

细胞外囊泡与自噬的串扰作用在骨性关节炎中的应用

宋浩

成都中医药大学附属医院骨科, 四川 成都

收稿日期: 2024年3月23日; 录用日期: 2024年4月16日; 发布日期: 2024年4月24日

摘要

骨关节炎(OA)是最常见的慢性关节疾病,患病率随着年龄的增长而增加,并影响到大多数65岁以上的人。影响超过2.4亿人,是致残的主要原因。其病理学特征是进行性软骨变性,软骨下骨重塑和骨冗余形成增加,对患者的家庭和社会构成巨大负担,虽然一些与OA相关的危险因素已被提出,包括遗传易感性、衰老、肥胖和关节排列不良,但由于对软骨基质降解和OA发生的确切分子机制知之甚少,目前除了药物干预与全关节置换手术外,尚无有效的干预措施来减缓OA的进展或延缓软骨的不可逆降解。越来越多的证据表明细胞外囊泡(Extracellular Vesicles, EVs)和自噬在OA的进展和治疗中发挥着重要作用,本文主要综述了细胞外囊泡与自噬之间的相互作用在治疗OA中的潜在治疗策略。

关键词

细胞外囊泡, 骨关节炎, 自噬, 药物载体, 相互作用

The Application of the Interaction between Extracellular Vesicles and Autophagy in Osteoarthritis

Hao Song

Department of Orthopedics, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Received: Mar. 23rd, 2024; accepted: Apr. 16th, 2024; published: Apr. 24th, 2024

Abstract

Osteoarthritis (OA) is the most common chronic joint disease, increasing in prevalence with age and affecting the majority of people over the age of 65. Affecting more than 240 million people, it is a leading cause of disability. Its pathologic features are progressive cartilage degeneration, in-

creased subchondral bone remodeling and bone redundancy formation, which pose a great burden to the patient's family and society. Although a number of risk factors associated with OA have been proposed, including genetic predisposition, aging, obesity, and poor joint alignment, little is known about the exact molecular mechanisms underlying the degradation of cartilage matrix and the occurrence of OA. At present, except for drug intervention and total joint replacement, there is no effective intervention to slow the progression of OA or delay the irreversible degradation of cartilage. There is increasing evidence that extracellular vesicles (EVs) and autophagy play an important role in the progression and treatment of OA. This article mainly reviews the potential therapeutic strategies of the interaction between extracellular vesicles and autophagy in the treatment of OA.

Keywords

Extracellular Vesicles, Osteoarthritis, Autophagy, Drug Carrier, Interaction

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

骨关节炎(OA)是一种常见的退行性疾病,以滑膜增生、骨赘形成、软骨下骨硬化、进行性关节软骨破坏、细胞外基质合成和分解代谢失衡引起的软骨丢失为特征[1]。并且 OA 是一种整个关节的疾病,包括关节软骨、软骨下骨、韧带、关节囊、滑膜和关节周围肌肉的结构改变,与男性相比,女性发生有症状的骨性关节炎比男性多 13% [2],伴随着关节软骨的逐渐退化,这导致关节活动度和功能的丧失,最终导致患者由于疼痛和生活方式受限而生活质量低下。OA 的症状特点是疼痛、关节僵硬和关节肿胀。OA 的严重阶段还包括骨赘和滑膜炎的形成等症状[3]。

OA 的传统治疗包括疼痛管理和关节置换术治疗终末期疾病,这种方法不能降低疾病早期阶段的发病率,也不能解决关节置换手术的局限性[4]。目前 OA 药物和其他形式的治疗大多提供症状缓解,但不能修复已经发生的软骨损伤,手术仍然是目前唯一有效的治疗晚期 OA 的策略。因为目前仍未找到更有效疗法减缓 OA 的进展或延缓软骨的不可逆降解,近年来,细胞外囊泡作为骨性关节炎领域的研究热点,在 OA 治疗方面取得了显著进展。细胞外囊泡(EVs)由 Wolf 首先在血浆中观察到,并将它们称为“血小板尘埃”。细胞外囊泡(EVs)以前被认为是惰性细胞碎片,称其为废物细胞,它是由于细胞损伤或动态质膜更新的结果而产生的[5]。囊泡多年来有不同的名称,但今天通常统称为 EV。根据其释放机制和大小,主要有三种类型的 EV:外泌体(直径小于 150 nm),微囊泡/脱落颗粒和凋亡体(两者都被认为大于 100 nm) [6],本综述中提到的细胞外囊泡主要是指外泌体。自噬是一种细胞内降解过程,通过形成名为自噬体的双膜囊泡,其通过与溶酶体融合而降解,参与清除蛋白质和受损细胞器的过程。而细胞外囊泡与自噬结合的作用也被认为是未来治疗骨性关节炎的潜在治疗靶点。

