

## • 专家共识 •

## 中草药囊泡研究与应用专家共识（2023 年版）

中国研究型医院学会细胞外囊泡研究与应用专业委员会中草药囊泡研究与应用专家委员会，中草药囊泡广东省工程研究中心，广东省中医药学会中草药囊泡研究与应用专业委员会，广州中医药大学第三附属医院

**摘要：**为推动中草药囊泡的发展特别是标准的建立，在中国研究型医院学会细胞外囊泡研究与应用专业委员会和中草药囊泡广东省工程研究中心的支持下，由全国中草药囊泡研究与应用专家委员会牵头，邀请全国中草药囊泡领域的研究专家，在整理相关文献的基础上，以德尔菲法、共识会议与名义小组相结合的方法，形成“中草药囊泡研究与应用专家共识（2023 年版）”讨论稿。以线上线下会议方式，共同就中草药细胞外囊泡的研究现状、命名方法、分离方法、质量标准和研究应用等问题进行多轮磋商，最终达成 13 条一致意见。本共识突出中医药特色和优势，传承精华、守正创新，为国内外从事中草药囊泡研究应用提供参考，共同解码中草药囊泡背后的奥秘，为未来建立安全、有效、可控的精准化中草药囊泡防治体系，架起中医药走向世界的桥梁。

**关键词：**中草药；囊泡；研究应用；质量标准；专家共识

**中图分类号：**R285.6 **文献标志码：**A **文章编号：**0253-2670(2024)01-0012-11

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.01.002

## Consensus statement on research and application of Chinese herbal medicine-derived extracellular vesicles (2023 edition)

Expert Committee on Research and Application of Chinese Herbal Vesicles, Professional Committee on Extracellular Vesicle Research and Application, Chinese Society of Research Hospitals, Guangdong Engineering Research Center of Chinese Herbal Vesicles, Professional Committee on Research and Application of Chinese Herbal Vesicles, Guangdong Provincial Association of Chinese Medicine, The Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine

**Abstract:** To promote the development of vesicles of Chinese herbal medicine and especially the establishment of standardization, led by the National Expert Committee on Research and Application of Chinese Herbal Vesicles, research experts in the field of Chinese herbal medicine vesicles were invited nationwide with the support of the Professional Committee on Research and Application of Extracellular Vesicles of the Chinese Society of Research Hospitals and the Guangdong Engineering Research Center of Herbal Vesicles. Based on the collation of relevant literature, we have adopted the Delphi method, the consensus meeting method combined with the nominal group method to form a discussion draft of “consensus statement on research and application of Chinese herbal medicine-derived extracellular vesicles (2023 edition)”. In the form of online and offline meetings, multiple rounds of consultations were conducted on the research status of extracellular vesicles of Chinese herbal medicine, naming methods, separation methods, quality standards and research applications, and 13 consensus opinions were finally formed. This consensus highlights the characteristics and advantages of Chinese medicine, inherits the essence, and keeps the righteousness and innovation, aiming to provide a reference for colleagues engaged in research and application of Chinese herbal vesicles at home and abroad, decode the mystery behind Chinese herbal vesicles together, establish a safe, effective and controllable accurate Chinese herbal vesicle prevention and treatment system, and build a bridge for Chinese medicine to the world.

**Key words:** Chinese herbal medicine; extracellular vesicles; research application; quality standard; expert consensus

收稿日期：2023-09-15

基金项目：国家自然科学基金面上项目（82174119）；广州市科学协会青年人才托举工程项目（QT-2023-036）

\*通信作者：赵可伟，主任技师，博士生导师，从事中草药囊泡的研究与应用。E-mail: zkw2011@gzucm.edu.cn

郑磊，教授，博士生导师，从事肿瘤液体活检新技术。E-mail: nfyzhenglei@smu.edu.cn

细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 是由几乎所有细胞类型释放的纳米级脂质双层囊泡, 包括外泌体、微囊泡和凋亡小体等。EVs 广泛存在于各种体液和细胞上清中, 并稳定携带核酸、蛋白质、脂质等重要的生物分子, 参与病理和生理过程的调控, 如细胞增殖分化、血管生成和免疫应答等, 具有多种生物活性, 是信息交流的重要载体<sup>[1-2]</sup>。植物 EVs 在形态 (纳米囊泡)、组成 (脂质、RNA 和蛋白质) 和功能上与哺乳动物 EVs 相似, 但因细胞壁的存在而以非细胞自主的方式发挥重要作用, 甚至能在物种之间交换生物信息。植物 EVs 凭借来源广、产率高、活性明显等优点受到广泛关注<sup>[3-6]</sup>。本共识所指中草药囊泡是严格来源于中草药细胞外液的 EVs 和来源于中草药汁液的 EVs 样颗粒 (extracellular vesicles-like particles, EVLP) 2 种纳米结构的统称。

自 2021 年 10 月全国 EVs 大会首届中草药囊泡研究论坛以来, 中草药囊泡研究取得了诸多标志性的进展, 同时也呈现出一些共性问题。为推动中草药囊泡的发展, 特别是标准的建立, 由全国中草药囊泡研究与应用专家委员会牵头, 邀请全国中草药囊泡领域的研究专家, 在整理相关文献的基础上, 以德尔菲法、共识会议与名义小组相结合的方法, 形成“中草药囊泡研究与应用专家共识”, 旨在联合国内外研究学者们共同建立安全、有效、可控的精准化中草药囊泡研究和应用体系。

