

# 细胞外囊泡的生物发生机制及其生物学功能

高 升

成都中医药大学 四川成都

**【摘要】**细胞外囊泡是由细胞主动分泌的具有磷脂双层膜结构的纳米级囊泡，广泛存在于体液中，是介导细胞间通讯的关键载体。根据其生物发生途径和尺寸，主要可分为外泌体、微囊泡和凋亡小体等亚型。外泌体起源于细胞内吞作用形成的多泡体，其生物发生受内体分选复合物等精密调控；微囊泡则主要通过质膜直接出芽产生。这些囊泡携带并传递丰富的生物活性分子，包括蛋白质、核酸和脂质，从而在生理和病理过程中发挥不可或缺的作用。在生理状态下，EVs 参与免疫调节、组织稳态维持与再生修复。在病理过程中，它们则成为疾病发展的推手，如在肿瘤微环境重塑、转移前生态位形成、代谢紊乱、神经炎症及感染性疾病中扮演重要角色。基于其天然的递送特性和丰富的生物信息，EVs 已成为极具潜力的疾病诊断生物标志物、预后评估工具以及新型药物递送系统。本文系统综述了细胞外囊泡的不同生物发生机制、其在多种生物学过程中的核心功能，并深入探讨了从分离表征到工程化应用的前沿进展，旨在为理解 EVs 的生物学意义及推动其临床转化提供全面视角。

**【关键词】**细胞外囊泡；外泌体；微囊泡；生物发生；细胞间通讯；疾病标志物；药物递送

**【收稿日期】**2025 年 3 月 20 日 **【出刊日期】**2025 年 6 月 18 日 **【DOI】**10.12208/j.jmbr.20250004

## Biogenesis and biological functions of extracellular vesicles

Sheng Gao

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan

**【Abstract】**Extracellular vesicles (EVs) are nanoscale vesicles with a phospholipid bilayer membrane structure, actively secreted by cells, and widely present in body fluids, serving as key carriers for mediating intercellular communication. Based on their biogenesis pathways and sizes, they are primarily classified into subtypes such as exosomes, microparticles, and apoptotic bodies. Exosomes originate from multivesicular bodies formed by cellular endocytosis, with their biogenesis precisely regulated by mechanisms such as endosomal sorting complexes. Microparticles are mainly produced through direct budding from the plasma membrane. These vesicles carry and deliver a rich array of bioactive molecules, including proteins, nucleic acids, and lipids, playing an indispensable role in physiological and pathological processes. Under physiological conditions, EVs participate in immune regulation, tissue homeostasis maintenance, and regeneration and repair. In pathological processes, they act as facilitators of disease progression, playing important roles in tumor microenvironment remodeling, pre-metastatic niche formation, metabolic disorders, neuroinflammation, and infectious diseases. Due to their natural delivery properties and rich biological information, EVs have become highly promising disease biomarkers, prognostic assessment tools, and novel drug delivery systems. This article systematically reviews the different biogenesis mechanisms of EVs, their core functions in various biological processes, and explores cutting-edge advancements from isolation and characterization to engineering applications, aiming to provide a comprehensive perspective for understanding the biological significance of EVs and advancing their clinical translation.

**【Keywords】**Extracellular vesicles; Exosomes; Microparticles; Biogenesis; Intercellular communication; Disease biomarkers; Drug delivery

## 引言

细胞外囊泡 (Extracellular Vesicles, EVs) 是一类由细胞释放到细胞外环境的、具有脂质双分子层结构的异质性膜囊泡。根据其生物发生起源、大小和生物物理特性, EVs 可被大致分为几个主要类别: 外泌体 (Exosomes, 直径约 30-150 nm), 起源于细胞内吞途径形成的多泡体 (Multivesicular Bodies, MVBs), 当 MVB 与质膜融合后释放其腔内小囊泡; 微囊泡 (Microvesicles, 或称为 Ectosomes, 直径约 100-1000 nm), 通过质膜直接出芽和脱落产生; 以及凋亡小体 (Apoptotic Bodies, 直径通常 >1  $\mu\text{m}$ ), 在细胞程序性死亡过程中产生。值得注意的是, 在微生物界, 革兰氏阴性菌也能通过外膜出芽释放外膜囊泡 (Outer Membrane Vesicles, OMVs), 其分离方法如改进的密度梯度超速离心法已被优化用于肺炎克雷伯菌等病原体的研究<sup>[1]</sup>。这一发现扩展了 EVs 的概念, 揭示了膜囊泡介导的通讯在原核与真核生物界中的普遍性。

EVs 并非简单的细胞“垃圾袋”, 而是富含蛋白质、脂质、核酸 (包括 mRNA、microRNA、长链非编码 RNA 和 DNA) 等生物活性分子的精密载体。通过递送这些“货物”至邻近或远隔的受体细胞, EVs 能够重塑受体细胞的表型和功能, 从而在广泛的生理和病理过程中扮演着至关重要的信使角色。例如, 在肿瘤领域, 肿瘤细胞分泌的 EVs 与肿瘤微环境中的免疫细胞、成纤维细胞、内皮细胞等进行动态交互, 深刻影响着癌症的进展、免疫逃逸和治疗反应<sup>[2]</sup>。同样, 在免疫系统中, 血小板等血细胞释放的 EVs 是炎症、免疫和癌症交叉对话中的关键媒介, 揭示了其在疾病网络中的核心地位<sup>[3]</sup>。