2. 细胞外囊泡与自噬

2.1. 细胞外囊泡的生物发生、组成及功能

2.1.1. 细胞外囊泡的生物发生

细胞外囊泡的生物发生机制主要包括内质层的双重侵入,以及含有体腔内囊泡(ILV)的细胞内多泡体

(MVB)的形成。ILV 最终以外泌体的方式产生,其尺寸可能是直径大约为 40 至 160 nm,由 MVB 结合的质膜和胞吐,然后再将其从 ILV 中分泌到胞外的,而质膜的第一次侵入产生了杯型结构,其中包含细胞表面蛋白和一个胞外环境,这就是早期分选内体(ESE)的从头形成,ESE 可以成熟为晚期分选内体(LSE),并最终产生 MVB,也称为多泡内体。MVB 通过内体限制膜的向内侵袭(即质膜的双重内侵)而形成。MVB 还可以直接和自噬体结合,其中内含物可以直接从溶小体中分解。降解的物质也可以被循环使用。同时 MVB 还可能通过直接和溶小体结合来完成分解。不符合这种轨迹的 MVB,可以先经由细胞骨架和微管网络传递到质膜,然后再在 MVB 连接蛋白的帮助下,对接到质膜的内腔侧。然后再发生胞吐,分泌细胞外囊泡。由于特殊的生物发生机制,使得细胞外囊泡膜与同源细胞具有相同的质膜,并且富含内体相关蛋白,脂质和四肽,如细胞外囊泡上存在的四跨膜蛋白(跨膜蛋白) CD81 和 CD9 参与增强病毒进入细胞,是通过稳定含有病毒颗粒的外泌体与细胞质膜的相互作用和病毒成分的递送[7]。

2.1.2. 细胞外囊泡的组成及功能

细胞外囊泡(EVs)已被认定为是胞间通信的新成员,它可以携带生物蛋白质,包括 DNA, RNA, 蛋白质,脂类及其代谢物[8]。细胞外囊泡(EVs)的研究工作将有机会发现与细胞内通讯的重要器官稳态,以及疾病时未知的蛋白质和小分子机制。平均直径约为 100 nm 的外泌体是 EV 的一个子集。外泌体是由包含蛋白质,核酸,脂类以及其他化合物的脂质双层薄膜所构成的小囊泡。它含有保守的化合物,包含四肽蛋白(CD9, CD63, CD81), ALIX, flotillin, TSG101, 免疫调节蛋白(MHC), 热休克蛋白(HSP70, HSP90)和 CD47 [9]。其中 CD9、CD81、CD63、flotillin、TSG101 和 ALIX 是外泌体生物标志物,参与生物发生、货物聚集和外泌体分泌, MHC 控制免疫细胞之间抗原信息的交换[10]。HSP90 和 HSP70 可以帮助外泌体适应细胞外环境[11]; 外泌体上的 CD47 通过产生特定信息防止外泌体被单核细胞和巨噬细胞吞噬消化,从而提高它们在体内的稳定性[12]。除了这些固有蛋白质以外,外泌体也可以表达一些特异性蛋白质。EV 不仅是生物蛋白质的分子媒介,其细胞膜上也存在许多配体也能够实现蛋白质之间的通信。一方面, EV 可利用细胞膜上的信息通道间接地发挥功能作用。同时,它能够和细胞膜结合,进而将信号物质传递至细胞质内,进而进行兴奋或控制特定的胞内行为。另外, EV 能够经由内吞方式进入细胞,进而将其内含物质携带至其细胞器内。是各种细胞生命活动的非常有效的媒介,并 EV 且参与了细胞内部的讯息交流过程。EV 的摄取并非随意的,是依靠细胞外囊泡内的蛋白质和受体细胞之间的相互作用。EV 上的粘附性相关物质(例如四肽、糖蛋白和整合素)决定了哪些细胞接受细胞外囊泡,例如:含有四糖素 8 (TSPAN8)和整合素 $\alpha 4$ 的 EV,最易接受 CD54 的胰腺细胞吸收[13]。EV 的 TSPAN8- $\alpha 4$ 整合素(CD49d)促进 EV 和大脑微血管内皮细胞的融合并被大脑微血管内皮细胞捕获,从而促使血栓形成[14]。