本共识采取文献研究证据和专家研究基础相结合的方式, 对中草药囊泡研究及临床应用的相关问题形成共识建议, 且随着中草药囊泡研究与临床应用转化的不断进展, 以及新的循证证据的出现而予以不断更新和修订; 应用本共识时须充分考虑所研究中草药的实际情况。

## 1 中草药囊泡研究的现状和存在问题

自 1967 年首次发现胡萝卜细胞中的多囊泡体<sup>[7]</sup>、2009 年首次从葵花籽中分离出外泌体样膜层结构的囊泡<sup>[8]</sup>以来, 植物衍生的纳米囊泡由于其来源丰富等优势以及对生物医学和纳米技术应用的广阔前景而备受关注<sup>[4]</sup>。从多种均质化的植物和果汁<sup>[9-13]</sup>中, 均发现形态和分子特征与哺乳动物 EVs 类似的膜封闭结构, 具有潜在的生物活性, 其中最显著的是抗炎<sup>[14]</sup>、抗癌<sup>[15-16]</sup>和抗氧化<sup>[17]</sup>等作用。

近年来已开展人参<sup>[18]</sup>、生姜<sup>[19]</sup>、大蒜<sup>[20]</sup>、芦荟<sup>[21]</sup>、姜黄<sup>[22]</sup>、桑白皮<sup>[23]</sup>、紫菀<sup>[24]</sup>、天冬<sup>[25]</sup>和骨碎补<sup>[26]</sup>等中草药囊泡的相关研究, 中草药囊泡作为当前医学和纳米技术发展的一部分可能为药物的发现和应用开辟新的途径。中草药囊泡来源于天然植物, 具有多组分、多功能的特点, 容易被生物体吸收, 可以作为生物治疗剂和药物递送载体, 有助于解决许多活性成分生物利用度差的问题, 具有更好的生物安全性。利用中草药囊泡与蛋白质、RNA 和生物活性物质结合等作用, 中草药囊泡也可作为药物发现的重要工具。

研究表明中草药囊泡可能引起不良免疫应答和调节活性等, 这与其大小和异质性有关。由于中草药囊泡中的生物活性成分未知, 在应用时还可能面临潜在的生物安全性和毒性等相关的问题。为了克服中草药囊泡的这些缺点, 应优化其分离方法以获得稳定的纳米囊泡, 并评估其形态特征、定量和活性成分等与功能相关的详细信息。另外, 中草药囊泡分泌机制尚不明确, 还需进一步研究。

基于中草药囊泡研究的现状和存在问题形成专家共识意见 1、2。

## 2 制订中草药囊泡研究与应用专家共识的意义

传统中草药具有独特的思维理念和简便验廉的

### 共识意见 1

传统要跟着时代走。中草药资源丰富, 通过 EVs 的研究可拓展其应用, 发挥其优势。中草药囊泡具有发展成为下一代治疗药物的潜力, 迫切需要本领域研究学者共同发现问题、解决问题, 将中医药发展壮大, 走上现代化、规范化、精准化的必由之路。

### 共识意见 2

在中草药囊泡用作治疗剂和药物载体之前, 安全性评估是必要和首要考虑的问题。中草药囊泡并非来源于人体, 是其体内产生免疫原性考虑的主要原因之一。给药途径是影响安全性的重要因素, 一般认为, 对于经过长期临床实践验证的口服中草药, 口服给药中草药囊泡是相对安全的方式; 对于非胃肠道给药方式, 要通过仔细的研究验证。中草药囊泡的安全性和免疫原性的证据仍然缺乏, 需要更多的关注和研究。

优势, 与现代医学 EVs 结合协同互补, 传承精华、守正创新, 是中药现代化和精准化的体现。专家们认真学习借鉴各方面的好经验、好做法形成本共识, 将共识内容运用到中医药传承创新发展的全过程, 有助于加强同领域研究者之间交流合作, 进一步提升中医药治理能力和水平, 共同推动中医药高质量发展, 为加快健康中国建设、促进经济社会高质量发展贡献更多智慧和力量。

大量研究者已在中草药 EVs 领域进行了深入的研究, 产出了众多优秀的学术成果, 但领域内仍存在一些关键的争议问题。例如, 中草药囊泡命名多样不统一, 中草药囊泡提取方法的选择、产量和纯度的提高, 分泌的可能机制的探索, 质量标准的确定, 功能研究时的实验设计, 转化和临床应用时的安全性问题等。凝聚共识、回答问题、解决争议不仅需要专家们的智慧和经验, 更需要厘清问题、集中力量、合作探索。为推动中草药囊泡命名、提取、质量控制和应用的规范和标准的建立, 推动中草药囊泡研究与应用更好、更快的发展, 吸引和指引相关研究学者进入中草药囊泡研究领域, 凝聚共识是第 1 步, 也是未来研究的基础。