从口腔健康到全身性疾病, EVs 的功能日益凸显。牙周病原体分泌的 EVs 被证明携带毒力因子, 通过破坏宿主免疫平衡, 在牙周炎的发病机制中起着重要作用<sup>[4]</sup>。这仅仅是 EVs 介导病原体-宿主相互作用的冰山一角。鉴于 EVs 在疾病发生发展中的普遍参与, 对其生物发生机制的深入理解, 以及对其分离、表征和应用技术的不断革新, 已成为生命科学和转化医学的前沿热点。

本文旨在系统综述近年来细胞外囊泡研究领域的关键进展。首先, 将深入剖析 EVs (包括外泌体和微囊泡) 的生物发生与分泌机制, 以及其内容物的选择性装载原理。其次, 将全面阐述 EVs 在免疫调节、

肿瘤演进、代谢疾病、神经损伤与精神疾病、以及组织再生等多个重要生理病理场景中的核心生物学功能。最后, 将聚焦于 EVs 的分离纯化、表征鉴定技术的最新发展, 并展望其工程化改造策略及作为诊断标志物和治疗载体的巨大临床应用潜力。通过这一系统的梳理, 以期读者呈现 EVs 研究的全景图, 并推动这一充满活力的领域向临床实践迈进。

## 1 细胞外囊泡的生物发生与分泌机制

细胞外囊泡的生物发生是一个高度有序且受到精密调控的细胞生物学过程, 其最终产物——装载有特定“货物”的膜囊泡, 反映了源细胞的生理状态和意图。理解 EVs 的生物发生机制, 是破译其功能多样性和开发其应用潜力的基石。本部分将系统阐述主要 EVs 亚型的形成途径、调控因素及其内容物分选机制。

### 1.1 主要生物发生途径: 从内体网络到质膜出芽

EVs 的生物发生主要遵循两条核心路径: 一条依赖于细胞内吞系统和多泡体 (MVB) 的外泌体途径; 另一条则源于质膜直接出芽的微囊泡途径。这两条路径在细胞中往往并存, 共同贡献于 EVs 的异质性。

外泌体的经典与替代生成路径: 外泌体的形成始于早期内体。早期内体膜通过内陷形成腔内囊泡 (ILVs), 从而转变为多泡体 (MVB)。ILVs 的命运决定了两条路径: 与溶酶体融合被降解, 或与质膜融合将 ILVs 作为外泌体释放到细胞外。ILVs 的形成机制复杂, 主要分为内体分选复合物 (ESCRT) 依赖和非依赖途径。ESCRT 由 ESCRT-0, -I, -II, -III 四个亚复合物和辅助蛋白 (如 VPS4, ALIX) 组成, 协同完成货物识别、膜变形、剪切和囊泡脱落。然而, 研究发现即使关键 ESCRT 组分缺失, ILVs 仍能生成, 提示存在非依赖途径。这些途径涉及脂质 (如神经酰胺、胆固醇) 介导的膜微区形成、四次跨膜蛋白家族 (如 CD63, CD9, CD81) 的寡聚化, 以及特定蛋白 (如 ALIX, 即使在不依赖 ESCRT-III 的情况下) 的参与。最终, 成熟的 MVB 在 RabGTPases (如 Rab27a/b, Rab35, Rab11) 等因子的调控下, 沿微管运输至质膜, 通过 SNARE 蛋白介导的膜融合事件释放外泌体<sup>[5]</sup>。

微囊泡的直接生成机制: 与外泌体相比, 微囊泡 (或称微粒) 的生物发生更为“直接”。其生成始于质膜在特定刺激 (如细胞活化、应激或凋亡早期) 下

的向外出芽和脱落。这一过程依赖于细胞骨架（特别是肌动蛋白-肌球蛋白）的重排，导致质膜局部曲率变化和收缩。钙离子内流是触发微囊泡脱落的常见信号，它能激活钙依赖性蛋白酶（如钙蛋白酶），剪切细胞骨架锚定蛋白，并激活翻转酶（scramblase）和磷脂酶，导致膜磷脂不对称性丧失（如磷脂酰丝氨酸外翻）。此外，ESCRT-I 和 ESCRT-III 组分也被发现可被募集到质膜，协助微囊泡的脱落。因此，微囊泡的组成更直接地反映了源细胞质膜的实时状态。

### 1.2 生物发生的调控网络：信号、应激与细胞状态

EVs 的生物发生并非组成性活动，而是受到细胞内外部信号的动态调控，使其分泌水平和组成能够响应环境变化和细胞需求。

**细胞应激与活化状态：**多种生理和病理刺激可显著上调 EVs 的分泌。这些包括氧化应激、缺氧、内质网应激、DNA 损伤、机械应力以及病原体相关分子模式 (PAMPs) 的识别。例如，在感染性疾病中，利什曼原虫等病原体与宿主细胞的相互作用能显著改变双方 EVs 的分泌谱。这些 EVs 携带毒力因子、寄生虫抗原和免疫调节分子（如 miRNA），在介导寄生虫感染、调控宿主免疫应答（促进或抑制）以及影响疾病进程和化疗反应中起着至关重要的作用，凸显了 EVs 在宿主-病原体界面复杂的双向调控网络<sup>[6]</sup>。

**信号通路的关键调控分子：**多条细胞内信号通路汇聚于 EVs 生物发生的调控节点。小 GTP 酶家族，尤其是 Rab 蛋白，是调控囊泡运输和膜融合的核心开关。如前所述，Rab27a/b、Rab35 等对于 MVB 的运输和与质膜对接至关重要。此外，p53 肿瘤抑制蛋白在 DNA 损伤时可诱导外泌体分泌相关基因的表达。神经酰胺合成酶、鞘磷脂酶等脂质代谢酶活性的改变，通过影响膜脂组成直接调控 ILVs 的形成。在全身性炎症反应如脓毒症中，内毒素等强刺激可导致免疫细胞和内皮细胞 EVs 的爆发性分泌，其携带的 miRNA（如 miR-155，miR-146a）被重编程，通过传递促炎或抗炎信号，在脓毒症相关的器官损伤和免疫紊乱中扮演关键角色，为理解脓毒症病理和寻找新的治疗靶点（如靶向 EVs 或特定 miRNA）提供了新视角<sup>[7]</sup>。