2.2. 自噬的过程

自噬是一种自我降解过程,发生在所有真核细胞中,用于维持体内平衡和细胞存活[15]。在基础条件下,自噬降解细胞质物质,如长寿命蛋白质和旧细胞器,以更新细胞成分。在饥饿或缺氧等压力条件下,诱导自噬以回收大分子,提供能量和营养。自噬始于形成独特的光滑双膜吞噬团,捕获胞质物质;闭合后,形成自噬体囊泡,并与溶酶体融合后,内膜和货物被降解并随后回收[16]。自噬过程包括五个主要阶段:启动,成核,伸长和成熟,融合和降解[17]。雷帕霉素(mTOR)的哺乳动物靶标是起始阶段的关键相关因子,其中 Akt 和 MAPK 信号抑制自噬,而 AMPK 和 P53 信号诱导自噬。在应激条件下, mTOR 失活,而 ULK 复合物(由 ULK1, FIP200 和自噬相关蛋白 13 [Atg13]组成)被激活[18]。Beclin-1 是自噬体形成的重要分子[19],然后与 Vps34 和 Atg14L 形成复合物,促进成核阶段并从细胞质中招募蛋白质。在伸长和成熟阶段,需要两个泛素样缀合系统来促进自噬体膜的延伸。第一个系统涉及微管相关蛋白轻链 3 (LC3)-磷脂酰乙醇胺(PE)复合物。LC3 在其 C 端被 Atg4 切割以产生细胞内 LC3-I,其在 Atg7 和 Atg3 的

泛素样反应中与 PE 偶联。LC3 (LC3-II)的脂质形式附着在自噬体膜上。第二个系统涉及 Atg12-Atg5-Atg16 复合物,其中 Atg12 通过 Atg7 和 Atg10 的泛素样反应与 Atg5 偶联。Atg12-Atg5 共轭物与 Atg16 非共价相互作用形成大配合物。在融合阶段,自噬体和溶酶体融合形成自溶体,而在降解阶段,自溶体内的货物被降解。

3. 细胞外囊泡与自噬的串扰作用在骨性关节炎的应用

基于现有研究,我们将自噬与细胞外囊泡之间的相互作用归纳为两个方面:第一,自噬体与细胞外囊泡生物发生之间通过共享的分子存在联系,这对机体的正常生理和病理具有重要意义,自噬与细胞外囊泡共享的分子基础,包括自噬相关蛋白和 EV 生物发生途径中的一个关键蛋白家族;第二,细胞外囊泡调控自噬相关信号通路在骨性关节炎的发生发展中起到重要作用。

