活, 以此抑制破骨细胞功能并促成成骨细胞分化[55]。

5. 结论与展望

目前, OP 作为骨科常见疾病之一, 其发病机制已有一定程度的成熟研究。miRNA 是获取便捷、较为稳定、具有生物体的不同组织中所具有的独特性质, 以及高度敏感且源自内部自身的特性分子, 能调控骨代谢, 干预 OP 的进程。然而, 需要注意的是, 骨质疏松的外泌体领域尚处于新兴阶段, 这在当前的研究数量上有所体现, 并且文献中还存在相互矛盾的结果。产生这种情况的原因可能在于这些研究的样本和组织来源可能不一样。其次, 由于技术方面的限制, 例如外泌体提取方式、高通量测序手段以及数据处理和分析缺乏标准化等, 导致可重复性较低, 对现有数据的价值造成了破坏。中药复方或单药的有效成分具有靶向治疗能力, 有中药和化学药的优点; 复方体现“辨证论治”, 能多途径协同作用。然而, 当前相关研究数量较少且存在着某种程度的局限性。例如, 确保中医药靶向的稳定性、特异性及有效性的方法, 以及如何将毒性和脱靶效应降至最低等问题, 皆需在接下来进一步展开的研究进程当中予以阐明和优化。

参考文献

- [1] 段克友, 官建中. 外泌体在骨质疏松症治疗中的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2021, 35(12): 1642-1649.
- [2] Gielen, E., Dupont, J., Dejaeger, M. and Laurent, M.R. (2023) Sarcopenia, Osteoporosis and Frailty. *Metabolism*, **145**, Article 155638. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2023.155638>
- [3] 赵宗权, 吴贻红, 汤振源, 等. 老年骨质疏松症流行病学调查及预防措施研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(7): 994-997.
- [4] Kanis, J.A., Cooper, C., Rizzoli, R. and Reginster, J.-Y. (2019) Executive Summary of the European Guidance for the Diagnosis and Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women. *Calcified Tissue International*, **104**, 235-238. <https://doi.org/10.1007/s00223-018-00512-x>
- [5] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 中国骨质疏松症流行病学调查及“健康骨骼”专项行动结果发布[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2019, 12(4): 317-318.
- [6] Hernlund, E., Svedbom, A., Ivergård, M., Compston, J., Cooper, C., Stenmark, J., *et al.* (2013) Osteoporosis in the European Union: Medical Management, Epidemiology and Economic Burden. *Archives of Osteoporosis*, **8**, Article No. 136. <https://doi.org/10.1007/s11657-013-0136-1>
- [7] Cervellati, C., Bonaccorsi, G., Piva, I. and Greco, P. (2018) Oxidative Stress as a Possible Pathogenic Cofactor of Post-Menopausal Osteoporosis: Existing Evidence in Support of the Axis Oestrogen Deficiency-Redox Imbalance-Bone Loss. *Indian Journal of Medical Research*, **147**, Article 341. https://doi.org/10.4103/ijmr.ijmr_524_18
- [8] Krylova, S.V. and Feng, D. (2023) The Machinery of Exosomes: Biogenesis, Release, and Uptake. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 1337. <https://doi.org/10.3390/ijms24021337>
- [9] Yu, X., Odenthal, M. and Fries, J. (2016) Exosomes as Mirna Carriers: Formation-Function-Future. *International Journal of Molecular Sciences*, **17**, Article 2028. <https://doi.org/10.3390/ijms17122028>
- [10] Yang, Y., Yujiao, W., Fang, W., Linhui, Y., Ziqi, G., Zhichen, W., *et al.* (2020) The Roles of Mirna, Lncrna and Circrna in the Development of Osteoporosis. *Biological Research*, **53**, Article No. 40. <https://doi.org/10.1186/s40659-020-00309-z>