### 1.3 货物分选与装载的精密程序

EVs 的功能多样性从根本上源于其携带的多样

化生物活性分子。这些分子并非随机包裹，而是通过一套精密的“分拣”机制被选择性装载到 EVs 中。不同的货物遵循不同的分选原则。

**蛋白质的分选机制：**跨膜蛋白和膜相关蛋白的分选常依赖于其胞内结构域的信号序列。泛素化是 ESCRT 依赖性分选的关键信号，ESCRT-0 通过其泛素结合域识别泛素化膜蛋白。富含脂筏的膜微区（富含胆固醇和鞘磷脂）也倾向于募集特定蛋白，如 GPI 锚定蛋白和部分四次跨膜蛋白。一些蛋白则通过与 ESCRT 组件（如 ALIX）或脂质的直接相互作用被分选。细胞质蛋白的分选机制更为多样，可能涉及与膜蛋白的间接结合、在 ILVs 形成过程中被裹入，或通过 RNA 形成核糖核蛋白复合物而被携带。

**核酸的选择性富集：**EVs 中的 RNA（尤其是 miRNA）和 DNA 表现出与源细胞质不同的组成谱，证明存在主动分选。RNA 结合蛋白 (RBPs) 在其中扮演了核心角色。例如，hnRNPA2B1 通过识别特定 miRNA（如 miR-198）上的“EXOmotif”序列并将其装载入外泌体。类似地，Argonaute 2 (AGO2)、Y-box 蛋白 1 (YBX1)、MVP 等也被发现参与 miRNA 的分选。对于细胞外 DNA，其进入 EVs 的机制可能包括与组蛋白的结合形成核小体样结构后被包裹，或在细胞凋亡/应激过程中，线粒体 DNA 或基因组 DNA 片段被捕获。

**miRNA 分选的病理意义与调控：**miRNA 的分选失调与疾病紧密相关。例如，在肥胖与 2 型糖尿病中，脂肪组织、骨骼肌等胰岛素敏感组织的代谢紊乱会导致其分泌的 EVs 中 miRNA 谱系发生特征性改变。这些 EVs 作为代谢信号的“远程信使”，将其携带的特定 miRNA（如调控胰岛素信号通路、炎症反应的 miRNA）递送至肝脏、胰岛 β 细胞等靶器官，从而参与全身胰岛素抵抗、β 细胞功能障碍和慢性低度炎症的发生与发展。因此，循环中的外泌体 miRNA 不仅有望成为 T2D 的新型诊断和预后生物标志物，其分选机制本身也可能成为干预代谢疾病进程的潜在靶点<sup>[8]</sup>。

## 2 细胞外囊泡的生理与病理学功能

细胞外囊泡作为细胞间通讯的关键介质，其携带的生物活性分子能够精确地调节受体细胞的生理状态，从而在维持组织稳态和驱动疾病进程中扮演着复杂而多样的角色。本部分将深入探讨 EVs 在肿瘤、免疫、代谢、神经、再生等多个关键生物学领域

中的核心功能。

### 2.1 在肿瘤发展中的关键作用

细胞外囊泡在肿瘤进展中扮演着双重角色，它们既是疾病的驱动者，也是潜在的治疗靶点。在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤（DLBCL）中，肿瘤细胞衍生的 EVs 发挥着至关重要的作用。这些 EVs 携带特定的致癌蛋白（如 MYC、BCL-2）、免疫调节分子（如 PD-L1）以及非编码 RNA，通过重塑肿瘤微环境来促进淋巴瘤的发展。它们能够抑制 T 细胞的抗肿瘤活性，诱导调节性 T 细胞的分化，促进肿瘤相关巨噬细胞向 M2 表型极化，并增强血管生成。此外，DLBCL 衍生的 EVs 还可以介导化疗耐药性的传播。因此，靶向 EVs 的生物发生、释放或摄取过程，或者利用工程化 EVs 递送治疗性核酸，已成为 DLBCL 治疗的新兴策略。EVs 本身及其携带的分子标志物也为 DLBCL 的诊断和预后评估提供了新的可能性<sup>[9]</sup>。

### 2.2 在组织再生中的促进功能

在组织再生领域，EVs 展现出巨大的治疗潜力。来自牙源性干细胞（如牙髓干细胞）的 EVs 因其富含促血管生成和促神经生成的因子而备受关注。这些 EVs 能够通过传递特定的 mRNA、miRNA 和蛋白质，促进内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成，同时诱导神经前体细胞的分化，为牙髓-牙本质复合体的功能性再生创造有利的微环境。与直接的细胞移植相比，EVs 疗法具有更低的免疫原性、肿瘤发生风险和更好的保存稳定性，为基于无细胞策略的牙髓再生提供了新的方向<sup>[10]</sup>。

### 2.3 在神经损伤中的调控作用

在中枢神经系统损伤中，EVs 介导了复杂的细胞间通讯。在创伤性脑损伤（TBI）后，星形胶质细胞被激活并释放大量的 EVs。研究表明，这些星形胶质细胞来源的 EVs 中富含 miRNA-382-5p。当这些 EVs 被神经元摄取后，其携带的 miRNA-382-5p 能够通过靶向抑制神经保护蛋白如 SIRT1 的表达，从而加剧神经元的氧化应激、线粒体功能障碍和最终凋亡。这一发现揭示了星形胶质细胞通过 EVs-miRNA 途径对神经元存活产生的负面影响，为 TBI 后继发性神经损伤的干预提供了新的分子靶点<sup>[11]</sup>。