### 3 中草药囊泡命名方法

中草药囊泡目前的命名多种多样, 尚未统一。中草药囊泡名称由中草药和囊泡 2 部分组成。中药名称部分有以拉丁名、英文名或中文拼音命名的, 囊泡名称部分有以 EVs、囊泡样纳米颗粒、外泌体样纳米颗粒、外泌体样纳米囊泡、汤剂体等命名。例如, 姜黄来源的外泌体样纳米颗粒 (turmeric-derived exosome-like nanoparticles, TDNPs)<sup>[22]</sup>、大蒜外泌体样纳米颗粒 (garlic exosome-like nanoparticles, GaELNs)<sup>[20]</sup>、天冬来源的外泌体样纳米囊泡 [*Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.-derived exosome-like nanovesicles, ACNVs]<sup>[25]</sup>、苦瓜来源的 EVs 样纳米颗粒 (*Momordica charantia*-derived extracellular vesicles-

like nanovesicles, MCELNs)<sup>[27]</sup>、人参来源 EVs (ginseng-derived extracellular vesicles, GEVs)<sup>[18]</sup>、石榴来源的 EVs (extracellular vesicles from pomegranate juice, PgEVs)<sup>[28]</sup>、红景天汤剂体 (decoctosome)<sup>[29]</sup>等。随着相关研究的日益增多, 由于尚缺乏明确的生物发生途径以及严格的理化性质表征, 定义不明确、命名不统一和不规范的现象将会越来越严重。规范命名将是中草药囊泡标准化、国际化迈出的第一步。

#### 3.1 中草药部分

中草药囊泡来源于中草药, 为推进标准化进程, 以《中国药典》为标准, 采用其植物标准拉丁名。为了避免缩写重复率过高, 建议用至少 2 位首字母缩写。需要注意的是, 在学术成果的正文部分需注明中草药的产地来源、拉丁名、汉语拼音等尽可能详细全面的资料, 应避免因语言文化差异造成混乱和负面含义。

#### 3.2 囊泡部分

EVs 作为封闭脂质双层的细胞来源颗粒物的统称, 在 2011 年由 György 等<sup>[30]</sup>首次提出。2018 年国际 EVs 研究协会 (International Society for Extracellular Vesicles, ISEV) 在 *Journal of Extracellular Vesicles* 上发布囊泡研究的最少实验要求 (minimal information for studies of extracellular vesicles, MISEV)<sup>[31]</sup>, 定义 EVs 为所有由细胞天然释放到细胞外空间的具有脂质双层膜结构且不能复制 (不含有功能的细胞核) 的囊泡样颗粒物 (EV-like particles, EVLP) 的统称。MISEV 建议根据分离方法不同使用操作性的名称和尺寸限制的命名方式, 将无法通过 MISEV 标准确认 EVs 特性的颗粒称为细胞外颗粒 (extracellular particle, EP), 不含脂质双层的颗粒是指非囊泡状细胞外颗粒 (non-vesicular extracellular particle, NVEP)<sup>[31-33]</sup>。

基于中草药囊泡命名规则专家组形成共识意见 3、4。

#### 共识意见 3

参考 MISEV 指南, 结合中草药囊泡的特色和国际化发展的目标, 命名建议: 统称为中草药来源 EVs 样颗粒 (Chinese herbal medicine derived EV-like particles, CHM-EVLP), 简称为中草药囊泡; 具体到某个中草药, 采用最新版《中国药典》中的药物拉丁名, 如黄芪来源 EVs 样颗粒 (*Astragali Radix*-derived EV-like particles, AR-EVLP); 广藿香来源 EVs 样颗粒 (*Pogostemon cablin*-derived EV-like particles, PC-EVLP)。

#### 共识意见 4

对于中草药复方囊泡的命名, 因其有单味药囊泡的复合物与复方煎煮汤剂分离囊泡的区别, 目前相关研究较少, 需要持续关注相关研究成果, 总结复方囊泡的性状和功能, 再做命名规范。

## 4 中草药囊泡分离方法

### 4.1 中草药初处理

我国中草药种类多、分布广、资源丰富。中草药有根、茎、叶、花、树皮、果实、种子和干燥地上部分等分类。针对新鲜中草药，目前文献研究中榨汁破壁法为主要处理手段，如生姜囊泡、大蒜囊泡<sup>[20]</sup>、人参纳米囊泡等。榨汁破壁的方法处理中草药容易操作、效率高、产量大，但破壁会造成细胞膜破裂，胞内容物释放，膜结构重排。其次是真空渗透质外洗液（apoplasmic washing fluid, AWF），Huang 等<sup>[34]</sup>介绍了一种分离拟南芥质外体的方法，

真空渗透获得的细胞结构完整，胞内容物污染少，但操作相对繁琐、时间长、产量低。已有研究者对破壁和渗透离心法进行对比，发现真空渗透法获得的拟南芥 EVs 粒径更小、电位更低、密度更小、脂膜厚度更高<sup>[35]</sup>。Zhao 等<sup>[36]</sup>提出用纤维素酶和果胶酶等消化破壁获得巴戟天来源的 EVs。

蒋澄宇教授研究团队<sup>[29]</sup>从植物汤剂中提取具有热稳定性外泌体样膜结构的纳米颗粒状物质称为“汤剂体”，其对蒲公英和穿心莲等中草药的初处理手段可作为中草药水煎液 EVs 制备的参考方法。

