

干细胞衍生的细胞外囊泡的研究进展和质量研究考虑

巩 旭,陈 昊,王靖宇,卢加琪,韦 薇*

(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100076)

[摘要] 干细胞衍生的细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)是由干细胞分泌的脂质双层结构囊泡,具有促进组织再生和免疫调节潜力,有望成为替代干细胞治疗的新型药物。针对目前 EV 概念模糊、该类药物质量研究缺乏监管标准以及临床转化过程存在挑战等问题,本文简述其概念,总结其在临床试验中治疗多种疾病的应用,分析其质量控制要点,并探讨其在临床转化中面临的机遇,供研发人员参考。随着技术的进步和行业标准化的推进,干细胞衍生的 EV 类药物将可能在临床治疗中发挥重要作用,在生物医药产业引领新的潮流。

[关键词] 干细胞;细胞外囊泡;质量研究;临床试验

[中图分类号] R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2025)06-0625-06

Research advances and quality considerations in stem cell-derived extracellular vesicles

GONG Xu, CHEN Hao, WANG Jing-yu, LU Jia-qi, WEI Wei*

(Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100076, China)

[Abstract] Stem cell-derived extracellular vesicles (EV) are lipid bilayer structures secreted by stem cells via paracrine mechanisms. These vesicles possess the potential to promote tissue regeneration and modulate immune responses, positioning them as promising alternatives to stem cell therapy. Given the current ambiguity surrounding EV definitions, the lack of standardized guidelines for quality assessment, and challenges in clinical translation, this paper aims to elucidate their fundamental concepts, summarize their applications in clinical trials for various diseases, analyze critical quality control parameters, and discuss the opportunities and challenges faced by researchers during clinical translation. It is anticipated that with technological advancement and industry standardization, stem cell-derived EV will play a pivotal role in clinical therapeutics and drive innovation in the biomedical sector.

[Key words] stem cells; extracellular vesicles; quality study; clinical trial

近年来,细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)相关研究和应用受到了广泛关注。根据 Grand View Research 全球市场报告,截至 2030 年,全球 EV 市场预计将达到 7.94 亿美元^[1]。2022 年 5 月 10 日,国家发展改革委员会发布《“十四五”生物经济发展规

划》,外泌体(EV 的一类)治疗产品首次进入国家经济规划行列。在 EV 类产品中,干细胞衍生的 EV 携带干细胞特有的生物信息,具有潜在的组织再生和免疫调节功能,而且相较于传统干细胞疗法,其免疫原性低、生物相容性好,因此被视为一种更加安全和通用的无细胞治疗方案^[2]。目前,干细胞衍生的 EV 药物相关临床试验研究正在广泛展开,但仍面临诸如 EV 概念不清晰、质量控制缺乏统一标准等挑战。针对这些问题,本文简述 EV 的概念,阐述其临床试验的最新进展以及质量研究的关键考虑,旨在为此类品种后续的研发提供参考。考虑到此类药物尚处于研发初期,随着技术的进步,相关监管考

[基金项目] 药品监管科学全国重点实验室课题资助项目:干细胞来源细胞外囊泡的质量研究(2024SKLDRS0208)

[作者简介] 巩旭,女,博士,审评员,主要从事生物制品药理学技术评价研究。联系电话:(010)80996162, E-mail: gongx@cde.org.cn。