### 2.4 在系统性再生调控中的作用

有趣的是，组织再生过程可能涉及远隔器官的协同调控。在骨缺损修复的研究中发现，系统性的骨缺损能够“动员”肝脏，促使肝细胞释放特定的细

胞外囊泡。这些肝细胞来源的 EVs 通过循环系统到达骨缺损部位，并被局部的血管内皮细胞摄取。其携带的特定 miRNA（如 miR-1，miR-206）能够促进 H 型血管（一种与成骨活性密切耦合的特殊血管亚型）的生成。H 型血管不仅提供血供，还分泌促骨生成因子，从而高效地促进骨组织再生。这一“肝-骨轴”的发现，揭示了机体通过 EVs 进行跨器官协调、启动系统性再生程序的新机制<sup>[12]</sup>。

### 2.5 在神经系统交互中的作用

进一步的研究证实了 EVs 介导的神经胶质-神经元交互在病理过程中的重要性。星形胶质细胞来源的 EVs 所运载的 miRNA-382-5p，被证明是加剧 TBI 后神经损伤的关键介质。这种 miRNA 通过抑制神经元中 SIRT1 等保护性基因的表达，破坏线粒体功能，增加氧化应激，最终导致神经元死亡。阻断这一有害的 EVs-miRNA 信号轴，例如通过使用拮抗剂抑制 miRNA-382-5p 的功能，在动物模型中显示出神经保护效果，为 TBI 的治疗提供了新的思路<sup>[13]</sup>。

### 2.6 在分离表征技术中的进展

要深入研究 EVs 的功能，首先需要可靠的方法对其进行分离和表征。目前常用的方法包括超速离心法、尺寸排阻色谱法、聚合物沉淀法和免疫亲和捕获法等。各种方法在纯度、得率、操作复杂度和对 EVs 完整性的影响方面各有优劣。例如，超速离心法是金标准但可能引起囊泡聚集，而尺寸排阻色谱法能较好地保持囊泡完整性但处理量有限。因此，根据具体的研究目的（如功能研究或标志物筛选）选择合适的分离策略至关重要。对这些方法的系统比较和标准化，是推动 EVs 研究从基础走向临床应用的基石<sup>[14]</sup>。

### 2.7 在单颗粒分析中的应用

为了深入解析 EVs 的异质性，单颗粒分析技术变得日益重要。微流控芯片技术，特别是经过功能化修饰（如抗体修饰）的微流控芯片，能够实现对单个 EVs 或单细胞释放的 EVs 进行高灵敏度、高通量的捕获、分析和分选。这种技术可以用于分析特定表面标志物在单个 EVs 上的共表达情况，或者研究单个细胞在特定刺激下释放 EVs 的异质性。这些信息对于理解 EVs 亚群的功能、发现高特异性的疾病标志物以及开发基于 EVs 的精准诊疗策略具有不可估量的价值<sup>[15]</sup>。

### 2.8 在皮肤保护中的新发现

EVs 的功能不仅限于动物细胞。来自三角褐指藻（一种微藻）的细胞外囊泡（PhaEVs）被发现具有显著的抗氧化和皮肤保护活性。研究表明，PhaEVs 富含虾青素、 $\beta$ -胡萝卜素等天然抗氧化剂以及具有生物活性的脂质。在细胞和动物模型中，PhaEVs 能够有效清除紫外线诱导的活性氧，减轻氧化应激对皮肤细胞的损伤，抑制炎症因子的表达，并促进胶原蛋白的合成。这为开发基于微藻 EVs 的天然、高效的皮肤保护剂和化妆品原料开辟了崭新的途径<sup>[16]</sup>。

### 2.9 在组织工程中的协同治疗

在皮瓣移植等整形外科手术中，缺血导致的组织坏死是常见并发症。研究开发了一种负载有抗氧化纳米酶和脂肪干细胞来源 EVs 的自修复水凝胶。该水凝胶能够在皮瓣移植部位持续释放治疗成分：脂肪干细胞 EVs 发挥促进血管新生、抗凋亡和抗炎的作用；而纳米酶则协同清除过量的活性氧，减轻氧化损伤。这种将生物活性 EVs 与功能材料相结合的工程化策略，显著提高了皮瓣的存活率，展示了 EVs 在组织工程和再生医学中的广阔应用前景<sup>[17]</sup>。

### 2.10 在工程化改造中的新策略

为了赋予 EVs 更强大的治疗功能或靶向能力，对其进行工程化改造成为研究热点。一种创新的策略是制造“搭载内质网”的工程化 EVs。通过特定的细胞处理，可以获得内部包裹了功能性内质网片段（富含分子伴侣蛋白和钙离子调节蛋白）的 EVs。当这种工程化 EVs 被递送至处于内质网应激状态的靶细胞（如缺血损伤细胞）时，它们能够直接补充或增强受体细胞的内质网功能，帮助其恢复蛋白质折叠稳态和钙稳态，从而提高细胞在应激环境下的存活率。这代表了一种“细胞器补充疗法”的新概念<sup>[18]</sup>。

