

肠道菌群与外泌体及其协同作用对骨稳态影响的研究进展

齐鑫¹ 刘建军^{2*} 张晓刚^{2*} 陈欣² 赵希云² 王志鹏² 陈一新¹ 李锦锋¹ 刘硕¹

(¹甘肃中医药大学, 兰州 730000; ²甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730000)

摘要 骨稳态是基于成骨细胞与破骨细胞代谢的动态平衡状态,对骨质疏松症、骨关节炎及股骨头坏死等骨科代谢性疾病的进程至关重要。随着细胞生物分子工程的发展,肠道菌群或外泌体的研究已成为预防或治疗骨代谢相关性疾病的热点,在免疫调节、炎症反应、细胞凋亡、骨代谢及内环境稳态方面的研究颇多。目前在肠道菌群和外泌体协同作用对疾病的调控方面的研究较少,以及对于骨代谢相关性疾病机制的探索方面更是较为有限。笔者通过查阅相关文献,认为肠道菌群与外泌体存在相关性,并且此二者在骨科疾病的治疗方面可能具有很高的研究价值。因此,该文就肠道菌群、外泌体及其协同作用对骨稳态影响的最新研究进展作一综述,以期临床治疗骨相关性疾病提供新的思路与依据。

关键词 肠道菌群; 外泌体; 骨稳态; 成骨细胞; 破骨细胞

Research Progress of Intestinal Flora and Exosomes and Their Synergistic Effects on Bone Homeostasis

QI Xin¹, LIU Jianjun^{2*}, ZHANG Xiaogang^{2*}, CHEN Xin², ZHAO Xiyun², WANG Zhipeng²,
CHEN Yixin¹, LI Jinfeng¹, LIU Shuo¹

(¹Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; ²Affiliated Hospital of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

Abstract Bone homeostasis is based on the dynamic balance of osteoblast and osteoclast metabolism, which is crucial to the progress of metabolic diseases in orthopedics such as osteoporosis, osteoarthritis and femoral head necrosis. With the development of cellular biomolecular engineering, the study of intestinal flora or exosomes has become a hot spot in the prevention or treatment of bone metabolism-related diseases. There are many studies on immune regulation, inflammatory response, apoptosis, bone metabolism and homeostasis. At present, there are few studies on the regulation of diseases based on the synergistic effect of intestinal flora and exosomes, and the exploration of bone metabolism related diseases is limited. Through consulting relevant literature, the authors believe that intestinal flora is correlated with exosomes, and may have high research value in the treatment of orthopedic

收稿日期: 2022-08-04 接受日期: 2022-09-07

张晓刚全国名老中医药专家传承工作室建设项目(批准号: 国中医药人教函〔2022〕75号)、兰州市人才创新创业项目(批准号: 2020-RC-64)、甘肃省教育厅高等学校创新基金(批准号: 2022B-109)、2020年甘肃省青年科技基金(批准号: 20JRTORA345)、兰州市城关区科技计划(批准号: 2020-2-2-7)和2021年卫生健康行业科研项目(批准号: GSWSKJ-2021-009)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13519686956, E-mail: g.sljj@163.com; Tel: 13519686984, E-mail: zxg0525@163.com

Received: August 4, 2022 Accepted: September 7, 2022

This work was supported by the Zhang Xiaogang National Traditional Chinese Medicine Expert Inheritance Studio Construction Project (Grant No.Chinese medicine education letter (2022) No.75), the Lanzhou Talent Innovation and Entrepreneurship Project (Grant No.2020-RC-64), the Gansu Provincial Department of Education University Innovation Fund Project (Grant No.2022B-109), the 2020 Gansu Provincial Youth Science and Technology Fund (Grant No.20JRTORA345), the Lanzhou Chengguan District Science and Technology Plan Project (Grant No.2020-2-2-7) and the 2021 Health and Health Industry Research Project (Grant No.GSWSKJ-2021-009)

*Corresponding authors. Tel: +86-13519686956, E-mail: g.sljj@163.com; Tel: +86-13519686984, E-mail: zxg0525@163.com

diseases. Therefore, this paper reviews the latest research progress on the effects of intestinal flora, exosomes and their synergistic effects on bone homeostasis, in order to provide new ideas and basis for clinical treatment of bone-related diseases.

Keywords intestinal flora; exosomes; bone homeostasis; osteoblasts; osteoclasts

骨骼作为一个动态器官,具有运动、支撑和保护躯体的功能,在机体生命当中经历着不断的重塑。骨骼功能的维持基于骨稳态的作用,骨稳态是一种主要依赖于成骨细胞的骨合成代谢与破骨细胞的骨分解代谢相互作用的动态平衡状态,受免疫、代谢和内分泌系统及其他内外环境因素的影响^[1]。骨稳态对于骨质疏松症、骨关节炎等骨代谢性疾病的治疗和愈后十分重要。在机体内,随着成骨细胞或破骨细胞代谢出现问题,骨稳态失衡,便会造成机体骨量的丢失、骨密度和骨强度下降、骨小梁数目减少、骨体积缩小和骨脆性增加,随之引起骨质疏松症的产生及发展,并进一步导致骨折及其并发症的高发生率,给患者带来了巨大负担。因此,如何调节骨稳态的平衡与预防骨破坏备受关注。