基于中草药的初处理专家组形成共识意见 5。

#### 共识意见 5

中草药种类丰富多样，大多数新鲜中草药的囊泡提取都可用榨汁破壁初处理，其中含汁液较多的新鲜中草药可直接挤压出汁或破壁榨汁；有部分汁液丰富的中草药因纤维成分多，破壁榨汁会产生大量絮状纤维复合物，在离心/过滤过程中难以去除，挤压是更适合收取汁液的方法；干品（仅晒干但未经炮制的）、含汁液不多的中草药可以添加适量预冷的磷酸盐缓冲液后破壁榨汁；新鲜叶类可通过渗透收集质外洗液获取囊泡。果实类、种子类等含果胶成分较多的中草药不适合榨汁，建议可酶法消化细胞壁初处理。

### 4.2 差速超高速离心法

以上初处理手段结合差速超高速离心法是目前广泛用于分离囊泡的方法，但各研究团队离心参数各不相同，最佳离心方案尚未统一。离心法也有较为明显的缺点，包括潜在造成囊泡聚集、回收率低，且由于高离心速度可能导致的囊泡完整性受损，加之需要大型超高速离心设备。

蔗糖密度梯度离心<sup>[37]</sup>、碘二醇梯度分离<sup>[38]</sup>在较低的密度下可观察到分离良好的可见条带，比哺乳动物 EVs 的密度要高。基于密度的分离也有不足，即分离密度相似但不同的粒子分子含量或细胞来源囊泡，且回收率低。

### 4.3 超滤法

超滤是使用具有不同相对分子质量截留值的超细纳米过滤膜从中草药汁液中分离 EVs。与超速离心方法相比，基于超滤的分离大大缩短了处理时间，为经典的超速离心策略提供了理想的替代方法。如切向流过滤（tangential flow filtration, TFF）<sup>[39]</sup>解决由于过滤膜上大颗粒堆积而造成的堵塞问题。

### 4.4 尺寸排阻色谱法

尺寸排阻色谱法（size exclusion chromatography, SEC）是当中草药溶液通过由多孔树脂颗粒组成的固定相时，分子可因不同尺寸得到分离；不同尺寸的颗粒表现出不同的保留时间，有助于基于尺寸的

分离。SEC 能够保留分离囊泡的天然生物活性；与超高速离心和超滤不同，SEC 通过被动重力流不会影响囊泡结构和完整性；通过选择具有生理渗透压和黏度的洗脱缓冲液 [如磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline, PBS）]，可以进一步增强中草药囊泡的自然状态。但其大规模产业化的挑战在于设备成本相对较高，并且需要额外的富集方法<sup>[40]</sup>。

### 4.5 免疫亲和捕获法

有研究者将抗体固定在固体表面上进行外泌体分离，成功开发首个靶向植物 EVs 膜蛋白的免疫磁珠<sup>[41]</sup>。由于其有较大的表面积和近乎均匀的工艺而可以达到较高的捕获效率和灵敏度，而且还可容纳较大的起始样品量，因此允许针对特定应用进行升级或缩小。但需要考虑到的是，相关的非中性 pH 和非生理洗脱缓冲液（用于将囊泡与抗体分离）可能会不可逆地影响所收集的 EVs 的生物学功能。此外，该方法还存在产量较低、抗体成本较高的问题，化学抗体或许是下一步的改进方向。但中草药囊泡标志性蛋白目前尚不清楚，缺乏商品化抗体。

### 4.6 聚合物沉淀法

高亲水性的聚合物与囊泡周围的水分子相互作用，产生疏水性微环境，使其沉淀。在各种亲水性聚合物中，聚乙二醇（polyethylene glycol, PEG）是一种具有良好生物相容性的无毒聚合物（医药产品

的常用赋形剂), 具有重塑周围材料水溶性的能力, 已被广泛使用。应用 PEG 沉淀中草药囊泡, 是一种很有前途的大规模分离中草药 EVs 的方法。聚合物沉淀法的优势在于设备需求低、样品量兼容性高、效率高, 但所需处理时间较长, 需要复杂的化合物去除步骤, 会因此影响下游分析和定量的结果。其制备的中草药囊泡纯度较其他方案低, 但可优化<sup>[42]</sup>。

#### 4.7 其他方法

电泳结合  $3 \times 10^5$  截留量透析袋从柠檬汁中分

离柠檬源性胞外小泡, 分离的完整囊泡具有与标准方法超速离心法得到的囊泡相似的大小和数量<sup>[43]</sup>。该方法省时且不需要特殊设备, 可在任何常规生物实验室进行。一种快速毛细管通道聚合物纤维旋下尖端方法 (capillary-channeled polymer, C-CP) 被证实可从 20 种常见水果和蔬菜 (包括中药生姜等) 中分离 EVs<sup>[44]</sup>。

基于中草药囊泡的分离方法专家组形成共识意见 6。

#### 共识意见 6

当分离对象为高纯度 EVs 时, 推荐使用密度梯度离心; 当分离对象为中草药 EVs 样颗粒时, 推荐使用切向流超滤和 SEC 法。推荐结合不同临床应用和科学研究问题、设备条件、成本经济及中草药特点在机构内开展验证性实验, 从而最终选用适合的分离提取方法。鼓励本领域研究者们共同协作, 在现有技术方法的基础上继续探索和优化创新适宜的研究方法, 优化创新分离方法, 不断提高中草药囊泡分离的效率。