### 2.11 在单细胞分析中的技术突破

对 EVs 内部 DNA 的分析，特别是追踪其细胞来源，是一个技术挑战。水凝胶微液滴单细胞测序技术为此提供了强大的工具。该技术能够将单个细胞与其分泌的 EVs 共同包裹在微液滴中，然后对微液滴内的 EVs-DNA 进行扩增和测序。通过分析 EVs-DNA 的突变谱、甲基化模式或核小体定位，并将其与母细胞的基因组信息关联，可以揭示哪些细胞亚群是特定 EVs-DNA 的主要来源，以及这些 DNA 在细胞间通讯和疾病（如癌症）中的潜在功能，极大提升了 EVs 研究的精确度<sup>[19]</sup>。

### 2.12 在肿瘤代谢与进展中的作用

在结直肠癌中，富含氨基酸转运蛋白 SLC1A5（主要转运谷氨酰胺）的小细胞外囊泡被大量分泌。研究证实，这些 SLC1A5 阳性的 sEVs 能够被肿瘤微环境中的其他癌细胞摄取。作为“代谢货物”，它们显著增强了受体细胞对谷氨酰胺的摄取和利用，从而满足其快速增殖对氮源和能量的需求，并激活下游的 mTORC1 信号通路。这种通过 EVs 进行的代谢重编程和信号传递，在体外和体内均有力地促进了结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭，揭示了 EVs 在肿瘤代谢共生中的新机制<sup>[20]</sup>。

### 2.13 在心血管疾病中的病理信使作用

在心力衰竭的发生发展过程中，心脏各类细胞（心肌细胞、成纤维细胞、内皮细胞等）释放的小细胞外囊泡扮演了重要的病理信使角色。这些 sEVs 携带特定 miRNA（如促纤维化的 miR-21-5p）、蛋白质和脂质，能够在细胞间传递病理性信号。例如，心肌细胞在压力负荷下释放的 sEVs 可以诱导心脏成纤维细胞活化增殖，导致心肌纤维化；而活化的成纤维细胞释放的 sEVs 又可进一步损害心肌细胞功能。循环中 sEVs 的水平和内容物变化与心衰的严重程度和预后相关，使其成为潜在的新型生物标志物和治疗干预靶点<sup>[21]</sup>。

### 2.14 在精神疾病诊断中的潜力

在精神疾病领域，EVs 作为脑脊液和血液中稳定的核酸载体，为探索中枢神经系统的状态提供了“液体窗口”。一项针对青少年抑郁症的研究，通过对患者血浆中的神经元来源 EVs 进行 miRNA 测序，筛选并验证了一组差异表达的 miRNA 作为潜在的诊断标志物。这些 EVs-miRNA 可能参与了抑郁症相关的神经可塑性、突触功能和神经炎症调节通路。这一发现不仅为抑郁症的客观诊断提供了新的生物标志物，其筛选出的关键 miRNA 也可能成为未来药物开发的干预靶点<sup>[22]</sup>。

## 3 细胞外囊泡的分离、表征与工程化应用

随着对细胞外囊泡生物学功能的深入理解，如何高效地获取、精确地分析并巧妙地改造利用这些纳米级信使，已成为推动其从基础研究走向临床应用的關鍵。本部分将系统阐述 EVs 的分离纯化策略、先进表征技术，并重点介绍其工程化改造与多元化的应用前景。

### 3.1 在生殖发育中的调控功能

细胞外囊泡在生殖系统中扮演着精密的调控者

角色。来自输卵管上皮的 EVs 是输卵管微环境的关键组成成分,对早期胚胎发育具有重要影响。研究表明,在特定的生理阶段(如发情期),输卵管上皮细胞分泌的 EVs 数量与内容物组成发生动态变化。这些 EVs 能够被卵母细胞、受精卵及早期胚胎主动摄取,其携带的母源 mRNA、miRNA 和蛋白质被传递至胚胎内,参与调控胚胎的基因组激活、细胞分化、代谢适应以及表观遗传重编程等关键过程。例如,特定的 EVs-miRNA 可能通过抑制母源转录本的降解或调节信号通路来支持胚胎发育。这一机制揭示了母体生殖道通过 EVs 主动为胚胎提供发育“工具箱”,确保其成功发育至着床前阶段,对于理解早期生命发育和改善辅助生殖技术结局具有重要意义<sup>[23]</sup>。

### 3.2 在免疫调节与炎症缓解中的作用

在牙髓炎的病理过程中,免疫细胞的过度活化是导致组织破坏的核心。乳牙牙髓干细胞外囊泡(SHED-EVs)展现出独特的免疫调节特性。研究发现,在炎症环境下,SHED-EVs 能够被中性粒细胞有效内化。其携带的生物活性分子,特别是特定的 miRNA(如 miR-100-5p),通过靶向中性粒细胞内的 mTOR 信号通路,显著抑制中性粒细胞的过度激活、活性氧(ROS)的爆发性产生以及中性粒细胞外诱捕网(NETs)的形成。同时,SHED-EVs 还能促进活化的中性粒细胞发生凋亡,从而加速炎症的消退。这种通过 EVs 精准调节固有免疫细胞功能的能力,不仅揭示了 SHED-EVs 缓解牙髓炎症、促进组织修复的新机制,也为其作为治疗牙周炎、根尖周炎等口腔炎症性疾病的无细胞制剂提供了理论依据<sup>[24]</sup>。

### 3.3 在分离富集技术中的创新

高效、高纯度地分离 EVs 是进行后续研究和应用的前提。传统的超速离心等方法在特异性和回收率方面存在局限。基于材料科学的创新为此提供了新思路。例如,研究开发了一种基于金属-有机框架材料 ZIF-8 的分离策略。通过对 ZIF-8 进行磷脂探针分子(如带负电的磷脂类似物)修饰,使其表面具有与 EVs 磷脂双分子层高亲和力的特性。这种功能化材料能够从复杂的生物体液(如血浆)中特异性捕获 EVs,然后通过简单的洗脱步骤即可获得高纯度的 EVs。与常规方法相比,该策略操作简便、成本较低且能较好地保持 EVs 的生物活性,为临床样本的大规模 EVs 分离和下游的液体活检应用提供了有前景的技术平台<sup>[25]</sup>。