研究表明,肠道菌群可以调节骨稳态^[2]。肠道菌群寄生于宿主体内,通过宿主的免疫、代谢和内分泌系统,参与着宿主的各项生命活动。目前认为,肠道菌群主要通过影响骨细胞数量和骨密度发挥其对骨稳态的调节作用^[3]。外泌体同样与骨稳态之间存在密切的联系。研究表明,骨细胞可以自发分泌含有蛋白质、脂质和核酸的外泌体,从而调节破骨细胞的生成和成骨作用,实现其在骨稳态中的调节活性^[4]。

肠道菌群和外泌体作为当前细胞生物分子工程领域的两大热点话题,它们在骨代谢相关疾病中也具有很好的研究前景。经查阅相关国内外文献后,发现目前众多研究趋向于分别从肠道菌群和外泌体两个角度探讨其对骨与关节疾病的作用机制。但从有限的肠道菌群联合外泌体对骨病治疗的研究中不难发现,基于肠道菌群与外泌体协同作用的研究将会迎来更多关注。因此,本文分别论述了肠道菌群、外泌体及其协同作用对骨稳态的影响,希望对于临床骨科系统疾病开发新的治疗方法有所帮助。

1 肠道菌群对骨稳态的影响

微生物组的多样化生态系统是由哺乳动物暴露表面上定居的数以万亿计的本土细菌、真菌和病

毒构成的,胃肠道中含量最多的这些微生物,被称为肠道菌群。肠道菌群是通过遗传获得的,其多样性和复杂性在后天不断发展变化,是人体基因库的重要组成部分,它们通过寄生在宿主体内,与宿主各个系统紧密联系^[6]。关于肠道菌群对各种疾病作用的研究颇受关注,近年来,就肠道菌群与骨科疾病间的关系也进行了大量探索。肠道菌群及其代谢产物对骨骼健康的影响被称为“肠-骨轴”,是调节骨稳态的关键介质,通过宿主的免疫系统、代谢系统和内分泌系统在健康和疾病中调节着骨稳态^[7]。

1.1 肠道菌群通过宿主免疫系统调节骨稳态

研究表明,机体免疫系统影响着骨代谢的进程,这被称为骨免疫学,证明了免疫相关信号在调节骨稳态中的重要作用^[8]。肠黏膜屏障在宿主体内可最先发起免疫反应,通过肠上皮和黏液层的防御作用,避免外界各种有害物质对机体造成侵害。肠道通透性是肠上皮在紧密连接蛋白的作用下,允许物质以跨细胞或细胞旁分泌的方式通过肠黏膜^[9]。研究表明,肠道通透性的改变可导致肿瘤坏死因子- α 表达增强,肿瘤坏死因子- α 的增加可以刺激宿主造成骨细胞的凋亡,从而破坏骨稳态^[10]。血清脂多糖水平升高可增加肠黏膜通透性,并通过多种方式诱发MAPK通路和炎症因子的表达,促进破骨细胞的分化和存活,增加骨丢失^[11]。CHEN等^[12]证明了肠道菌群的多样性和稳定性可以增强肠道黏膜屏障的完整性,这对骨稳态的调节是有益的;与T细胞有关的细胞免疫应答是机体免疫的重要组成部分,像是Th17细胞和Treg细胞等一类的细胞因子或淋巴细胞发挥其生理功能都需要在肠道菌群的配合下才能实现。Th17细胞是CD4⁺T细胞的一个亚群,在维持肠黏膜屏障、防止细菌侵入等方面发挥着重要作用。Treg细胞对肠道和全身免疫系统有一定的影响,雌激素缺乏性骨质疏松症的研究,证实雌激素可以直接增加其细胞数量,防止去卵巢引起的小鼠骨丢失,促进骨形成^[13];肠道菌群也可通过NOD1、NOD2和TLR5介导的非特异性免疫来调节骨稳态。LI等^[14]发现,NOD1、NOD2可结合细菌表面的肽聚糖,且机体骨

量的变化依赖于此两者的相互作用, 因此NOD1和NOD2在肠道菌群对骨骼的影响中发挥关键作用。*TLR5*基因敲除后, 小鼠的免疫系统调节能力下降, 对肠道菌群产生影响, 进而导致宿主免疫系统和骨代谢之间的正常生理过程受损^[15]。由此可见, 肠道菌群能够基于宿主免疫系统对骨稳态产生正向或负向的不同作用, 这与其诱导或激活的细胞因子和信号通路等媒介具有相关性, 明确肠道菌群在其中的作用机制, 将有助于提升我们对骨稳态的理解水平。