## 5 中草药囊泡质量控制

中草药囊泡的研究与应用, 除分离纯化方法和稳定性等方面需要仔细斟酌, 全面的质量控制, 最大限度地减少由于囊泡异质性造成的批间差异也是非常重要的。

### 5.1 形态

中草药囊泡呈直径 30~400 nm 的典型茶托样形态, 可通过透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM)、扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM)、原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM)、冷冻电子显微镜 (cryo-electron microscope, Cyro-EM) 进行观测。这些仪器检测各有优缺点, 其中应用最广的是容易操作且效率高的 TEM, 但测试前对样品进行脱水和固定可能导致细胞外囊泡样纳米颗粒变形。SEM 可以进行动态观察, 但分辨率相对较低, 样本类型要求苛刻; AFM 分辨率高, 但扫描速度慢、成本高、图像尺寸单一; Cyro-EM 能呈现囊泡的真实状态, 但冷冻导致样品脆性增大, 无法有目的的选择视野。

### 5.2 粒径、电位、浓度和产率

动态光散射技术 (dynamic light scattering, DLS) 测量光强的波动随时间的变化反映中草药囊泡的粒径和电位。纳米颗粒追踪分析技术 (nanoparticle tracking analysis, NTA) 根据光散射和布朗运动检测囊泡粒径和浓度。纳米流式检测技术 (nano-flow cytometry, nFCM) 可用于检测粒子粒径和浓度。激光透射光谱技术 (laser transmission spectrum, LTS)

可对入射光频率不同的散射光谱进行分析, 得到分子振动、转动方面信息用于粒径分析。

### 5.3 纯度

中草药囊泡纯度即每毫克蛋白含粒子数 (particles/mg)。

**5.3.1 双吡啶卡宾酸实验 (bicinchoninic acid assay, BCA)** BCA 检测中草药囊泡蛋白浓度, NTA 或 nFCM 获得粒子浓度, 换算得到每毫克囊泡蛋白所含粒子数。

**5.3.2 Triton X-100 破膜实验** Triton X-100 可对有膜囊泡颗粒进行裂解, 而对无膜颗粒影响不大 (Triton X-100 对部分脂类/脂蛋白等颗粒有一定的裂解作用), Triton X-100 孵育裂解后纳米流式检测仪检测中草药囊泡样品中有膜颗粒占比, 可在一定程度上间接反映其纯度。

以上 2 种方法无法对杂质成分及含量进行评估, 因此有学者提出尺寸排阻高效液相色谱 (size exclusion-high-performance liquid chromatography, SEC-HPLC) 的分离和检测方法, 可以排除核酸和蛋白杂质的干扰。

基于中草药囊泡粒径、电位、浓度、产率和纯度专家组形成共识意见 7。

### 5.4 内容物

**5.4.1 蛋白质** 中草药囊泡裂解后采用 BCA 检测其蛋白浓度。有研究对拟南芥、橄榄、烟草、向日葵的蛋白组学进行交集发现共同表达蛋白: 热休克蛋白 HSP70、S-腺苷同型半胱氨酸酶、甘油醛 3 磷

## 共识意见 7

建议检测中草药囊泡的形态、电位、粒径、粒子浓度和颗粒蛋白比 (particles/ $\mu\text{g}$ )。当严格以 EVs 为评价对象时, 应对 Triton X-100 破膜效率进行检测, 建议 1% Triton X-100 破膜效率达到 80% 以上。另外, 因中草药资源丰富、来源便捷的优势, 研究者需要关注中草药囊泡的产率, 即每克中草药中获得的囊泡粒子数或囊泡蛋白量。

酸脱氢酶<sup>[45]</sup>。植物和中草药囊泡目前还没有明确的特异性蛋白标志物。

**5.4.2 核酸** 采用 DNA/RNA 电泳检测核酸条带; RNA 测序发现具体功能性片段。已有研究发现拟南芥 EVs 装载各种功能性 RNA 和不同 RNA 降解片段, 可能对人类基因有调控作用<sup>[46]</sup>。

**5.4.3 脂质** 采用薄层液相色谱检测脂质; 脂质组

学筛选特征性脂质成分。例如, 拟南芥叶片组织和 EVs 脂质组成不同, EVs 含有大量的鞘磷脂<sup>[47]</sup>。

**5.4.4 代谢物** 可通过高效液相色谱-质谱和代谢组学研究对中草药囊泡的代谢物进行分析。生姜囊泡通过代谢组学和脂质组学检测发现其中的姜烯酚可以逆转酒精性肝损伤<sup>[19]</sup>。

基于中草药囊泡内容物专家组形成共识意见 8。

## 共识意见 8

中草药囊泡、植物囊泡已有的蛋白/脂质/代谢标志物涉及种类少, 缺乏共通性, 机制未阐明, 亟需开发中草药囊泡的通用和种类特异的标志物。建议研究者广泛开展组学研究, 对中草药囊泡进行脂质、核酸、蛋白及代谢物分析、有害物分析等多参数、多指标评价, 有利于发现中草药囊泡标志物、分析中草药囊泡的药用价值、下游转化和针对性用药。