- [11] Behera, J., Ison, J., Tyagi, A., Mbalaviele, G. and Tyagi, N. (2022) Mechanisms of Autophagy and Mitophagy in Skeletal Development, Diseases and Therapeutics. *Life Sciences*, **301**, Article 120595. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120595>
- [12] Bottani, M., Banfi, G. and Lombardi, G. (2019) Perspectives on miRNAs as Epigenetic Markers in Osteoporosis and Bone Fracture Risk: A Step Forward in Personalized Diagnosis. *Frontiers in Genetics*, **10**, Article 1044. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01044>
- [13] Armas, L.A.G. and Recker, R.R. (2012) Pathophysiology of Osteoporosis. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **41**, 475-486. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2012.04.006>
- [14] Tu, C., He, J., Chen, R. and Li, Z. (2020) The Emerging Role of Exosomal Non-Coding RNAs in Musculoskeletal Diseases. *Current Pharmaceutical Design*, **25**, 4523-4535. <https://doi.org/10.2174/1381612825666191113104946>
- [15] Zhu, Y., Li, Z., Zhang, Y., Lan, F., He, J. and Wu, Y. (2020) The Essential Role of Osteoclast-Derived Exosomes in Magnetic Nanoparticle-Infiltrated Hydroxyapatite Scaffold Modulated Osteoblast Proliferation in an Osteoporosis Model. *Nanoscale*, **12**, 8720-8726. <https://doi.org/10.1039/d0nr00867b>
- [16] Sun, Y., Kuek, V., Liu, Y., Tickner, J., Yuan, Y., Chen, L., et al. (2018) MiR-214 Is an Important Regulator of the Musculoskeletal Metabolism and Disease. *Journal of Cellular Physiology*, **234**, 231-245. <https://doi.org/10.1002/jcp.26856>
- [17] Li, D., Liu, J., Guo, B., Liang, C., Dang, L., Lu, C., et al. (2016) Osteoclast-Derived Exosomal miR-214-3p Inhibits Osteoblastic Bone Formation. *Nature Communications*, **7**, Article No. 10872. <https://doi.org/10.1038/ncomms10872>
- [18] Zhu, S., Yao, F., Qiu, H., Zhang, G., Xu, H. and Xu, J. (2017) Coupling Factors and Exosomal Packaging Micrnas Involved in the Regulation of Bone Remodelling. *Biological Reviews*, **93**, 469-480. <https://doi.org/10.1111/brv.12353>
- [19] Chen, M., Li, Y., Lv, H., Yin, P., Zhang, L. and Tang, P. (2020) Quantitative Proteomics and Reverse Engineer Analysis Identified Plasma Exosome Derived Protein Markers Related to Osteoporosis. *Journal of Proteomics*, **228**, Article 103940. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103940>
- [20] Xu, R., Shen, X., Si, Y., Fu, Y., Zhu, W., Xiao, T., et al. (2018) MicroRNA-31a-5p from Aging BMSCs Links Bone Formation and Resorption in the Aged Bone Marrow Microenvironment. *Aging Cell*, **17**, e12794. <https://doi.org/10.1111/accel.12794>
- [21] Lu, Q., Qin, H., Tan, H., Wei, C., Yang, X., He, J., et al. (2021) Senescence Osteoblast-Derived Exosome-Mediated Mir-139-5p Regulates Endothelial Cell Functions. *BioMed Research International*, **2021**, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2021/5576023>
- [22] 何姣姣, 陈以发, 陈玉林, 等. 绝经后骨质疏松的骨免疫学机制[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(7): 1032-1036.
- [23] 瞿霖, 赵梦幻, 王冬玉, 等. 雌激素受体 α 在绝经后骨质疏松中的研究进展及作用机制[J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(7): 1021-1027.
- [24] 顾亚, 李毅, 陈铭, 等. 不同细胞来源外泌体在骨质疏松小鼠体内的骨靶向性比较[J]. 解放军医学院学报, 2021, 42(3): 310-314.
- [25] Luo, Z., Li, F., Liu, Y., Rao, S., Yin, H., Huang, J., et al. (2019) Aptamer-Functionalized Exosomes from Bone Marrow Stromal Cells Target Bone to Promote Bone Regeneration. *Nanoscale*, **11**, 20884-20892. <https://doi.org/10.1039/c9nr02791b>
- [26] 叶庆元, 邱新毓, 田荣, 等. 供体 MSCs 来源的外泌体转运 miR-26a 恢复宿主 MSCs 功能并缓解骨质疏松[J]. 实用口腔医学杂志, 2017, 33(5): 575-579.
- [27] Chen, X., Wang, Z., Duan, N., Zhu, G., Schwarz, E.M. and Xie, C. (2017) Osteoblast-Osteoclast Interactions. *Connective Tissue Research*, **59**, 99-107. <https://doi.org/10.1080/03008207.2017.1290085>
- [28] Zhang, J., Fu, W., He, M., Xie, W., Lv, Q., Wan, G., et al. (2011) MiRNA-20a Promotes Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells by Co-Regulating BMP Signaling. *RNA Biology*, **8**, 829-838. <https://doi.org/10.4161/ma.8.5.16043>
- [29] Maeda, K., Kobayashi, Y., Koide, M., Uehara, S., Okamoto, M., Ishihara, A., et al. (2019) The Regulation of Bone Metabolism and Disorders by Wnt Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 5525. <https://doi.org/10.3390/ijms20225525>
- [30] Vimalraj, S., Partridge, N.C. and Selvamurugan, N. (2014) A Positive Role of MicroRNA-15b on Regulation of Osteoblast Differentiation. *Journal of Cellular Physiology*, **229**, 1236-1244. <https://doi.org/10.1002/jcp.24557>
- [31] Zhang, F., Cao, K., Du, G., Zhang, Q. and Yin, Z. (2019) miR-29a Promotes Osteoblast Proliferation by Downregulating DKK-1 Expression and Activating Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, **28**, 1293-1300. <https://doi.org/10.17219/acem/104533>
- [32] Elson, A., Anuj, A., Barnea-Zohar, M. and Reuven, N. (2022) The Origins and Formation of Bone-Resorbing Osteoclasts. *Bone*, **164**, Article 116538. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2022.116538>