1.2 肠道菌群通过宿主代谢系统调节骨稳态

随着研究的深入, 肠道菌群与宿主代谢系统之间的关系逐渐被认识, 肠道菌群可以通过多种方式影响宿主的新陈代谢和骨稳态。钙是维持骨骼健康的重要元素, 主要通过肠道进行吸收, 然后以羟基磷灰石的形式沉积在骨骼中, 因此保持正常钙水平的吸收对维持骨骼动态平衡非常重要^[16]。维生素D可以影响钙的吸收, 也可以维持肠道菌群的动态平衡, 临床上众多的骨代谢疾病都与钙或维生素D的缺失有关。此外, 肠道菌群失调会引起钙和维生素D吸收不足, 患者会出现骨密度降低、骨软化等表现; 短链脂肪酸是由肠道菌群通过发酵食物产生的, 包括醋酸盐、丙酸盐和丁酸盐^[17]。研究证实, 短链脂肪酸可以通过改变矿物质的溶解度、降低肠道pH值及增加细胞内钙的转运等多种途径来调节骨骼的动态平衡^[18]。采用短链脂肪酸干预骨质疏松症小鼠后, 发现破骨细胞和骨吸收标记物的数量显著减少, 证明其可以改善骨质疏松症中由破骨细胞过度分化而造成的骨稳态失衡^[19]。TYAGI等^[20]表明, 丁酸盐可以间接激活成骨细胞中的Wnt信号通路, 促进成骨细胞的产生, 增加小鼠的骨量; 胆汁酸由肝脏产生, 并被分泌到肠道, 肠道菌群可以进一步修饰和改变胆汁酸的作用形式, 次级胆汁酸由此衍变而来^[21]。胆汁酸通过介导骨形成和骨吸收来影响骨稳态, 次级胆汁酸可以促进胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)的产生, 进而促使甲状腺细胞释放降钙素, 有益于阻止骨的分解代谢。此外, GLP-1也可以正向作用于成骨细胞, 促进骨的合成代谢; 脂多糖是革兰氏阴性细菌细胞壁中的一种成分, 对宿主有毒性, 为常用的炎症造模药物, 其对维持骨内稳态有一定的消极作用。当宿主突然发生肠道菌群比例失衡时, 革兰氏阴性细菌增多, 导致更多的内毒素进入循环系统, 诱导多种炎性细胞因子的产生, 刺激破骨

细胞激活和分化, 增加骨的分解代谢, 破坏骨稳态^[22]。骨稳态与骨代谢平衡具有很大相关性, 肠道是营养物质的主要吸收部位, 肠道菌群参与着代谢平衡的维持。因此, 探索肠道菌群通过宿主代谢系统调节骨稳态的机制是至关重要的。

1.3 肠道菌群通过宿主内分泌系统调节骨稳态

肠道菌群被视为人体一种多细胞器官, 与宿主内分泌系统联系密切, 通过影响体内多种激素的代谢来参与骨稳态的维持。性激素由性腺产生, 对机体的生长发育至关重要。研究认为, 性激素可以直接作用于成骨细胞和破骨细胞及其表面相关激素受体来干预骨骼的动态平衡^[23]。KENKRE等^[24]证实了雌激素通过与破骨细胞表面的雌激素受体结合, 可以使破骨细胞数目减少, 并对成骨细胞产生保护作用, 此外, 还证明了雄激素与成骨细胞表面的雄激素受体结合后, 会抑制骨的分解代谢对骨稳态的损伤。肠道菌群通过与性激素产生紧密的信号交流, 协同调节骨稳态。在一项研究中, 作者阐述了肠道菌群在改善性激素缺失造成的骨细胞数量减少中发挥的关键作用^[25]。MARKLE等^[26]通过菌群移植的方式, 验证了肠道菌群与宿主体内的性激素释放水平存在相关性, 从而能够间接调节骨骼的动态平衡; 机体几乎所有组织都会产生胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1), IGF-1是一种影响骨骼生长的激素。成骨细胞是IGF-1调节骨稳态的主要靶点, IGF-1可以直接作用于成骨细胞上的IGF-1受体, 诱导成骨细胞募集和分化, 进而促进骨形成。肠道菌群的改变也会影响血清IGF-1的水平。YAN等^[27]发现, 应用菌群定植后可使小鼠体内IGF-1水平和骨形成增加; 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是一种神经递质, 在调节骨发育中具有双重作用。外周循环产生的5-HT对骨代谢有负向调节作用, 而中枢神经系统产生的5-HT则通过促进骨形成和抑制骨吸收来正向调节骨代谢^[28]。肠道菌群可影响5-HT的产生, 这表明肠道菌群可通过5-HT的作用来调节与神经系统相关的骨稳态; 甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)是调节骨稳态的重要激素, 间歇性接触甲状旁腺素(intermittent exposure to parathyroid hormone, iPTH)会导致骨的合成代谢效应。iPTH通过激活Wnt信号通路, 使成骨细胞活性增强, 增加骨形成^[29]。肠道菌群对iPTH的骨合成代谢活性起着关键作用。LI等^[30]表明, 肠道菌群的参与是iPTH在骨