**5.5 标志性小分子化合物**

中草药已有《中国药典》作为质控标准, 中草药囊泡来源于中药, 药典规定的指标成分含量标准可作为中草药囊泡的质量标准<sup>[19]</sup>。通过特征图谱、

质谱检测囊泡中的标志性小分子化合物, 一方面对应国家行业标准有无特征谱图, 一方面对应《中国药典》中有效成分含量是否达标。基于中草药囊泡内标志性成分专家组形成共识意见 9。

## 共识意见 9

推荐根据《中国药典》将中草药囊泡按照中草药新剂型进行质量控制。所研究的中草药囊泡内标志性成分的含量也可作为质控指标之一。

**5.6 生物活性**

中草药囊泡蕴含了中草药中绝大部分的活性成分, 是中草药有效成分浓缩的精华。张明真团队<sup>[22]</sup>从姜黄根茎中获取了姜黄 EVLP, 具有优异的抗炎、抗氧化性能。在口服条件下能安全穿越上消化道并有效富集在结肠炎症部位, 通过调控核因子- $\kappa\text{B}$  (nuclear factor- $\kappa\text{B}$ , NF- $\kappa\text{B}$ ) 信号通路显著缓解硫酸葡聚糖钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) 诱导的溃疡性结肠炎及促进炎症的快速消退。张皇阁团队<sup>[48]</sup>发现生姜 EVs 中的小 RNA 能影响肠道菌群, 并完善肠道的屏障功能, 通过激活芳香烃受体 (arylhydrocarbon receptor, AHR) 途径诱导白细胞介素-22 (interleukin-22, IL-22) 表达以加强鼠李糖乳杆菌 (Lactobacillus rhamnosus GG, LGG) 介导的小鼠结肠炎抑制作用。曹鹏团队<sup>[18]</sup>发现人参 EVLP 改变巨噬细胞极化以抑制黑色素瘤生长, 并可重编程肿

瘤微环境增强免疫检查点抗体功效<sup>[49]</sup>。

北京协和医学院蒋澄宇团队<sup>[29]</sup>从红景天汤剂中提取了含小 RNA-m7 (Hongjingtian-derived small RNA m7, HJT-sRNA-m7) 的外泌体, 通过体内外实验证实其具有良好的抗肺纤维化作用。该研究发现红景天 EVLP 在减轻小鼠疾病症状中起着重要作用, 并进一步确定药用植物外泌体作为新的活性成分的价值。中草药汤剂体展现生物活性, 小 RNA 与汤剂脂质成分共组装形成汤剂体。

这些研究结果揭示了中草药囊泡包括复方汤剂体, 可以被人体摄取, 其包含的微小 RNA (microRNA, miRNA) 等分子可以与靶器官和基因相互作用以防治疾病, 同时也从侧面证实中草药囊泡可以作为一种新的中药活性成分。

基于中草药囊泡生物活性专家组形成共识意见 10。

## 共识意见 10

不同的中药具有不同的生长年限，其药用价值也随之不同，产生的 EVs 内的各生物标志物的种类和表达量也会随之不同，需要对其进行一系列的研究；不同的中药的药用价值通过其不同的炮制方法体现，炮制方法是否会影响中药分泌的胞外囊泡的功能，需要对其进行研究。同一中草药不同部位的功效有一定差别，对其进行分部位囊泡提取，对比囊泡在含量、生物活性或者药物传递能力等方面的差异，对中草药囊泡标准化提供依据。

## 6 中草药囊泡的应用

研究表明中草药囊泡生物相容性良好且可大批量分离提取，具有较好的应用潜力和前景。植物药是中药的主要组成部分，其所含的黄酮、皂苷、生物碱等次生代谢产物已被系统性研究。但由于中药多成分、多靶点、多途径的作用特点，许多中药的有效成分及作用机制仍未得到有效阐释。随着在人乳中检测到植物 miRNA，并且可能影响婴儿体中几条重要的生物途径<sup>[50]</sup>，以及美国加州大学河滨分校金海翎课题组发现了宿主拟南芥细胞 EVs 可以传递 sRNAs 至真菌病原体灰霉病菌并富集，诱导关键致病性真菌基因沉默等<sup>[51]</sup>，以 EVs 作为中药活性成分的研究也在逐渐展开。

## 6.1 抵抗和防御功能的应用

拟南芥 EVs 参与植物免疫应答，假单胞菌感染后拟南芥分泌 EVs 富含参与生物胁迫反应的蛋白质——防御蛋白<sup>[51]</sup>。Cai 等<sup>[52]</sup>首次系统验证拟南芥 EVs 的抗真菌功能，富含小 RNA 的 EVs 聚集在感染部位内化裂解 mRNA 沉默靶基因。生姜来源的纳米颗粒可预防酒精诱导的肝损伤并抑制牙

龈卟啉单胞菌的致病性<sup>[53]</sup>。

## 6.2 医疗美容与护肤品领域的应用

中草药囊泡可携带原细胞分泌的蛋白质、活性因子等高生物活性物质，激活细胞再生功能，渗入皮肤后释放囊泡包裹的营养物质，持续滋养，调整细胞微环境，增强细胞活力，进而促进细胞迁移，促进胶原蛋白及弹性修复损伤、细胞再生，恢复皮肤年轻态。如黄漆木囊泡可减少黑色素生成和降低酪氨酸酶活性以促进皮肤美白<sup>[54]</sup>。