[通讯作者] * 韦薇,女,博士,主任药师,主要从事生物制品药理学技术评价研究。E-mail: weiw@cde.org.cn。

[DOI] 10.20251/j.cnki.1003-3734.2025.06.012

虑将逐步更新。

1 干细胞衍生的 EV 简介

根据 2023 年我国国家药品监督管理局药品审评中心发布的《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》,干细胞是指起源于成体(干)细胞(adult stem cells, ASCs or adult cells)、胚干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs),经过一系列涉及干细胞的体外操作,一般包括扩增、基因修饰、诱导分化、转(分)化等,获得的干细胞及其衍生细胞。由于干细胞具有自我更新和重建功能组织的独特能力,基于干细胞的疗法在再生医学领域中获得广泛的关注。自 1957 年世界首例使用干细胞疗法以来,已有数千项与干细胞治疗相关的项目在临床试验数据库(ClinicalTrials.gov)登记。尽管如此,目前仅有十几款来源于干细胞的产品被批准用于临床上组织修复和免疫调节,例如:在欧盟被批准用于修复受损角膜上皮细胞的 Holoclar 以及我国获批的用于治疗急性移植抗宿主病的艾米迈托赛注射液。干细胞疗法存在的局限性,如成瘤致瘤风险、输注毒性、免疫原性和伦理问题可能影响了其临床转化^[3]。

干细胞可以通过不同分泌途径产生 EV,进而发挥治疗作用^[4]。EV 是一种直径约数十纳米到数微米的球形,具有双层脂质结构,且不具有自我复制能力的囊泡。根据其形成和分泌途径,EV 主要分为两类亚群:一类是外泌体(exosome),通过晚期内体陷形成多囊泡体后,与细胞膜融合后分泌;另一类是胞外体(ectosome),由质膜出芽后直接脱落^[5]。除了这两类亚群,其他类型的 EV 也被文献报道过,如细胞凋亡过程中形成的凋亡小体。然而实际应用中,由于很难通过如实时成像等技术来识别其形成及分泌途径,国际细胞外囊泡学会(International So-

ciety for Extracellular Vesicles, ISEV)建议,在不能专门分离和表征 EV 群体时,不要使用基于生物发生的术语^[6]。在分类方面,ISEV 建议,基于 EV 的治疗产品可根据其活性成分分为 4 类:① 未经基因工程改造的细胞衍生的天然 EV。② 基因工程改造的细胞衍生的,但不含转基因产物的 EV。③ 载有化药或重组药物,本身只作为递送载体的 EV。④ 来自基因工程改造的细胞衍生的,含有转基因产物的 EV^[7]。在日本药品监督管理机构的建议性文章中,将①和②类统称为天然 EV,③和④类统称为工程化 EV^[8]。

在本文中,统称细胞释放的具有脂质双层结构的囊泡为 EV。EV 含有多种生物活性成分,如蛋白质、核酸(DNA,mRNA,miRNA 等)和脂质等,可在细胞间进行信息传递。干细胞衍生的 EV 携带干细胞特异性信息,具有潜在的组织再生和免疫调节功能,且具有体积小、可穿透血脑屏障和组织排异性较低等优势。因此,相对于干细胞疗法,干细胞衍生的 EV 通常被认为是更安全、更通用的替代方案,可用于无细胞治疗^[9]。

2 干细胞衍生的 EV 的临床试验进展

2.1 临床试验进展

众多临床试验表明,EV 可作为治疗药物或生物标记物。截至 2024 年 11 月,在 ClinicalTrials.gov 上搜索“EV”,有 64 项研究应用了治疗用 EV 药物,包含未经基因工程改造的细胞衍生的天然 EV,载有药物但本身只作为递送载体的 EV,以及基因工程改造细胞衍生的含有转基因产物的 EV。其中,干细胞衍生的 EV 药物占比约为 69%(44 项),包括 40 项间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)衍生的 EV(MSC-EV),3 项 iPSC 衍生的 EV(iPSC-EV)和 1 项未标明具体类型的干细胞衍生的 EV(见表 1)。