3.1. 自噬调控外泌体的生物发生与释放

自噬相关蛋白直接介导了自噬和 EV 之间的串扰,自噬相关分子参与细胞外囊泡的生物发生过程而非自噬过程[20],其中 ATG5 和 ATG16L1 在细胞外囊泡生物发生中发挥着关键的非自噬功能,ATG16L1 可以诱导分泌含有特定抗菌蛋白的外泌体,敲除 ATG16L1 后,细胞上清液中的外泌体数量减少[21],证实其参与了外泌体的生物合成。与 ATG16L1 一致,ATG5 也同时影响外泌体的生物发生。ATG5 介导质子泵从 MVBs 分离,阻止 MVBs 腔的酸化,从而使 MVBs 与质膜融合,介导外泌体的释放,敲除 ATG5 或 ATG16L1 可显著减少外泌体的释放[22]。ATG12-ATG3 复合物通过与 ALG-2 相互作用蛋白 X (ALIX, 也称为 PDCD6IP)相互作用来调节外泌体生物发生,ALIX 蛋白是外泌体生物发生过程中至关重要的 ESCRT 相关蛋白。研究指出,ATG12-ATG3 的缺失能够改变 MVB 形态,阻碍晚期体内运输并减少外泌体的生物发生。ALIX 敲除后自噬水平下降,这表明自噬和外泌体生物发生之间存在相互调节的关系[23]。自噬过程中的关键信号蛋白也介导 EV 的释放。研究发现 mTORC1 的持续激活抑制外泌体的释放,导致 CD63 阳性的外泌体前体在细胞内积累。营养物质的剥夺可以抑制 mTORC1,诱导自噬,刺激外泌体的释放,并且 mTORC1 的抑制并没有显著改变外泌体中的大多数蛋白和 miRNA 谱[24],因此进一步证明自噬影响外泌体的释放,而不影响外泌体货物的装载。mTORC1 在外泌体生物发生的晚期阶段起作用,可能在 MVB 与 PM 的对接/融合阶段起作用。mTORC1 同时调节自噬和外泌体,使细胞能够协调废物管理和回收,这可能在各种不利条件下的细胞适应性中发挥关键作用。并且介导 EV 膜锚定和融合的蛋白家族也参与了自噬和 EV 之间的串扰。SNARE 蛋白不仅促进 MVBs 与质膜的融合,还介导自噬膜的融合。另外有研究表明,自噬体的成熟需要膜融合,这依赖于 SNARE 家族中的 VAMP7、Syntaxin7 和 Syntaxin8。VAMP7 在外泌体分泌中起关键作用,是自噬通量的关键分子[25]。越来越多的蛋白质被发现自噬和 EV 之间的串扰中发挥重要作用;然而,现有的研究主要集中在它们发生途径中的经典蛋白。外泌体和自噬研究主要使用细胞培养系统进行,这需要使用动物模型和生理学相关实验条件进行进一步验证,这些相同的调控通路是否存在于不同的细胞物种之间也需要进一步研究证明。

3.2. 细胞外囊泡调控自噬相关信号通路

细胞外囊泡可通过调控自噬参与心肌缺血再灌注损伤、糖尿病肾病、骨关节炎等多种疾病的发生发展,本节就细胞外囊泡调控自噬信号通路在骨性关节炎中的应用作一叙述。近年来研究发现,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路、Toll 样受体信号通路,Beclin-1 信号通路 PI3K/Akt/mTOR 号信号通路等均是细胞外囊泡调控自噬的重要相关通路,参与细胞外囊泡调控自噬的过程,其中细胞外囊泡基于 PI3K-AKT-mTOR 信号通路调控自噬来调控软骨细胞,进而改善软骨病变。磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/Akt/mTOR 信号通路(PI3K/Akt/mTOR 信号通路)是重要的细胞内信号转导通路,在细胞增殖、生

长、存活、囊泡运输、葡萄糖转运、细胞骨架组织、肿瘤发生发展等方面发挥重要作用；其同时也是调控自噬的经典通路。多种分子，包括胰岛素、葡萄糖、许多生长因子和细胞因子可以启动 PI3K/AKT/mTOR 信号转导 5fan。细胞外囊泡被发现可以广泛调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路在各种疾病中发挥作用，姚等人[26]发现 M2 巨噬细胞来源的细胞外囊泡 microRNA 通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制胶质瘤细胞迁移和侵袭，Wei 等人[27]发现来自人羊膜上皮细胞的 PI3K-AKT-mTOR 介导的血管生成和成纤维细胞功能的促进来加速糖尿病伤口愈合。同样有研究发现，细胞外囊泡通过调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路在 OA 中起作用，Wu 等人[28]发现髌下脂肪垫(IPFP) MSC 衍生的外泌体通过抑制 mTOR 部分增强软骨细胞的自噬水平，并保护 OA 小鼠免受关节软骨损伤。mTOR 通路是自噬的关键抑制因子，受 PI3K/AKT、AMPK61 等上游信号通路的中枢调控。骨关节炎软骨 mTOR 上调与软骨细胞凋亡增加和自噬相关基因表达下降有关。软骨敲低 mTOR 可上调自噬，减少凋亡，改变小鼠软骨内稳态[29]，抑制 mTOR 和软骨特异性的缺失可延缓 OA 的发生发展。mTOR 通过直接或间接激活 Akt 可使细胞中靶蛋白磷酸化，抑制 mTORC1 与 p70S6 等复合物活性，诱导自噬发生[30]。另外有研究发现姜黄素基于 Akt/mTOR 信号通路作用于手术诱导的 OA 小鼠可提升细胞自噬水平增加细胞活力，缓解细胞凋亡程度，研究表明 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对于细胞自噬发生起到重要作用[31]，经典 PI3K 信号通路参与抑制自噬的发生。PI3K 通过生长因子受体信号通路激活，激活的 I 型 PI3K 能在细胞中产生第二信使磷脂酰肌醇-3,4,5-三激酶(PIP3)，随着 PIP3 激活 PDK1，同时在 PDK1 的协助下磷酸化 AKT，AKT 并抑制 TSC1/2 复合物，从而使得 mTORC1 被激活，从而抑制自噬[32]。另外 mTORC2 与细胞骨架的重组与细胞的存活有关，其磷酸化可激活 AKT，进而抑制细胞自噬的发生[33]。另外 PI3K/AKT/mTOR 是骨关节炎软骨下骨代谢的关键通路，在创伤后骨性关节炎小鼠模型中，软骨下骨可见 AKT 磷酸化增加，促进成骨分化和成骨细胞增殖，并导致异常的骨形成。相比之下，PI3K/AKT 抑制剂(LY294002)治疗可通过减少 OA 小鼠的成骨来减少软骨下骨硬化，并同时减轻软骨变性[34]。