小梁的合成代谢活动中必不可少的条件。综上,肠道菌群可作为基于宿主内分泌系统调节骨稳态的生物标志物,其有望成为治疗骨相关性疾病的潜在靶点。

2 外泌体对骨稳态的影响

外泌体是由各种细胞分泌的纳米大小的胞外囊泡,含有一种特殊的蛋白质、脂类和核酸(DNA、mRNA、microRNA和非编码RNA),对于调节细胞间通讯至关重要^[31]。外泌体的研究变得越来越有吸引力,其被认为是调节各种细胞生理和病理功能的关键因子。骨是一种复合组织,其基质由蛋白质和矿物质组成,通过成骨细胞、破骨细胞和骨细胞的协调作用不断进行建模和重塑,骨组织重塑涉及骨形成和骨吸收过程之间的平衡。研究表明,外泌体在维持骨组织稳态中发挥关键作用,这与它们在常驻骨细胞或微环境中的来源有关^[32]。外泌体介导着成骨细胞、破骨细胞和骨细胞之间的相互作用与其微环境的串扰作用,从而高度调控着骨稳态。

2.1 成骨细胞来源的外泌体调节骨稳态

成骨细胞介导着骨形成,骨形成依赖于外泌体的功能。成骨细胞由骨髓间充质干细胞分化而来,通过释放胶原和糖蛋白来合成和矿化骨基质。在分化为成骨细胞之前,成骨前体细胞会分泌外泌体促进成骨,新形成的成骨细胞也可以分泌外泌体影响其祖细胞。研究发现,成熟的成骨细胞来源的外泌体可以引发miRNA表达谱的变化,进而协同抑制Wnt信号通路的中心组成部分*Axin1*基因的表达^[33]。结果, β -连环蛋白表达上调,导致成骨分化增强。成骨细胞来源的外泌体也可以调节血管生成,这对维持骨骼动态平衡是十分关键的。研究证明,它们通过释放基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP2),经血管内皮生长因子和细胞外信号调节蛋白途径促进内皮细胞血管生成^[34]。成骨细胞释放的外泌体对破骨细胞具有双重作用,既可以促使破骨细胞凋亡来抑制骨吸收,又可以刺激破骨细胞分化。在一项对于转基因斑马鱼骨折愈合模型的研究中,发现成骨细胞衍生的外泌体在破骨细胞内内化,进而促进破骨细胞分化^[35]。

2.2 破骨细胞来源的外泌体调节骨稳态

破骨细胞是骨吸收的基础,外泌体能够诱导破骨细胞生成和骨吸收。破骨细胞是由外周血或骨

髓、单核细胞和巨噬细胞等造血祖细胞分化而形成的多核骨细胞,破骨细胞释放的外泌体对于调节骨合成与分解代谢平衡非常重要。破骨前体细胞衍生的外泌体能够诱导破骨细胞的分化,但来源于成熟破骨细胞的外泌体在相同的培养条件下会减少破骨细胞的合成,这与成熟外泌体中存在的核因子 κ B受体活化因子(receptor activator of nuclear factor κ B, RANK)的竞争性抑制有关^[36]。破骨细胞来源的外泌体已被证明在成骨之前促进基质细胞的成骨分化,相反,这些外泌体也被证明可通过内化到成骨细胞中,抑制成骨细胞分化,减少骨的合成代谢^[37]。在骨吸收过程中,破骨细胞的吸收能力也会受到外泌体的影响。研究表明,从骨质疏松症或老年患者的血清中提取的外泌体可以促进骨吸收,骨的分解代谢增加,从而导致骨稳态失衡^[38]。此外,当骨吸收接近完成时,破骨细胞会释放外泌体阻止破骨细胞的过度合成,从而终止骨吸收。

2.3 骨细胞来源的外泌体调节骨稳态

骨细胞是骨中含量最丰富的细胞,在感知机械载荷和调节其他骨细胞的功能中发挥着至关重要的作用,是维持成熟骨新陈代谢的主要细胞^[39]。骨细胞也具有释放外泌体的能力,并且其衍生的外泌体与骨稳态之间存在一定的联系,但目前就骨细胞来源的外泌体的研究还是比较有限的。作为一种机械敏感细胞,骨细胞通过调节其外泌体对刺激做出反应,并且在机械应变作用下,骨细胞来源的外泌体可能促进成骨分化。研究表明,骨细胞在机械负荷下能够分泌外泌体,与此同时,溶酶体相关膜蛋白也在分泌中上调,并以成骨细胞为靶点来激活骨形成^[40]。一项研究在血液循环中发现了骨细胞分泌的外泌体,其含有可能有助于骨重建的miRNA^[41]。另一项研究发现,受流体剪切作用的骨细胞能够通过一组独特的外泌体促进基质前体细胞的募集,指导成骨^[42]。相反,骨细胞来源的外泌体也可作用于骨丢失过程。研究证实,糖尿病患者的骨细胞分泌的含有miR-124-3p的外泌体增加,miR-124-3p是一种与炎症和糖尿病特别相关的因子,其通过靶向作用于成骨细胞,导致骨丢失^[43]。

成骨细胞、破骨细胞和骨细胞来源的外泌体及其相互作用通过各种途径介导了对骨稳态的调节。此外,其他骨细胞或非骨细胞衍生的外泌体对骨稳态也具有一定的调节作用,深入研究各类外泌体在