表 1 临床试验中的干细胞衍生的 EV 药物举例^a

EV 分类	疾病	EV 名称	临床阶段	国家
天然来源的 EV	急性呼吸窘迫综合征	MSC-EV	Ⅲ期临床	美国
	雄激素性脱发	MSC-EV	Ⅲ期临床	土耳其
	膝关节损伤	MSC-EV	Ⅱ期临床	土耳其
	失代偿性肝硬化	MSC-EV	Ⅱ期临床	伊朗
	肌萎缩侧索硬化症	MSC-EV	I/Ⅲ期临床	中国
	急性缺血性脑卒中	iPSC-EV	I 期临床	中国
	牛皮癣	MSC-EV	I 期临床	新加坡
工程化 EV	胰腺癌	含有 KrasG12D siRNA 的 MSC-EV	I 期临床	美国

a:数据来源 ClinicalTrials.gov

2.1.1 天然来源的 EV 天然来源的 EV 可治疗多领域疾病,包含癌症、泌尿生殖类疾病(如卵巢功能不全)、内分泌疾病(如 1 型糖尿病)、呼吸道疾病[如新型冠状病毒(COVID-19)]、骨科疾病(如关节病)、皮肤类疾病(如皮炎、雄激素性脱发、营养不良性大疱性表皮松解和牛皮癣)、神经科疾病(如阿尔茨海默病、癫痫、肌萎缩侧索硬化症和脑卒中)、消化科疾病(如肛瘘和失代偿性肝硬化)、心血管疾病(如心肌梗死)、牙科疾病(如牙周炎和牙槽骨萎缩)和眼科疾病(如视网膜色素变性、眼干燥症和黄斑孔病)。在这些项目中,利用天然来源的 EV 治疗 COVID-19 和皮肤科疾病相对较多。天然来源的 EV 可通过修复作用和再生作用来控制 COVID-19 引起的病毒感染和肺损伤^[10]。前者表现为阻断病毒进入和复制以及抑制细胞因子风暴,而后者表现为促进患者肺部病变的吸收、恢复肺通透性和促进肺再生;在皮肤病类疾病中,天然来源的 EV 可以通过调节免疫失衡和减少炎症反应调节皮肤细胞的增殖和迁移、促进血管生成来促进皮肤伤口愈合和组织再生,在创面愈合、特应性皮炎以及毛发再生等领域均有相关临床试验正在进行中^[11]。

2.1.2 工程化 EV 除了利用天然来源的 EV 治疗疾病,研究者也通过工程化改造 EV 提高其有效成分载量、实现特殊药物装载或改善其生物学分布和吸收。例如:MD Anderson 癌症中心利用含有 KRASG12D siRNA 的 MSC-EV 治疗胰腺癌。Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物基因(Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, KRAS)功能失常是肿瘤生长、癌细胞存活和转移的已知致癌驱动因素^[12]。针对胰腺癌中最常见的 KRAS 突变(KRAS G12D),研究者利用电穿孔使得 EV 携带靶向致癌性 KRAS G12D 的 siRNA,以抑制 KRAS G12D 的表达;同时,通过基因工程使得该 EV 携带 CD47,以延长其在循环系统中存在的时长,提高了药物运输到癌细胞的效率^[13]。据报道,在不同胰腺癌小鼠模型中,该疗法有效抑制了肿瘤的生长并显著提高了模型动物生存期^[13]。

2.2 质量研究与药学评价考虑

ISEV 于 2014 年提出了 EV 研究的基本实验要求(minimal information for studies of extracellular vesicles, MISEV),并于 2018 和 2023 年发布更新,以推动建立统一的 EV 命名、预处理、分离、表征、释放、摄取、功能和体内研究指南,为解决 EV 相关研究中分歧问题提供了方法论和操作规范^[6,14-15]。2023

年我国国家药品监督管理局药品审评中心发布《人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则(试行)》,干细胞衍生 EV 产品中干细胞部分的药学研究包括生产用原材料研究,内、外源病毒因子检测等可以参考该指南。然而,国内外药品监管机构还未明确干细胞衍生 EV 产品质量研究需要遵循的技术标准。