## 6.3 促进伤口愈合的应用

中草药囊泡可以修复损伤组织、促进细胞生长及调节免疫反应，通过大部分毛细血管到达远处损伤部位，并且可与现有已知活性药物进行组合，增强疗效，促进炎症消除和伤口愈合。

## 6.4 其他应用

中草药囊泡已在皮肤再生、免疫调节、抗炎、抗肿瘤等方面发挥生物学功能并得到广泛应用。例如，生姜纳米颗粒可以防止酒精性肝损伤，抑制牙龈卟啉单胞菌致病性等。中草药囊泡也可用于临床增效减毒、靶向治疗。

基于中草药囊泡的应用专家组形成共识意见 11、12。

## 共识意见 11

我国传统中草药多内伤口服，外伤外敷。研究者以对比中草药囊泡治疗效果为目的的研究可选择一致的给药方式，首选口服给药；以探明治疗机制为目的的研究可选择多种给药方式，如口服递送、尾静脉注射、腹腔注射等；同时也要根据疾病情况具体问题具体分析，如阿尔茨海默病采用侧脑室注射、创伤采用外敷等方法。

## 共识意见 12

中草药囊泡的研究考虑适应证时，不拘泥于传统中药，应保证中草药囊泡的安全、产率、纯度和标准化，是实现应用转化的前提。

## 7 其他需要探索的问题

随着 EVs 领域研究的不断深入，其有望作为药物、医美护肤品、疫苗递送的重要载体即“新型纳米递送系统”。有研究发现人参囊泡可通过运载 miRNA 刺激干细胞的神经分化<sup>[55]</sup>，以柠檬囊泡负载阿霉素可以克服癌症耐药性<sup>[15]</sup>，葡萄柚囊泡融合活化的白细胞膜可搭载抗癌药物杀伤肿瘤<sup>[56]</sup>。其中，中草药传统的归经特性决定其具有天然的优秀靶向能力，中草药囊泡通过工程化修饰可靶向到特定的

组织和器官，解决传统递送系统难以解决的靶向问题；纳米级囊泡携带细胞表面分子具有克服生物屏障的能力，且安全、经济、方便储存。

我国幅员辽阔、地形复杂及显著的气候差异和土壤环境，为各类药用植物的生长和繁殖提供了得天独厚的生态条件，因而蕴藏着丰富的药材资源。中草药的地域性、多样性、安全性和稳定性问题也增加了中草药囊泡研究的复杂性。基于中草药道地性、药性等特性专家组形成共识意见 13。

## 共识意见 13

功能性研究对象优先选择道地药材。选择特定环境和生长年限、疗效稳定的药材进行研究,提高实验可重复性。鼓励研究者们对不同产地、不同生长年限的某一中草药进行系统研究。如能将中草药囊泡与中药四气五味、升降浮沉、归经的特性相结合,用现代研究解释传统中药理论,将是中医药现代化的一大突破。

## 8 结语与展望

中草药作为中药材是中华民族在与疾病长期斗争的过程中积累的宝贵财富。国务院印发的《中医药发展战略规划纲要》中指出,在继承发扬中医药优势特色的基础上,充分利用现代科学技术,推动中药现代化和国际化,以满足时代发展和民众日益增长的医疗保健需求。中草药免疫原性低、安全性高、可大批量低成本生产制备,使中草药囊泡在防治疾病或作为药物运输载体产生协调治疗效果等方面将发挥极大的优势。但也面临一些挑战:中草药囊泡提纯方法的开发和标准化、特异性标志物的筛选、生物功能等。中草药囊泡研究与应用是中医药现代化新机遇,应用前景无限,机遇与挑战并存。

本共识汇聚国内中草药及囊泡相关领域专家学者的智慧,博极医源,汲古求新,充分结合和发挥传统中医药独特优势,期望能引领国内外中草药囊泡研究领域的高质量发展,取得更高、更快、更强的突破性成果,有力地推动中医药传承创新发展。

本共识参照《中医药临床应用专家共识的报告规范》的规则制订,由中国研究型医院学会细胞外囊泡专业委员会中草药囊泡研究与应用专业委员会、广东省中医药学会中草药囊泡研究与应用专业委员会与中草药囊泡广东省工程研究中心共同提出并发布。