维持骨稳态中发挥的功能作用, 对于保护人类骨骼健康具有指导性意义。

3 肠道菌群和外泌体的协同作用对骨稳态的影响

生物进化过程中多细胞的发展要求不同细胞类型和器官进行协调活动, 以适应不断变化的内外微环境, 不同器官间的协调活动是基于复杂多样的器官间通讯实现的^[44]。通过对器官间通讯的深入研究, 发现其交流过程是机体通过分泌不同介质实现的。外泌体已被认为是器官间通讯媒介的重要载体, 并以自分泌或旁分泌等方式对机体的健康和疾病状态进行调节^[45]。众所周知, 一个器官或组织的急慢性损伤往往会继发性引起远端器官的病变。在骨相关疾病中, 通常将骨骼视为参与器官间交流的内分泌器官^[46]。肠道菌群作为一种多细胞器官, 在外泌体的介导下与远端骨骼进行密切交流, 对调节机体内的骨稳态至关重要。

骨质疏松症是一种临床骨科系统常见疾病, 与年龄有很大相关性, 其特点是骨量丢失、骨密度和骨强度下降等, 诱发骨稳态失衡, 从而提升患者的骨折发生率。在一项实验中, 研究者分别将来自健康儿童和老年人的肠道菌群定植在传统饲养的经卵巢切除(ovariectomy, OVX)诱导的骨质疏松症小鼠中, 通过检测不同年龄段供体来源的肠道菌群对OVX小鼠成骨细胞与破骨细胞的影响, 发现来自儿童肠道菌群定植的OVX小鼠骨小梁表面的成骨细胞数量增多, 逆转了OVX诱导的破骨细胞数量和大小的增加; 抑制了血清中骨吸收标志物I型胶原羧基端交联肽水平的升高, 增加了成骨分化标志物血清骨钙素的含量; 修复了OVX对小鼠造成的新骨形成和矿化的损害^[47]。而老年人肠道菌群定植后对上述过程并未产生影响, 这提示了儿童肠道菌群移植对促进骨形成、抑制骨吸收、逆转骨代谢失衡及维持骨稳态的重要性。在此基础上, 进一步深入研究儿童肠道菌群发挥骨保护作用的关键机制, 发现儿童肠道菌群定植后逆转了OVX诱导的嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*, Akk)的减少。Akk菌存在于人和动物的胃肠道中, 是一种具有益生菌特性的微生物, 对肠道微生态具有积极作用^[48]。该研究还证实了外泌体的介导是儿童肠道菌群和Akk菌促进骨形成, 抑制骨吸收的必要条件^[47]。肠道菌群基于

外泌体的释放与远端宿主骨细胞沟通, 外泌体穿过宿主肠道屏障, 转移到骨组织中, 直接调节成骨细胞与破骨细胞。此外, 外泌体也可以调节肠道微生物群落的组成及维持其平衡, 有效预防和治疗骨质疏松、骨关节炎等疾病。研究表明, 饮食牛乳来源的外泌体可有效恢复肠道菌群的丰度, 有望成为改善骨重建和调节骨稳态的潜在候选者^[49]。ZHOU等^[50]证明, 牛奶衍生的外泌体可通过细胞间的交流改变小鼠的肠道微生物群落。TENG等^[51]表明, 植物来源的外泌体通过改变肠道菌群组成及调节细菌基因表达, 发挥其抗炎功能。GU等^[52]发现, 间充质干细胞衍生的外泌体能够改变小鼠肠道菌群结构, 促进肠道屏障功能, 减轻机体炎症反应。MIRZA等^[53]表明, 母乳来源的外泌体在塑造婴儿的初始肠道菌群和黏膜免疫方面起着至关重要的作用。此外, 相关食物提取的某些特定外泌体可以优先积聚在胃肠道的特定区域, 并参与特定肠道微生物群落的选择和功能^[54]。综上, 揭示肠道菌群和外泌体协同作用对骨稳态的调节具有一定的积极作用。以往的研究通常将肠道菌群与外泌体分别进行论述, 本文期望通过阐述肠道菌群与外泌体的相互作用关系, 能够对骨相关性疾病或其他类似疾病的治疗有所启发。基于肠道菌群与外泌体的联合疗法, 可能在未来临床治疗中具有很高的研究价值。肠道菌群与外泌体协同作用对骨稳态的影响过程见图1。

4 小结与展望

骨稳态是发挥骨骼正常生理功能的关键, 骨稳态的维持离不开成骨细胞和破骨细胞的协同作用, 成骨细胞参与骨的合成代谢, 破骨细胞参与骨的分解代谢。对于骨稳态的调节, 可以明确的是: ①肠道菌群通过宿主免疫、代谢和内分泌等系统参与骨稳态的调节, 且各系统之间紧密联系、相互影响, 协同作用; ②不同细胞来源的外泌体介导成骨细胞、破骨细胞和骨细胞的相互作用与其微环境的作用, 高度调控着骨稳态; ③肠道菌群需要在外泌体的参与下与宿主骨组织进行信号传递, 并且外泌体也可以改变肠道菌群的组成, 以此两者协同高效地调节骨稳态。基于此, 近年来衍生出了众多关于益生菌、益生元、菌群移植、肠道微生物群定向补充或直接补充外源性外泌体等不同治疗方法。此外, 从传统医学的角度出发, 阐明肠道菌群与骨相关性疾病的