- [33] Yagi, M., Miyamoto, T., Sawatani, Y., Iwamoto, K., Hosogane, N., Fujita, N., *et al.* (2005) DC-STAMP Is Essential for Cell-Cell Fusion in Osteoclasts and Foreign Body Giant Cells. *The Journal of Experimental Medicine*, **202**, 345-351. <https://doi.org/10.1084/jem.20050645>
- [34] Dou, C., Zhang, C., Kang, F., Yang, X., Jiang, H., Bai, Y., *et al.* (2014) miR-7b Directly Targets DC-STAMP Causing Suppression of Nfatc1 and C-Fos Signaling during Osteoclast Fusion and Differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Gene Regulatory Mechanisms*, **1839**, 1084-1096. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.08.002>
- [35] Lee, Y., Kim, H.J., Park, C.K., Kim, Y., Lee, H., Kim, J., *et al.* (2013) MicroRNA-124 Regulates Osteoclast Differentiation. *Bone*, **56**, 383-389. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.07.007>
- [36] Tang, L., Yin, Y., Liu, J., Li, Z. and Lu, X. (2017) miR-124 Attenuates Osteoclastogenic Differentiation of Bone Marrow Monocytes via Targeting Rab27a. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **43**, 1663-1672. <https://doi.org/10.1159/000484027>
- [37] Minamizaki, T., Nakao, Y., Irie, Y., Ahmed, F., Itoh, S., Sarmin, N., *et al.* (2020) The Matrix Vesicle Cargo miR-125b Accumulates in the Bone Matrix, Inhibiting Bone Resorption in Mice. *Communications Biology*, **3**, Article No. 30. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0754-2>
- [38] 史晓林, 刘康. 老年性骨质疏松症中西医结合诊疗指南[J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(7): 937-946.
- [39] 葛继荣, 王和鸣, 郑洪新, 等. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2020) [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(12): 1717-1725.
- [40] 叶佰盛, 李威, 黄振, 等. 从《内经》“生病起于过用”探讨原发性骨质疏松症因机证治[J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(2): 246-249.
- [41] 张文明. miR-141 调控 OP 小鼠 BMSCs 成骨分化机制及健骨颗粒干预作用研究[D]: [博士学位论文]. 福州: 福建中医药大学, 2016.
- [42] 汪青. 二仙汤治疗肾阳虚型绝经后骨质疏松症的临床疗效评价及基于网络药理学的机制研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [43] 潘欣, 曾思良, 梁兴伦, 等. MicroRNA-195-5p 调节 Bmpr1a 表达对骨髓间充质干细胞成脂分化的影响[J]. 同济大学学报(医学版), 2017, 38(3): 1-7+13.
- [44] 陈哲. 糖尿病骨质疏松中医证型及滋肾降糖丸干预作用研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [45] 张昊, 余翔, 任辉, 等. 左归丸调控 miR34a 对 BMSCs 成骨分化能力的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(6): 1300-1304.
- [46] He, C., Wang, Z. and Shi, J. (2020) Pharmacological Effects of Icaritin. *Advances in Pharmacology*, **87**, 179-203. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.10.004>
- [47] 袁雯霞, 赵杨敏, 干云霄, 等. 淫羊藿苷对缺氧条件下间充质干细胞活性及旁分泌功能的影响[J]. 浙江医学教育, 2020, 19(2): 41-44.
- [48] 杨傲飞. 基于肾主骨生髓理论研究淫羊藿苷调控外泌体内 miR-122-5p 对 BMSCs 成骨、迁移的作用及机制[D]: [博士学位论文]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- [49] 孙海涛. LncRNA TIM3/miR-214-5p/Samd4 轴在绝经后骨质疏松症中的分子机制及淫羊藿苷的干预效应[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [50] 徐月新. miR-664-3p 通过靶向调节 Smad4 和 Osterix 的表达而促进骨质疏松的发生[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [51] 郭招娣. 异补骨脂素干预后 BMSCs 源性外泌体调控 MC3T3-E1 成骨分化的研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [52] 张莹莹. 葛根素对成骨细胞 miRNA-204 的调控及其与 Runx2 基因表达的关系[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [53] Huang, M., Zhuang, Y., Ning, X., Zhang, H., Shen, Z. and Shang, X. (2020) Artesunate Inhibits Osteoclastogenesis through the miR-503/Rank Axis. *Bioscience Reports*, **40**, BSR20194387. <https://doi.org/10.1042/bsr20194387>
- [54] Zeng, H., Dong, L., Xu, C., Zhao, X. and Wu, L. (2020) Artesunate Promotes Osteoblast Differentiation through miR-34a/DKK1 Axis. *Acta Histochemica*, **122**, Article 151601. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2020.151601>
- [55] Zhang, Y., Liu, M., He, Y., Deng, N., Chen, Y., Huang, J., *et al.* (2020) Protective Effect of Resveratrol on Estrogen Deficiency-Induced Osteoporosis Through Attenuating NADPH Oxidase 4/nuclear Factor Kappa B Pathway by Increasing miR-92b-3p Expression. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, **34**, Article 205873842094176. <https://doi.org/10.1177/2058738420941762>