4. 细胞外囊泡递送自噬相关药物治疗骨性关节炎的前景

细胞外囊泡(EVs)在细胞内通讯中起重要作用，在正常和病理状态下参与多种生物学功能。通过各种配体(如蛋白质、多肽或适配体)对细胞外囊泡进行表面修饰，作为实现治疗性货物靶向输送的手段，即在药物输送系统(DDS)中有着巨大的潜力。细胞外囊泡是参与材料细胞间运输的细胞衍生的天然纳米囊泡，这些天然的纳米载体用于药物输送，与合成药物载体相比，从患者自身细胞中分离的细胞外囊泡具有更高的生物相容性和更低的毒性[35]。细胞外囊泡也可以渗透到组织中，扩散到血液中，甚至穿过血脑屏障(BBB) [36]，同样细胞外囊泡也是高度可工程化的，细胞外囊泡表面蛋白的工程化设计赋予细胞和组织特异性[37]。目前通过调控自噬的途径的药物来治疗骨性关节炎也是很好的一种治疗手段，雷帕霉素是一种 mTOR 抑制剂，已被证明可以在小鼠 OA 模型中关节内注射时延缓软骨变性[38]。白藜芦醇(RSV)可以激活自噬启动子 Sirtuin 1 (SIRT1)，从而抑制 OA 进展[39]。另外姜黄素预处理通过激活自噬和抑制核因子- κ B (NF- κ B)信号通路，减少了大鼠原代软骨细胞中 IL-1 β 诱导的凋亡[40]。靶向应用药物调节软骨细胞自噬水平有望为 OA 的临床治疗提供更多选择，但细胞外囊泡作为新兴的药物载体，在应用方面仍存在许多挑战，传统培养的细胞外囊泡产量较低，纯度不够，天然细胞外囊泡自身趋向性及作用靶点尚未清楚，但也为 OA 的治疗提供了令人兴奋的前景。

5. 小结

一般来说，细胞外囊泡和自噬密切相关，这篇综述中，我们介绍了细胞外囊泡与自噬过程，我们也通过确定细胞外囊泡与自噬之间具有相互影响的关键信号通路和靶点，提出了治疗和预防骨性关节炎新

思路。自噬可以影响细胞外囊泡的生物发生和释放,以维持生理条件下的细胞内稳态。细胞外囊泡也可以通过调控自噬的相关信号通路在骨性关节炎中提供治疗和预防的潜在策略,并且细胞外囊泡还因为其天然纳米载体的特性可以作为自噬相关药物的传递载体在骨性关节炎中发挥作用,增加相关自噬药物生物利用率及穿越生物屏障的能力,经过几十年的发展,我们对自噬和细胞外囊泡的研究逐渐取得了进展,但仍有一些问题一直困扰着研究人员。例如,不同亚型 EV 之间的分子差异究竟是什么?不同亚型 EV 引起细胞自噬变化的机制有何不同?这些都需要后续在动物模型和生理学相关实验条件下进行进一步验证。