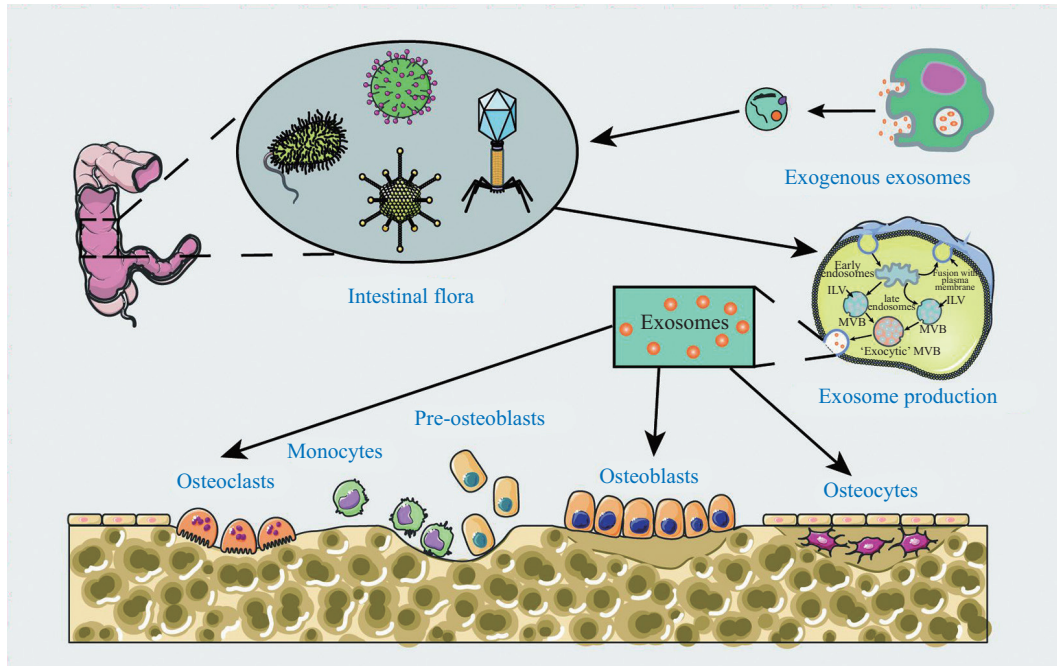


图1 肠道菌群与外泌体协同作用对骨稳态影响的机制示意图

Fig.1 Mechanism diagram of synergistic effect of intestinal flora and exosomes on bone homeostasis

关系, 对治疗方法的革新作出了巨大贡献^[55-56]。中医药的应用极具亮点, 表明了祖国医学与现代研究的可结合性, 这对疾病的预防与治疗是跨越性的进步。总之, 不管何种方式, 其目的都是为了完善肠道菌群丰度、恢复肠道菌群和外泌体功能, 逆转骨丢失造成的骨稳态失衡, 从而更好地预防和治疗骨质疏松症、骨关节炎等骨代谢性疾病。

综上, 明确了肠道菌群和外泌体及其协同作用对骨稳态可产生有益的影响, 且两者的协同可能更具研究前景, 这对完善骨相关疾病的治疗具有指导性意义。但目前就此方面的研究还是比较有限的, 且大多局限于实验研究阶段, 未来仍需要通过大量的临床试验来论证。此外, ①对于肠道菌群特定群落功能的了解, 菌群移植中的供体选择、供体样本制备和保存, 定植时间以及宿主排斥反应; ②不同细胞或体液来源的外泌体的特定功能与作用机制, 外源性外泌体的提取, 补充方式与剂量; ③肠道菌群与外泌体协同作用的具体分子机制等问题尚未得到解答, 未来还需要进一步深入研究, 以期实现以肠道菌群和外泌体为靶点的个体化治疗策略。

参考文献 (References)

- [1] 马子健, 马明领, 董辉, 等. 细胞焦亡对骨稳态的影响及展望 [J]. 中国骨质疏松杂志(MA Z J, MA M L, DONG H, et al. The

effect of pyroptosis on bone homeostasis and its prospect [J]. Chinese Journal of Osteoporosis), 2022, 28(6): 922-6.