### 3.4 在肿瘤诊断与预后中的标志物价值

基于 EVs 的液体活检在肿瘤精准医学中展现出巨大潜力。通过高通量蛋白质组学技术(如质谱流式细胞术)结合机器学习算法,可以从肺癌患者血浆 EVs 中筛选出特征性的蛋白标志物组合。例如,研究构建了一个基于血浆 EVs 多个蛋白标志物的诊断模型,该模型能够有效区分肺鳞癌患者与健康对照,其诊断效能优于传统的单一肿瘤标志物。更重要的是,另一组 EVs 蛋白标志物被鉴定与肺鳞癌患者的无进展生存期和总生存期显著相关,能够独立预测患者预后。这种利用 EVs 多组学信息构建的机器学习模型,实现了对癌症的早期发现、分型和预后分层,代表了液体活检向更精准、更系统方向发展的趋势<sup>[26]</sup>。

### 3.5 在工程化设计与生物医学应用中的前沿

为了克服天然 EVs 在靶向性、载药效率和产量方面的限制,对其进行的工程化改造日益深入。工程化策略主要包括:(1)内容物工程:通过转染、电穿孔、超声或共孵育等方法,将治疗性核酸(siRNA, miRNA)、小分子药物或蛋白质装载入 EVs;(2)膜表面工程:通过基因工程在亲代细胞中表达融合了靶向肽(如 RGD 肽、神经节苷脂配体)或报告蛋白的跨膜蛋白,使产生的 EVs 表面展示相应配体,实现组织或细胞特异性靶向;(3)功能化融合:将 EVs 与其他功能纳米材料(如金纳米棒、磁性纳米粒子)结合,赋予其光热、成像或磁响应等新特性。这些工程化 EVs 已被广泛应用于靶向药物递送(如向肿瘤递送化疗药或核酸药物)、免疫调节(如递送免疫佐剂或检查点抑制剂)、组织再生以及作为疫苗载体等领域,极大地拓展了 EVs 的治疗应用边界<sup>[27]</sup>。

### 3.6 在生物体液中的“身份伪装”与功能调控

当 EVs 进入复杂的生物体液(如血液)后,其表面会迅速吸附一层蛋白质、脂质等生物分子,形成所谓的“蛋白冠”。这层冠冕并非随机形成,其组成受到 EVs 本身来源、表面特性以及宿主生理病理状态的影响。蛋白冠深刻改变了 EVs 的“身份”:一方面,它可能遮蔽 EVs 原有的表面标记物,影响基于免疫亲和原理的捕获和检测;另一方面,它赋予了 EVs 新的生物特性,如改变其细胞靶向性(例如,吸附的载脂蛋白可能引导 EVs 被肝细胞摄取)、影响其在循环中的半衰期、甚至传递新的生物学信号。因此,理解并调控 EVs 的蛋白冠,对于提高基于 EVs



的诊断准确性和治疗效率至关重要,是 EVs 转化研究中一个不可忽视的关键环节<sup>[28]</sup>。

### 3.7 在肿瘤转移中的驱动机制

肿瘤转移是一个多步骤的复杂过程, EVs 在其中充当了“先锋信使”的角色。研究聚焦于长链非编码 RNA LINC00482 在肺癌脑转移中的作用。研究发现,具有高脑转移潜能的肺癌细胞分泌的 EVs 中, LINC00482 被显著富集。当这些 EVs 被递送至脑血管内皮细胞后,其携带的 LINC00482 能够破坏血脑屏障的完整性,增加其通透性。机制上, LINC00482 可能作为竞争性内源 RNA, 吸附特定的 miRNA, 从而解除其对下游促血管生成和屏障破坏基因的抑制。这就为肺癌细胞向脑部“殖民”提前准备好了“土壤”(转移前生态位)。这一发现不仅揭示了 EVs 介导的 LINC00482 传递在驱动肺癌脑转移中的关键机制,也提示 LINC00482 或分泌它的 EVs 可作为预测和治疗脑转移的潜在靶标<sup>[29]</sup>。

### 3.8 在代谢性疾病交互中的作用

少肌性肥胖作为衰老和代谢综合征的常见并发症,其发生与脂肪组织和骨骼肌之间的异常通讯密切相关。EVs 是介导这一“脂肪-肌肉对话”的重要媒介。在肥胖状态下,增生的脂肪组织(尤其是内脏脂肪)处于慢性低度炎症状态,其分泌的 EVs 在数量和内容物上均发生改变。这些促炎性 EVs 被骨骼肌细胞摄取后,其中富集的特定 miRNA (如 miR-27a, miR-130b) 和炎症因子(如 TNF- $\alpha$ ) 能够干扰胰岛素/PI3K/AKT 信号通路,抑制蛋白质合成,并激活泛素-蛋白酶体和自噬-溶酶体等蛋白质降解途径。同时,它们还可能损害线粒体功能,减少能量产出。这些效应的综合作用导致骨骼肌质量进行性减少和功能下降,从而加速了少肌性肥胖的发展。因此,靶向阻断有害的脂肪组织源性 EVs,或利用工程化 EVs 递送保护性分子,可能成为防治少肌性肥胖的新策略<sup>[30]</sup>。