参考文献

- [1] Xie, F., Liu, Y.L., Chen, X.Y., Li, Q., Zhong, J., Dai, B.Y., Shao, X.F. and Wu, J. (2020) Role of MicroRNA, LncRNA, and Exosomes in the Progression of Osteoarthritis: A Review of Recent Literature. *Orthopaedic Surgery*, **12**, 708-716. <https://doi.org/10.1111/os.12690>
- [2] Blagojevic, M., Jinks, C., Jeffery, A. and Jordan, J. (2010) Risk Factors for Onset of Osteoarthritis of the Knee in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*, **18**, 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2009.08.010>
- [3] Rim, Y.A., Nam, Y. and Ju, J.H.J. (2020) The Role of Chondrocyte Hypertrophy and Senescence in Osteoarthritis Initiation and Progression. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article No. 2358. <https://doi.org/10.3390/ijms21072358>
- [4] Tao, S.C., Yuan, T., Zhang, Y.L., Yin, W.J., Guo, S.C. and Zhang, C. (2017) 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. *Theranostics*, **7**, 180-195. <https://doi.org/10.7150/thno.17133>
- [5] Mustonen, A.M. and Nieminen, J. (2021) Extracellular Vesicles and Their Potential Significance in the Pathogenesis and Treatment of Osteoarthritis. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, **14**, Article No. 315. <https://doi.org/10.3390/ph14040315>
- [6] Abramoff, B. and Caldera, F.E.J. (2020) Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options. *The Medical Clinics of North America*, **104**, 293-311. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.10.007>
- [7] Kalluri, R. and LeBleu, V.S.J. (2020) The Biology, Function, and Biomedical Applications of Exosomes. *Science (New York, N.Y.)*, **367**, Eaa6977. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- [8] Wang, C., Li, Z., Liu, Y. and Yuan, J. (2021) Exosomes in Atherosclerosis: Performers, Bystanders, Biomarkers, and Therapeutic Targets. *Theranostics*, **11**, 3996-4010. <https://doi.org/10.7150/thno.56035>
- [9] Jeppesen, D.K., Fenix, A.M., Franklin, J.L., Higginbotham, J.N., Zhang, Q., Zimmerman, L.J., Liebler, D.C., Ping, J., Liu, Q., Evans, R., Fissell, W.H., Patton, J.G., Rome, L.H., Burnette, D.T. and Coffey, R.J. (2019) Reassessment of Exosome Composition. *Cell*, **177**, 428-445.E18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.029>
- [10] Zhang, X., Huebner, J.L. and Kraus, V.B. (2021) Extracellular Vesicles as Biological Indicators and Potential Sources of Autologous Therapeutics in Osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 8351. <https://doi.org/10.3390/ijms22158351>
- [11] Zhang, G., Liu, Z., Ding, H., Zhou, Y., Doan, H.A., Sin, K. W.T., Zhu, Z.J., Flores, R., Wen, Y., Gong, X., Liu, Q. and Li, Y. (2017) Tumor Induces Muscle Wasting in Mice through Releasing Extracellular Hsp70 and Hsp90. *Nature Communications*, **8**, Article No. 589. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00726-x>
- [12] Kamekar, S., LeBleu, V.S., Sugimoto, H., Yang, S., Ruvivo, C.F., Melo, S.A., Lee, J.J. and Kalluri, R.J. (2017) Exosomes Facilitate Therapeutic Targeting of Oncogenic KRAS in Pancreatic Cancer. *Nature*, **546**, 498-503. <https://doi.org/10.1038/nature22341>
- [13] Rana, S., Yue, S., Stadel, D. and Zöller, M. (2012) Toward Tailored Exosomes: The Exosomal Tetraspanin Web Contributes to Target Cell Selection. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **44**, 1574-1584. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.06.018>
- [14] Nazarenko, I., Rana, S., Baumann, A., McAlear, J., Hellwig, A., Trendelenburg, M., Lochnit, G., Preissner, K.T. and Zöller, M. (2010) Cell Surface Tetraspanin Tspan8 Contributes to Molecular Pathways of Exosome-Induced Endothelial Cell Activation. *Cancer Research*, **70**, 1668-1678. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2470>
- [15] Musumeci, G., Castrogiovanni, P., Trovato, F.M., Weinberg, A.M., Al-Wasiyah, M.K., Alqahtani, M.H. and Mobasher, A. (2015) Biomarkers of Chondrocyte Apoptosis and Autophagy in Osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 20560-20575. <https://doi.org/10.3390/ijms160920560>
- [16] Colletti, M., Ceglie, D., Di Giannatale, A. and Nazio, F. (2021) Autophagy and Exosomes Relationship in Cancer: Friends or Foes? *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article ID: 614178.