- [2] LI C, PI G, LI F. The role of intestinal flora in the regulation of bone homeostasis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 579323.
- [3] 钟小惠, 张烽, 曹宏, 等. 肠道菌群对骨代谢性疾病作用机制的研究进展[J]. 医学综述(ZHONG X H, ZHANG F, CAO H, et al. Research progress on the mechanism of intestinal flora on bone metabolic diseases [J]. Medical Review), 2021, 27(7): 1265-71.
- [4] GAO M, GAO W, PAPADIMITRIOU J M, et al. Erratum: author correction: exosomes-the enigmatic regulators of bone homeostasis [J]. Bone Res, 2019, 7: 3.
- [5] PACIFICI R. Bone remodeling and the microbiome [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2018, 8(4): a031203.
- [6] BEHERA J, ISON J, TYAGI S C, et al. The role of gut microbiota in bone homeostasis [J]. Bone, 2020, 135: 115317.
- [7] VILLA C R, WARD W E, COMELLI E M. Gut microbiota-bone axis [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2017, 57(8): 1664-72.
- [8] D'AMELIO P, SASSI F. Gut microbiota, immune system, and bone [J]. Calcif Tissue Int, 2018, 102(4): 415-25.
- [9] CHELAKKOT C, GHIM J, RYU S H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications [J]. Exp Mol Med, 2018, 50(8): 1-9.
- [10] ZHOU D, PAN Q, XIN F Z, et al. Sodium butyrate attenuates high-fat diet-induced steatohepatitis in mice by improving gut microbiota and gastrointestinal barrier [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(1): 60-75.
- [11] PANG X X, ANSARI A R, YANG W J, et al. Visfatin regulates inflammatory mediators in mouse intestinal mucosa through toll-like receptors signaling under lipopolysaccharide stress [J]. Arch Immunol Ther Exp, 2021, 69(1): 11.
- [12] CHEN G, HUANG B, FU S, et al. G protein-coupled receptor

- 109A and host microbiota modulate intestinal epithelial integrity during sepsis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2079.
- [13] KIM J M, LIN C, STAVRE Z, et al. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis [J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2073.
- [14] LI L, RAO S, CHENG Y, et al. Microbial osteoporosis: the interplay between the gut microbiota and bones via host metabolism and immunity [J]. *Microbiologyopen*, 2019, 8(8): e810.
- [15] GUSS J D, HORSFIELD M W, FONTENELE F F, et al. Alterations to the gut microbiome impair bone strength and tissue material properties [J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(6): 1343-53.
- [16] WONGDEE K, CHANPAISAENG K, TEERAPORNPUK-TAKIT J, et al. Intestinal calcium absorption [J]. *Compr Physiol*, 2021, 11(3): 2047-73.
- [17] DE LA CUESTA-ZULUAGA J, MUELLER N T, ALVAREZ-QUINTERO R, et al. Higher fecal short-chain fatty acid levels are associated with gut microbiome dysbiosis, obesity, hypertension and cardiometabolic disease risk factors [J]. *Nutrients*, 2018, 11(1): 51.
- [18] ZHOU T, WANG M, MA H, et al. Dietary fiber, genetic variations of gut microbiota-derived short-chain fatty acids, and bone health in UK biobank [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106(1): 201-10.
- [19] LUCAS S, OMATA Y, HOFMANN J, et al. Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 55.
- [20] TYAGI A M, YU M, DARBY T M, et al. The microbial metabolite butyrate stimulates bone formation via t regulatory cell-mediated regulation of WNT10B expression [J]. *Immunity*, 2018, 49(6): 1116-31.
- [21] SINGH J, METRANI R, SHIVANAGOUDRA S R, et al. Review on bile acids: effects of the gut microbiome, interactions with dietary fiber, and alterations in the bioaccessibility of bioactive compounds [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(33): 9124-38.
- [22] WU X, ZHAO K, FANG X, et al. Inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammatory bone loss by saikosaponin D is associated with regulation of the RANKL/RANK pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 4741-57.
- [23] GOMES N A, GUARENCHI G G, VALENGA H M, et al. Mandibular-related bone metabolism in orchietomized rats treated with sex hormones [J]. *Arch Oral Biol*, 2021, 122: 105000.
- [24] KENKRE J S, BASSETT J. The bone remodelling cycle [J]. *Ann Clin Biochem*, 2018, 55(3): 308-27.
- [25] LI J Y, CHASSAING B, TYAGI A M, et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6): 2049-63.
- [26] MARKLE J G, FRANK D N, MORTIN-TOTH S, et al. Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity [J]. *Science*, 2013, 339(6123): 1084-8.
- [27] YAN J, HERZOG J W, TSANG K, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(47): E7554-63.
- [28] DUCY P, KARSENTY G. The two faces of serotonin in bone biology [J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(1): 7-13.
- [29] YU M, D'AMELIO P, TYAGI A M, et al. Regulatory T cells are expanded by teriparatide treatment in humans and mediate intermittent PTH-induced bone anabolism in mice [J]. *EMBO Rep*, 2018, 19(1): 156-71.
- [30] LI J Y, YU M, PAL S, et al. Parathyroid hormone-dependent bone formation requires butyrate production by intestinal microbiota [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(4): 1767-81.
- [31] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [32] COLLISON J. Bone: extracellular vesicles in bone cell crosstalk [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(1): 2-3.
- [33] 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): 185-92.
- [34] TANG H, HE Y, LI L, et al. Exosomal MMP2 derived from mature osteoblasts promotes angiogenesis of endothelial cells via VEGF/Erk1/2 signaling pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 383(2): 111541.
- [35] KOBAYASHI-SUN J, YAMAMORI S, KONDO M, et al. Uptake of osteoblast-derived extracellular vesicles promotes the differentiation of osteoclasts in the zebrafish scale [J]. *Commun Biol*, 2020, 3(1): 190.
- [36] HUYNH N, VONMOSS L, SMITH D, et al. Characterization of regulatory extracellular vesicles from osteoclasts [J]. *J Dent Res*, 2016, 95(6): 673-9.
- [37] CHEN C, ZHENG R Q, CAO X C, et al. Biological characteristics of osteoclast exosomes and their role in the osteogenic differentiation of somatic cells prior to osteogenesis [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2018, 32(4): 815-23.
- [38] XIE Y, GAO Y, ZHANG L, et al. Involvement of serum-derived exosomes of elderly patients with bone loss in failure of bone remodeling via alteration of exosomal bone-related proteins [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(3): e12758.
- [39] TRESGUERRES F, TORRES J, LOPEZ-QUILES J, et al. The osteocyte: a multifunctional cell within the bone [J]. *Ann Anat*, 2020, 227: 151422.
- [40] MORRELL A E, BROWN G N, ROBINSON S T, et al. Mechanically induced Ca^{2+} oscillations in osteocytes release extracellular vesicles and enhance bone formation [J]. *Bone Res*, 2018, 6: 6.
- [41] SATO M, SUZUKI T, KAWANO M, et al. Circulating osteocyte-derived exosomes contain miRNAs which are enriched in exosomes from MLO-Y4 cells [J]. *Biomed Rep*, 2017, 6(2): 223-31.
- [42] EICHHOLZ K F, WOODS I, RIFFAULT M, et al. Human bone marrow stem/stromal cell osteogenesis is regulated via mechanically activated osteocyte-derived extracellular vesicles [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2020, 9(11): 1431-47.
- [43] LI J, GUO Y, CHEN Y Y, et al. miR-124-3p increases in high glucose induced osteocyte-derived exosomes and regulates galectin-3 expression: a possible mechanism in bone remodeling alteration in diabetic periodontitis [J]. *FASEB J*, 2020, 34(11): 14234-49.
- [44] HERRLICH A, KEFALOYIANNI E, ROSE-JOHN S. Mechanisms of interorgan crosstalk in health and disease [J]. *FEBS Lett*, 2022, 596(5): 529-33.
- [45] HUANG Z, XU A. Adipose extracellular vesicles in intercellular and inter-organ crosstalk in metabolic health and diseases [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 608680.
- [46] BERGER J M, KARSENTY G. Osteocalcin and the physiology of danger [J]. *FEBS Lett*, 2022, 596(5): 665-80.