## 4 总结与展望

本文系统性地综述了细胞外囊泡研究领域近年来取得的关键进展,构建了一个从基础生物发生机制到前沿临床转化应用的完整知识框架。通过梳理,我们可以清晰地认识到, EVs 已从最初被视为细胞排泄物的角色,转变为我们理解细胞社会复杂通讯网络的核心载体,并正迅速成长为疾病诊断与治疗的革命性新工具。

核心认知的深化与整合: 本文的核心论述表明,对 EVs 的理解必须建立在对其高度异质性和精密调控性的认知之上。首先,其生物发生是一个受到多信号通路调控的主动过程,不同的生成途径(外泌体与微囊泡)决定了其初始“出身”和基础特性。更为关键的是,货物(蛋白质、核酸、脂质)向 EVs 腔内的选择性分拣装载并非随机,而是通过 ESCRT 复合物、RNA 结合蛋白、脂筏微区等多种机制实现的精密“编程”,这确保了 EVs 能够携带特异性的生物学信息。正是这种从“生产”到“包装”的精密性,赋予了 EVs 作为细胞间信使的功能特异性。

在功能层面, EVs 展示了其作为生理与病理“双刃剑”的复杂角色。在生理状态下,它们是维持组织稳态、协调发育程序(如胚胎发育)、促进损伤修复(如骨再生、牙髓再生)不可或缺的信使。然而,在病理条件下,这一高效的通讯系统被劫持或失调, EVs 转而成为疾病扩散的“特洛伊木马”。无论是肿瘤细胞利用 EVs 营造免疫抑制微环境、构建转移前生态位,还是脂肪组织通过 EVs 向肌肉传递炎症信号导致少肌性肥胖,抑或是病原体借助 EVs 进行免疫逃逸,都深刻地揭示了 EVs 在疾病网络中的枢纽地位。这种功能的双重性,恰恰凸显了对其进行干预的巨大价值和潜在风险。

在技术转化层面,研究已从单纯的功能描述,迈向主动的“设计、操控与应用”。分离表征技术的革新(如微流控芯片、新型富集材料)让我们能够以前所未有的分辨率和通量窥视 EVs 的异质性世界。工程化改造策略(如膜表面修饰、内容物装载、细胞器搭载)则赋予了我们“定制” EVs 的能力,使其靶向性、载药效率和治疗功能得到极大增强。同时,对其在体内与蛋白冠相互作用的深入理解,提醒我们关注 EVs 临床应用面临的真实生物环境挑战。

未来发展的趋势与挑战: 展望未来, EVs 领域的研究与转化将呈现以下几个鲜明趋势,同时也面临系列关键挑战:

(1) 机制解析的“单颗粒”与“动态化”时代: 未来研究将更加侧重于 EVs 亚群的单颗粒分析,以解析其巨大的异质性,明确不同亚群的具体功能。同时,利用活体成像等技术,实时动态追踪 EVs 在体内的产生、运输、摄取及命运,将成为理解其生理病理功能的必然要求。对货物分选机制的深入研究,特别是非编码 RNA 和 DNA 的分选规律,将是揭示

EVs 信息编码逻辑的关键。

(2) 技术创新的“标准化”与“临床化”攻关：推动 EVs 走向临床应用，首先必须解决技术与标准的瓶颈。当前，分离方法、表征指标、单位定义尚不统一，严重阻碍了研究成果的比较和临床转化。因此，建立国际公认的 EVs 分离、鉴定、定量和功能分析的标准操作程序与质量 Controls 体系是当务之急。此外，开发能满足临床需求的大规模、高纯度、低成本、符合药品生产质量管理规范(GMP)的 EVs 生产制备工艺，是产业化道路上的核心挑战。

(3) 应用拓展的“精准化”与“智能化”方向：在诊断方面，基于 EVs 多组学(蛋白质组、RNA 组、代谢组)数据的机器学习模型，将推动液体活检向早期、精准、分型预测和预后监测的全面智能化诊断系统发展。在治疗方面，工程化 EVs 将朝着更智能的方向演进，例如开发能够响应病灶微环境(如特定 pH、酶或氧化还原状态)而释放药物的“智能”EVs，或设计具有多重协同治疗功能(如化疗-免疫联合)的“超级”EVs。此外，将 EVs 与生物材料(如水凝胶、支架)结合，构建局部缓释给药系统或组织工程构件，是再生医学极具前景的方向。

(4) 监管与安全性的“前瞻性”布局：作为一种新型生物治疗产品，EVs 的监管路径尚在探索之中。其成分的复杂性、异质性、潜在的免疫原性、脱靶效应以及长期安全性，都需要进行系统严格的评估。学术界、产业界和监管机构需要加强对话，共同建立适合 EVs 特点的监管科学框架和评价指南，以确保其在保障安全的前提下造福患者。

总之，细胞外囊泡研究正处在一个从高速科学发现向深度技术开发和临床验证转化的关键历史阶段。它连接了基础细胞生物学与临床医学的鸿沟，为我们提供了窥探生命微观社会运作、干预疾病进程的全新维度。面对机遇与挑战，需要跨学科、跨领域的持续协同创新。唯有如此，我们才能充分释放这一天然纳米载体的全部潜能，最终实现其在精准医学和再生医学中的广泛应用，开创人类健康维护的新纪元。