3 干细胞衍生 EV 的质量研究考虑

干细胞衍生的 EV 在质量研究方面面临诸多挑战,如 EV 的尺寸、结构、分子组成和功能等具有异质性;其分离和分析技术标准缺失;此外,干细胞供体来源、批次差异和生产工艺等因素都可能影响干细胞特性,进而影响 EV 的批间一致性。由于干细胞衍生的 EV 具有多样性、异质性、复杂性和进展性等特性,因此在 EV 药物的研发过程中,建议加强生产工艺过程控制,并全面考察其质量属性。这些质量属性应结合 EV 特性进行合理设置,建议包含但不限于成分分析、理化特性、纯度和杂质、生物学活性和稳定性等方面。随着本领域科学研究与技术的发展,相关内容将不断完善和更新。

3.1 成分分析

成分分析是对 EV 的表面和/或内部中蛋白质、脂质、核酸、聚糖等分子进行定量或定性表征,这对于监测产品质量和评估工艺具有必要性。尤其是 EV 产品中的功能活性成分已确定时,有必要对该成分进行定量考察。EV 的成分因其来源和工艺等因素而异。目前,尚无通用标志物可用来鉴定所有的 EV。通常,四跨膜蛋白(如 CD9,CD63 和 CD81)和晚期内体相关蛋白(如 TSG101 和 Alix)被认为是多数 EV 的标志蛋白^[6];人骨髓来源 MSC 衍生的 EV 被认为含有 MSC 的表面标志物 CD44,CD73 和 CD90^[16];对于人类多能干细胞(H9, nciPSC01, nciPS02 和 nciPS03 细胞系)衍生的 EV,基于组学分析鉴定 PODXL, OCT4, Dnmt3a, LIN28A 和 SSEA4 为其特异性的蛋白标志物^[17]。但由于 EV 的异质性,在成分选择上,建议根据其来源和功能选取产品相关的标志物进行定量分析;在质量控制方面,建议使用非单一方法进行多个成分的监测,并将成分相关数据纳入放行标准,以保证工艺和质量稳定。此外,目前常见的成分分析方法(包括上述标志蛋白的鉴定方式)多适用于对 EV 群体的分析,随着纳米流式等基于单粒子组分分析技术的发展,基于 EV 成分异质性的表征将进一步提升产品的质量可控性。

3.2 理化特性

理化特性主要包含粒径及其分布、结构形态、颗粒浓度和表面电荷等。随着分析技术的发展,不同原理的检测方法可用于上述质量属性的检测,如动态光散射(dynamic light scattering, DLS)是常见的纳米粒子粒径检测方法,将其与电泳法结合可实现对粒子的电位测量(电泳光散射法),具有操作方便、成本低的优势,但该方式无法获得单颗粒信息,且对于多分散性较高样品的测量分辨率可能较低。为准确表征 EV 的理化异质性,可将基于单纳米颗粒的表征方式组合使用,并建立标准化的功能测定方法^[18]。较常见的单纳米颗粒表征平台包括纳米颗粒跟踪分析(nanoparticle tracking analysis, NTA)、电阻脉冲传感(resistive pulse sensing, RPS)、纳米流式以及电子显微镜、混合干涉反射成像-荧光显微镜和超分辨率显微镜等基于显微镜的技术。其中,NTA 操作便捷,但最低检测限约为 70 ~ 90 nm,对于小尺寸 EV 分辨率较低^[19];RPS 可以实现对 EV 的高通量分析,但无法提供 EV 形貌结构、表型和浓度信息;纳米流式可实现对样本的高通量分析和多参数检测,但其分辨率低于显微镜技术且通常需要荧光标记;基于显微镜的技术可以通过观测获得 EV 的形态结构和颗粒尺寸信息,但检测通量较低。建议根据产品性质和临床需求等因素,综合选择检测方式,并制定对 EV 的理化质量控制指标。此外,在检测过程中,建议关注样品的处理过程(如稀释、浓缩和染色等)是否会改变其性状。