- [47] LIU J H, CHEN C Y, LIU Z Z, et al. Extracellular vesicles from child gut microbiota enter into bone to preserve bone mass and strength [J]. *Adv Sci*, 2021, 8(9): 2004831.
- [48] GRAJEDA-IGLESIAS C, DURAND S, DAILLIERE R, et al. Oral administration of *Akkermansia muciniphila* elevates systemic antiaging and anticancer metabolites [J]. *Aging*, 2021, 13(5): 6375-405.
- [49] YUN B, MABURUTSE B E, KANG M, et al. Short communication: dietary bovine milk-derived exosomes improve bone health in an osteoporosis-induced mouse model [J]. *J Dairy Sci*, 2020, 103(9): 7752-60.
- [50] ZHOU F, PAZ H A, SADRI M, et al. Dietary bovine milk exosomes elicit changes in bacterial communities in C57BL/6 mice [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2019, 317(5): G618-24.
- [51] TENG Y, REN Y, SAYED M, et al. Plant-derived exosomal microRNAs shape the gut microbiota [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(5): 637-52.
- [52] GU L, REN F, FANG X, et al. Exosomal microRNA-181a derived from mesenchymal stem cells improves gut microbiota composition, barrier function, and inflammatory status in an experimental colitis model [J]. *Front Med*, 2021, 8: 660614.
- [53] MIRZA A H, KAUR S, NIELSEN L B, et al. Breast milk-derived extracellular vesicles enriched in exosomes from mothers with type 1 diabetes contain aberrant levels of microRNAs [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2543.
- [54] DIEZ-SAINZ E, LORENTE-CEBRIAN S, ARANAZ P, et al. Potential mechanisms linking food-derived micromas, gut microbiota and intestinal barrier functions in the context of nutrition and human health [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 586564.
- [55] 马智勇, 于海洋, 张晓刚, 等. 基于“肠道微生态”浅析中医五脏一体与骨质疏松症的相关性[J]. *中国骨质疏松杂志*(MA Z Y, YU H Y, ZHANG X G, et al. Analysis of the relationship between the five zang-organs in TCM and osteoporosis based on “intestinal microecology” [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*), 2022, 28(7): 1029-33.
- [56] 曹盼举, 张晓刚, 于海洋, 等. 基于中医学“肺与大肠相表里”理论的肠道微生态与骨质疏松症的关系探讨[J]. *时珍国医国药*(CAO P J, ZHANG X G, YU H Y, et al. Study on the relationship between intestinal microecology and osteoporosis based on the theory of “lung and large intestine being interior-exteriorly related” in TCM [J]. *Shizhen National Medicine National Medicine*), 2019, 30(10): 2457-9.