## 参考文献

- [1] Li P ,Lu M ,Peng T , et al. An improvised one-step OptiPrep cushion ultracentrifugation method for outer membrane vesicles isolation of *Klebsiella pneumoniae*[J]. BMC Microbiology, 2024,24(1):548-548.
- [2] Guo X ,Song J ,Liu M , et al. The interplay between the tumor microenvironment and tumor-derived small extracellular vesicles in cancer development and therapeutic response.[J].Cancer biology & therapy, 2024, 25(1): 2356831-2356831.
- [3] Contursi A ,Tacconelli S ,Berardino D S , et al. Platelets as crucial players in the dynamic interplay of inflammation, immunity, and cancer: unveiling new strategies for cancer prevention[J].Frontiers in Pharmacology,2024,151520488-1520488.
- [4] Zhang R ,Li G ,Wu Y , et al. Pathogenic mechanisms and potential applications of extracellular vesicles from periodontal pathogens in periodontitis[J].Frontiers in Immunology,2024,151513983-1513983.
- [5] Sekar S ,Srikanth S ,Mukherjee G A , et al. Biogenesis and functional implications of extracellular vesicles in cancer metastasis[J].Clinical and Translational Oncology,2024, 27(7):1-23.
- [6] Abida ,Alhuthali M H ,Alshehri M J , et al. Exosomes in infectious diseases: insights into leishmaniasis pathogenesis, immune modulation, and therapeutic potential[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2024,398(5):1-19.
- [7] Deng R ,Cui X ,Zhang R , et al. Pathologic function and therapeutic potential of extracellular vesicle miRNA in sepsis[J].Frontiers in Pharmacology,2024,151452276-1452276.
- [8] Vukelić I ,Šušić B ,Klobučar S , et al. Exosome-Derived microRNAs: Bridging the Gap Between Obesity and Type 2 Diabetes in Diagnosis and Treatment[J].Diabetology, 2024, 5(7):706-724.
- [9] Punnachet T ,Chattipakorn C S ,Chattipakorn N , et al. Critical Role of Extracellular Vesicles in Diffuse Large B-Cell Lymphoma; Pathogenesis, Potential Biomarkers, and Targeted Therapy—A Narrative Review[J].Biomedicine, 2024,12(12):2822-2822.
- [10] Su W ,Liao C ,Liu X . Angiogenic and neurogenic potential of dental-derived stem cells for functional pulp regeneration:



- A narrative review.[J].International endodontic journal, 2024,58(3):391-410.
- [11] 胡清.细胞外囊泡 miRNA-382-5p 在创伤性脑损伤预后评估与靶向治疗中的作用及机制研究[D].中国人民解放军空军军医大学,2024.
- [12] 英司奇.骨缺损动员肝细胞外囊泡调控 H 型血管促骨组织再生修复的作用机制研究[D].中国人民解放军空军军医大学,2024.
- [13] 刘海啸,胡清,吴勋,等.细胞外囊泡运载的 miRNA-382-5p 介导星形胶质细胞-神经元信号交互加剧 TBI 后神经损伤[C]//中国医师协会,中国医师协会神经外科医师分会.第十八届中国医师协会神经外科医师年会摘要集-基础研究.第四军医大学唐都医院(唐都医院);,2024:215.
- [14] 李莎莎,余飞,刘万卉. 细胞外囊泡表征检测方法的对比 [J].中国生物化学与分子生物学报,2024,40(08):1093-1101.
- [15] 赵亚婷.微流控芯片的功能化修饰及其在单细胞外囊泡研究中的应用[D].吉林大学,2024.
- [16] 陆滢.三角褐指藻细胞外囊泡保护皮肤氧化应激损伤的作用研究[D].浙江大学,2024.
- [17] 居裔昆.负载纳米酶及细胞外囊泡的自修复水凝胶促进花瓣存活的研究[D].中南大学,2024.
- [18] 申干.搭载内质网的工程化细胞外囊泡调节细胞应激水平的实验研究[D].中国人民解放军海军军医大学,2024.
- [19] 高立烺.水凝胶微液滴技术在单细胞外囊泡 DNA 分析中的应用[D].山东大学,2024.
- [20] 易小梅.SLC1A5 阳性的小细胞外囊泡促进结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭[D].赣南医科大学,2024.
- [21] 肖雨尘.小细胞外囊泡在心力衰竭中的作用研究[D].中国人民解放军海军军医大学,2024.
- [22] 冉柳毅.细胞外囊泡 miRNA 基因作为青少年抑郁诊断标志物和干预靶标的筛查及验证研究[D].重庆医科大学,2024.
- [23] 李悦含.输卵管细胞外囊泡对早期胚胎发育的影响及其机制研究[D].华中科技大学,2024.
- [24] 付菲.乳牙牙髓干细胞外囊泡调控中性粒细胞免疫功能缓解牙髓炎症的作用机制研究[D].中国人民解放军空军军医大学,2024.
- [25] 徐放.基于磷脂探针修饰的 ZIF-8 材料用于细胞外囊泡的分离富集及应用研究[D].苏州大学,2024.
- [26] 马晟.一、MFSD2A 在肝细胞肝癌组织中的表达情况及临床意义 二、基于机器学习建立肺鳞癌血浆细胞外囊泡蛋白标志物的诊断和预后模型[D].北京协和医学院,2024.
- [27] 刘夺,刘培源,李连月,等. 工程化细胞外囊泡的设计合成与生物医学应用[J].合成生物学,2024,5(01):154-173.
- [28] 王珊,曹玉林,吴迪,等. 细胞外囊泡表面蛋白冠的研究进展[J].中国生物工程杂志,2024,44(Z1):134-141.
- [29] 徐文文.细胞外囊泡 LINC00482 促进肺癌脑转移的作用及机制研究[D].东南大学,2023.
- [30] 龙宜,杨佳明,叶花,等. 细胞外囊泡在少肌性肥胖中的作用及机制[J].中国组织工程研究,2024,28(02):315-320.

**版权声明:** ©2025 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



**OPEN ACCESS**