3.3 纯度和杂质

通常,纯度分析是指对 EV 制剂中存在的目标活性颗粒比例进行检测。杂质分析则包含对产品相关杂质和工艺相关杂质进行检定或定量。EV 制剂中的产品相关杂质可能包括:由于其异质性产生的不含活性成分的 EV,以及在其生产和保存过程中发生降解或性状改变的 EV 等;工艺相关杂质可能包含制备过程中细胞基质、培养基、设备和试剂等带来的杂质,如培养基中的血清和血小板裂解物引入的外源 EV、非囊泡性细胞外颗粒和 DNA 片段等^[20]。针对上述问题,有以下几点建议:① 优化工艺以减少杂质(如通过 EV 表面分子或电荷等特征优化纯化工艺)。② 必要时,对杂质进行确认和定性或定量控制。③ 尽量使用成分明确的培养基,并避免使用含动物源成分的试剂[如胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)],以降低潜在的杂质残留和外源因子

引入风险。

此外,还需要关注两类特殊的“杂质”(或称为共分离物)。一类是 EV 表面生物分子冠,即由 EV 动态吸附生物流体中的蛋白质等分子形成的表面冠层物质^[21]。由于 EV 的生物分子冠可影响 EV 的质量属性(如生物学效应和理化性质),因此不能将该类共分离物单纯地视为杂质进行去除^[21]。建议根据生产用原材料和生产工艺(如是否与血清等生物流体接触)等情况,对其进行鉴定、定性或定量研究,必要时将其纳入质量标准项。另一类共分离物可能具有与 EV 相似的尺寸或密度,使得常规的理化分析手段(如基于粒径的检测)无法鉴定该类物质。可能的解决方式包括:① 通过单位体积内 EV 的颗粒数与蛋白、脂质或其他分子的质量的比值来表征制剂纯度^[22]。② 对检测方法学进行开发或优化:如建立对杂质的定性或定量分析方法;又如通过原子力显微镜评估颗粒的力学性质,为纯度研究提供参考^[23]。③ 强化工艺过程控制。

3.4 生物学活性

与活性成分单一的生物制品相比,干细胞衍生的 EV 可能具有相对复杂的作用机制或具有多种生物学活性。因此,建议基于 EV 与临床相关的治疗活性或预期的生物学效应,对其药理作用机制进行活性测试。一般建议设立多维分析体系,如进行体外生化测试(如适用)的同时,在细胞、组织、器官或个体水平上对其生物学活性进行综合评价。

需要注意的是,在生物活性分析中,应关注 EV 的共分离物是否对其生物学功能产生协同、叠加或拮抗等影响。例如:干细胞衍生的 EV 表面生物分子冠可以调节干细胞衍生的 EV 的定向方式,进而增强肝脏对其的非吞噬性摄取^[24]。因此,有必要在生物学活性表征中进行充分的对照研究(如将生产工艺引入的共分离物、非活性或降解形式的 EV 等作为阴性对照)和方法学验证。

3.5 稳定性研究

考虑到 EV 药物的脂质双层膜结构和生物分子冠等的稳定性容易受储存运输条件影响,稳定性研究也是 EV 质量控制策略的重要方面。长期稳定性研究为确定产品的存储条件和保质期提供依据,加速稳定性和影响因素试验对于优化制造条件和配方提供必要支持。通常认为,冻融可导致 EV 的关键质量属性(如颗粒大小、电位、浓度和纯度)变化^[25],而冷冻干燥技术或优化制剂处方(包括缓冲体系、

冷冻保护剂和其他添加剂)可提高 EV 的长期稳定性^[26]。因此一般建议开展充分的处方或保存工艺研究,阐明制剂在长期或加速等条件下的稳定性变化趋势。研究方案应结合 EV 的特点、生产工艺以及临床应用等情况,考察项目应对产品的安全性和有效性等有指示意义,如可关注 EV 制剂的功效成分含量变化、生物学活性变化、膜完整性、颗粒聚集程度以及容器对制剂的吸附性等。