- <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.614178>
- [17] Zada, S., Hwang, J.S., Ahmed, M., Lai, T.H., Pham, T.M., Elashkar, O. and Kim, D.R. (2021) Cross Talk between Autophagy and Oncogenic Signaling Pathways and Implications for Cancer Therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Reviews on Cancer*, **1876**, Article ID: 188565. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188565>
- [18] Li, X., He, S. and Ma, B.J. (2020) Autophagy and Autophagy-Related Proteins in Cancer. *Molecular Cancer*, **19**, Article No. 12. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-1138-4>
- [19] He, C. and Klionsky, D. (2009) Regulation Mechanisms and Signaling Pathways of Autophagy. *Annual Review of Genetics*, **43**, 67-93. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102808-114910>
- [20] Liang, X.H., Jackson, S., Seaman, M., Brown, K., Kempkes, B., Hibshoosh, H. and Levine, J. (1999) Induction of Autophagy and Inhibition of Tumorigenesis by Beclin 1. *Nature*, **402**, 672-676. <https://doi.org/10.1038/45257>
- [21] Hassanpour, M., Rezaabakhsh, A., Rezaie, J., Nouri, M. and Rahbarghazi, R. (2020) Exosomal Cargos Modulate Autophagy in Recipient Cells via Different Signaling Pathways. *Cell & Bioscience*, **10**, Article No. 92. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00455-7>
- [22] Xu, J., Camfield, R. and Gorski, S.M.J. (2018) The Interplay between Exosomes and Autophagy—Partners in Crime. *Journal of Cell Science*, **131**, Jcs215210. <https://doi.org/10.1242/jcs.215210>
- [23] Murrow, L., Malhotra, R. and Debnath, J. (2015) ATG12-ATG3 Interacts with Alix to Promote Basal Autophagic Flux and Late Endosome Function. *Nature Cell Biology*, **17**, 300-310. <https://doi.org/10.1038/ncb3112>
- [24] Yang, X., Song, X., Li, Z., Liu, N., Yan, Y. and Liu, B.J. (2021) Crosstalk between Extracellular Vesicles and Autophagy in Cardiovascular Pathophysiology. *Pharmacological Research*, **172**, Article ID: 105628. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105628>
- [25] Nair, U., Jotwani, A., Geng, J., Gammoh, N., Richerson, D., Yen, W.L., Griffith, J., Nag, S., Wang, K., Moss, T., Baba, M., McNew, J.A., Jiang, X., Reggiori, F., Melia, T.J. and Klionsky, J. (2011) SNARE Proteins Are Required for Macroautophagy. *Cell*, **146**, 290-302. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.022>
- [26] Yao, J., Wang, Z., Cheng, Y., Ma, C., Zhong, Y., Xiao, Y., Gao, X. and Li, J. (2021) Correction to: M2 Macrophage-Derived Exosomal MicroRNAs Inhibit Cell Migration and Invasion in Gliomas through PI3K/AKT/MTOR Signaling Pathway. *Journal of Translational Medicine*, **19**, Article No. 263. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-02920-4>
- [27] Wei, P., Zhong, C., Yang, X., Shu, F., Xiao, S., Gong, T., Luo, P., Li, L., Chen, Z., Zheng, Y. and Xia, J. (2020) Exosomes Derived from Human Amniotic Epithelial Cells Accelerate Diabetic Wound Healing via PI3K-AKT-MTOR-Mediated Promotion in Angiogenesis and Fibroblast Function. *Burns & Trauma*, **8**, Tkaa020. <https://doi.org/10.1093/burnst/tkaa020>
- [28] Wu, J., Kuang, L., Chen, C., Yang, J., Zeng, W.N., Li, T., Chen, H., Huang, S., Fu, Z., Li, J., Liu, R., Ni, Z., Chen, L. and Yang, J. (2019) MiR-100-5p-Abundant Exosomes Derived from Infrapatellar Fat Pad MSCs Protect Articular Cartilage and Ameliorate Gait Abnormalities via Inhibition of MTOR in Osteoarthritis. *Biomaterials*, **206**, 87-100. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.03.022>
- [29] Vasheghani, F., Zhang, Y., Li, Y.H., Blati, M., Fahmi, H., Lussier, B., Roughley, P., Lagares, D., Endisha, H., Saffar, B., Lajeunesse, D., Marshall, W.K., Rampersaud, Y.R., Mahomed, N.N., Gandhi, R., Pelletier, J.P., Martel-Pelletier, J. and Kapoor, M. (2015) PPAR γ Deficiency Results in Severe, Accelerated Osteoarthritis Associated with Aberrant mTOR Signalling in the Articular Cartilage. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **74**, 569-578. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-205743>
- [30] Zhang, Y., Vasheghani, F., Li, Y.H., Blati, M., Simeone, K., Fahmi, H., Lussier, B., Roughley, P., Lagares, D., Pelletier, J.P., Martel-Pelletier, J. and Kapoor, J. (2015) Cartilage-Specific Deletion of MTOR Upregulates Autophagy and Protects Mice from Osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **74**, 1432-1440. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204599>
- [31] Zhang, G., *et al.* (2022) Curcumin Improves Age-Related and Surgically Induced Osteoarthritis by Promoting Autophagy in Mice. *Bioscience Reports*, **38**, BSR20171691.
- [32] Abrahamsen, H., Stenmark, H. and Platta, H.W.J. (2012) Ubiquitination and Phosphorylation of Beclin 1 and Its Binding Partners: Tuning Class III Phosphatidylinositol 3-Kinase Activity and Tumor Suppression. *FEBS Letters*, **586**, 1584-1591. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.04.046>
- [33] Sini, P., James, D., Chresta, C. and Guichard, J. (2010) Simultaneous Inhibition of MTORC1 and MTORC2 by MTOR Kinase Inhibitor AZD8055 Induces Autophagy and Cell Death in Cancer Cells. *Autophagy*, **6**, 553-554. <https://doi.org/10.4161/auto.6.4.11671>
- [34] Chang, H.J., Ro, S.H., Jing, C.J., *et al.* (2010) MTOR Regulation of Autophagy. *FEBS Letters*, **584**, 1287-1295. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.01.017>
- [35] Lin, C., Shao, Y., Zeng, C., Zhao, C., Fang, H., Wang, L., Pan, J., Liu, L., Qi, W., Feng, X., Qiu, H., Zhang, H., Chen,