4 展望

近年来,干细胞衍生的 EV 被视为干细胞的无细胞疗法替代药物。研究者已确定其可实现多种干细胞功能,包括抗炎、免疫调节、组织修复和再生等,使得天然或改造的 MSC-EV 和 iPSC-EV 等在治疗多种疾病方面表现出巨大的潜力。

为加速干细胞衍生 EV 的临床转化,应对其药物管线的各个节点加以关注。如在药学方面,需要开发符合良好生产规范(good manufacturing practice, GMP)标准的干细胞衍生 EV 的制备工艺。用于实验室规模生产 EV 的传统二维细胞培养模式耗时耗力,与之相比,生物反应器形式的动态三维系统,如中空纤维生物反应器^[27],可通过在短时间内生产大量细胞和 EV 来提高生产效率。然而,干细胞及其 EV 的表型可能会由于反应器中遇到的物理应力和剪切应力而变化,使得生物反应器的工作参数优化尤为必要。在 EV 的分离纯化步骤中,差速超速离心是 EV 纯化的“金标准”,但该方法与 GMP 大规模纯化不兼容,基于分子量截流的切向流过滤可能是高效大规模分离 EV 的解决方案之一^[28]。此外,结合微流控和声学的新兴技术^[29-30],有望被应用于 EV 的大规模生产和纯化平台,来提高其产量和纯度。

在临床方面,干细胞衍生的 EV 在体内作用机制复杂,在疾病早期筛查、诊断、治疗和预后监控等不同应用场景中,需要进行丰富的样本验证。一方面, EV 进入人体后的体内分布、代谢以及不同组织和细胞的相互作用有待深入研究;另一方面,个体之间生理环境和免疫系统的差异会影响其作用效果。一种可能的解决方式是对 EV 表面标志物和内容物进行全面鉴定,并利用高通量多组学技术(如转录组、蛋白组、代谢组和表观遗传学等)对其作用机制进行深入分析,或结合精准医学理念,建立个体化的治疗方案,以提升其疗效并优化其临床应用。

干细胞衍生的 EV 作为一种具有潜力的生物活

性物质,在多个疾病领域展现了应用前景。随着技术的进步,以及基础研究、临床应用和产业转化领域协调达成共识并引领 EV 行业的标准化执行,相信干细胞衍生的 EV 将为人类健康带来更多的福祉。

[参 考 文 献]

- [1] Grand View Research. Exosomes Market Size to Reach \$ 794.2 Million by 2030 [EB/OL]. (2023). <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-exosomes-market>.
- [2] ZHANG KY, CHENG K. Stem cell-derived exosome versus stem cell therapy[J]. *Nat Rev Bioeng*, 2023, 1: 1-2.
- [3] ANISIMOV SV, MORIZANE A, CORREIA AS. Risks and mechanisms of oncological disease following stem cell transplantation [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2010, 6(3): 411-424.
- [4] DINH PC, PAUDEL D, BROCHU H, et al. Inhalation of lung spheroid cell secretome and exosomes promotes lung repair in pulmonary fibrosis[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1064.
- [5] KALLURI R, LEBLEU VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [6] WELSH JA, GOBERDHAN DCI, O'DRISCOLL L, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV 2023): From basic to advanced approaches [J]. *J Extracell Vesicles*, 2024, 13(2): e12404.
- [7] LENER T, GIMONA M, AIGNER L, et al. Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials-an ISEV position paper[J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 30087.
- [8] TAKAKURA Y, HANAYAMA R, AKIYOSHI K, et al. Quality and safety considerations for therapeutic products based on extracellular vesicles[J]. *Pharm Res*, 2024, 41(8): 1573-1594.
- [9] TAN F, LI XR, WANG Z, et al. Clinical applications of stem cell-derived exosomes[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 17.
- [10] KRISHNAN A, MUTHUSAMY S, FERNANDEZ FB, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in the management of COVID19-associated lung injury: a review on publications, clinical trials and patent landscape[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2022, 19(4): 659-673.
- [11] ZHOU CC, ZHANG BY, YANG YQ, et al. Stem cell-derived exosomes: emerging therapeutic opportunities for wound healing [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 107.
- [12] SINGHAL A, LI BT, O'REILLY EM. Targeting KRAS in cancer [J]. *Nat Med*, 2024, 30(4): 969-983.
- [13] KAMERKAR S, LEBLEU VS, SUGIMOTO H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2017, 546(7659): 498-503.
- [14] LÖTVALL J, HILL AF, HOCHBERG F, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3: 26913.
- [15] THÉRY C, WITWER KW, AIKAWA E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines [J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7(1): 1535750.
- [16] LRAMOS T, SÁNCHEZ-ABARCA LI, MUNTÓN S, et al. MSC surface markers (CD44, CD73, and CD90) can identify human MSC-derived extracellular vesicles by conventional flow cytometry [J]. *Cell Commun Signal*, 2016, 14: 2.
- [17] CHEN ZS, LUO L, YE T, et al. Identification of specific markers for human pluripotent stem cell-derived small extracellular vesicles[J]. *J Extracell Vesicles*, 2024, 13(2): e12409.
- [18] CARNEY RP, MIZENKO RR, BOZKURT BT, et al. Harnessing extracellular vesicle heterogeneity for diagnostic and therapeutic

- tic applications[J]. *Nat Nanotechnol*, 2025, 20(1): 14–25.
- [19] BACHURSKI D, SCHULDNER M, NGUYEN PH, *et al*. Extracellular vesicle measurements with nanoparticle tracking analysis-An accuracy and repeatability comparison between NanoSight NS300 and ZetaView [J]. *J Extracell Vesicles*, 2019, 8(1): 1596016.
- [20] LEHRICH BM, LIANG YX, FIANDACA MS. Foetal bovine serum influence on *in vitro* extracellular vesicle analyses[J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(3): e12061.
- [21] BUZAS EI. Opportunities and challenges in studying the extracellular vesicle Corona[J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(9): 1322–1325.
- [22] OSTEIKOETXEA X, BALOGH A, SZABÓ-TAYLOR K, *et al*. Improved characterization of EV preparations based on protein to lipid ratio and lipid properties[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121184.
- [23] RIDOLFI A, CONTI L, BRUCALE M, *et al*. Particle profiling of EV-lipoprotein mixtures by AFM nanomechanical imaging[J]. *J Extracell Vesicles*, 2023, 12(10): e12349.
- [24] LIAM-OR R, FARUQU FN, WALTERS A, *et al*. Cellular uptake and *in vivo* distribution of mesenchymal-stem-cell-derived extracellular vesicles are protein Corona dependent[J]. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19(6): 846–855.
- [25] GELIBTER S, MAROSTICA G, MANDELLI A, *et al*. The impact of storage on extracellular vesicles; a systematic study[J]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(2): e12162.
- [26] TRENKENSCHUH E, RICHTER M, HEINRICH E, *et al*. Enhancing the stabilization potential of lyophilization for extracellular vesicles[J]. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11(5): e2100538.
- [27] YAN LT, WU X. Exosomes produced from 3D cultures of umbilical cord mesenchymal stem cells in a hollow-fiber bioreactor show improved osteochondral regeneration activity[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36(2): 165–178.
- [28] LEE JH, HA DH, GO HK, *et al*. Reproducible large-scale isolation of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells and their application in acute kidney injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(13): 4774.
- [29] WU MX, OUYANG YS, WANG ZY, *et al*. Isolation of exosomes from whole blood by integrating acoustics and microfluidics[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(40): 10584–10589.
- [30] SUWATTHANARAK T, THIODORUS IA, TANAKA M, *et al*. Microfluidic-based capture and release of cancer-derived exosomes via peptide-nanowire hybrid interface [J]. *Lab Chip*, 2021, 21(3): 597–607.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2025-02-17