-
- Y., Wang, H., Cai, D. and Xian, J. (2018) Blocking PI3K/AKT Signaling Inhibits Bone Sclerosis in Subchondral Bone and Attenuates Post-Traumatic Osteoarthritis. *Journal of Cellular Physiology*, **233**, 6135-6147. <https://doi.org/10.1002/jcp.26460>
- [36] Quah, B.J. and O'Neill, H.C.J. (2005) The Immunogenicity of Dendritic Cell-Derived Exosomes. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, **35**, 94-110. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2005.05.002>
- [37] Zheng, M., Huang, M., Ma, X., Chen, H. and Gao, X.J. (2019) Harnessing Exosomes for the Development of Brain Drug Delivery Systems. *Bioconjugate Chemistry*, **30**, 994-1005. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00085>
- [38] Liang, Y., Duan, L., Lu, J. and Xia, J. (2021) Engineering Exosomes for Targeted Drug Delivery. *Theranostics*, **11**, 3183-3195. <https://doi.org/10.7150/thno.52570>
- [39] Cooper, C., Chapurlat, R., Al-Daghri, N., Herrero-Beaumont, G., Bruyère, O., Rannou, F., Roth, R., Uebelhart, D. and Reginster, J.Y.J. (2019) Safety of Oral Non-Selective Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Osteoarthritis: What Does the Literature Say? *Drugs & Aging*, **36**, 15-24. <https://doi.org/10.1007/s40266-019-00660-1>
- [40] Ouyang, J., Jiang, H., Fang, H., Cui, W. and Cai, D.J. (2017) Isoimperatorin Ameliorates Osteoarthritis by Downregulating the Mammalian Target of Rapamycin C1 Signaling Pathway. *Molecular Medicine Reports*, **16**, 9636-9644. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7777>