## 共识编写专业委员会

## 学术顾问 (按姓氏拼音排列)

蒋澄宇 中国医学科学院基础医学研究所

王 前 南方医科大学珠江医院

王 伟 广州中医药大学

## 共识召集人

赵可伟 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心

## 编写组长 (按姓氏拼音排列)

曹 鹏 南京中医药大学

王宏斌 广州中医药大学

王 通 暨南大学附属第一医院

赵可伟 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心

郑 磊 南方医科大学南方医院

## 主要执笔专家

赵 清 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心

王 通 暨南大学附属第一医院

赵可伟 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心

## 编写组专家 (按姓氏拼音排列)

曹 鹏 南京中医药大学

陈 熹 南京大学

樊俊兵 南方医科大学

姜云耀 清华大学

蒋澄宇 中国医学科学院基础医学研究所

靳红磊 广州中医药大学

李 博 南方医科大学南方医院

李 耿 广州中医药大学

李智洋 南京大学医学院附属鼓楼医院

林兴栋 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心

刘笔锋 华中科技大学

彭丽华 浙江大学

齐素华 徐州医科大学

乔宏志 南京中医药大学

汪 洪 上海市第六人民医院

王宏斌 广州中医药大学

王胜鹏 澳门大学

王 通 暨南大学附属第一医院

王 莺 南方医科大学基础医学院

张还添 暨南大学附属第一医院

张明真 西安交通大学

赵可伟 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心

赵 清 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心

郑建建 温州医科大学附属第一医院

郑 磊 南方医科大学南方医院

周玖瑶 广州中医药大学

**利益冲突** 所有参与本共识制订的专家均声明不存在

利益冲突。

**志谢** 本共识形成得到中国研究型医院学会细胞外囊泡研究与应用专业委员会(CSEV)、广东省中医药学会中草药囊泡研究与应用专业委员会和中草药囊泡广东省工程研究中心的支持。

#### 通信作者

赵可伟 广州中医药大学第三附属医院, 中草药囊泡广东省工程研究中心, 中国研究型医院学会细胞外囊泡专业委员会中草药囊泡研究与应用专家委员会, 广东省中医药学会中草药囊泡研究与应用专业委员会, 广州市中医药防治骨质疏松研究重点实验室

郑磊 南方医科大学南方医院

#### 参考文献

- [1] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(4): 213-228.
- [2] Weng Z J, Zhang B W, Wu C Z, et al. Therapeutic roles of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 136.
- [3] Feng J J, Xiu Q, Huang Y Y, et al. Plant-derived vesicle-like nanoparticles as promising biotherapeutic tools: Present and future [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(24): e2207826.
- [4] Cong M H, Tan S Y, Li S M, et al. Technology insight: Plant-derived vesicles-How far from the clinical biotherapeutics and therapeutic drug carriers? [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 182: 114108.
- [5] Dad H A, Gu T W, Zhu A Q, et al. Plant exosome-like nanovesicles: Emerging therapeutics and drug delivery nanoplatfoms [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(1): 13-31.
- [6] Pinedo M, de la Canal L, de Marcos Lousa C. A call for Rigor and standardization in plant extracellular vesicle research [J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(6): e12048.
- [7] Halperin W, Jensen W A. Ultrastructural changes during growth and embryogenesis in carrot cell cultures [J]. *J Ultrastruct Res*, 1967, 18(3): 428-443.
- [8] An Q L, van Bel A J, Hüchelhoven R. Do plant cells secrete exosomes derived from multivesicular bodies? [J]. *Plant Signal Behav*, 2007, 2(1): 4-7.
- [9] Bokka R, Ramos A P, Fiume I, et al. Biomanufacturing of tomato-derived nanovesicles [J]. *Foods*, 2020, 9(12): 1852.
- [10] 吴菊萍, 肖倩, 王建国, 等. 番茄外泌体的分离提取工艺优化及其作为药物载体的可行性分析 [J]. *中国现代医学杂志*, 2019, 29(24): 8-14.
- [11] Bruno S P, Paolini A, D'Oria V, et al. Extracellular vesicles derived from *Citrus sinensis* modulate inflammatory genes and tight junctions in a human model of intestinal epithelium [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 778998.
- [12] Pocsfalvi G, Turiák L, Ambrosone A, et al. Protein biocargo of citrus fruit-derived vesicles reveals heterogeneous transport and extracellular vesicle populations [J]. *J Plant Physiol*, 2018, 229: 111-121.
- [13] Perut F, Roncuzzi L, Avnet S, et al. Strawberry-derived exosome-like nanoparticles prevent oxidative stress in human mesenchymal stromal cells [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(1): 87.
- [14] Ju S W, Mu J Y, Dokland T, et al. Grape exosome-like nanoparticles induce intestinal stem cells and protect mice from DSS-induced colitis [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(7): 1345-1357.
- [15] Xiao Q, Zhao W, Wu C T, et al. Lemon-derived extracellular vesicles nanodrugs enable to efficiently overcome cancer multidrug resistance by endocytosis-triggered energy dissipation and energy production reduction [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(20): e2105274.
- [16] Boccia E, Alfieri M, Belvedere R, et al. Plant hairy roots for the production of extracellular vesicles with antitumor bioactivity [J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1): 848.
- [17] Zhang Z Y, Yu Y, Zhu G X, et al. The emerging role of plant-derived exosomes-like nanoparticles in immune regulation and periodontitis treatment [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 896745.
- [18] Cao M, Yan H J, Han X, et al. Ginseng-derived nanoparticles alter macrophage polarization to inhibit melanoma growth [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 326.
- [19] Zhang M Z, Viennois E, Prasad M, et al. Edible ginger-derived nanoparticles: A novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer [J]. *Biomaterials*, 2016, 101: 321-340.
- [20] Sundaram K, Mu J Y, Kumar A, et al. Garlic exosome-like nanoparticles reverse high-fat diet induced obesity via the gut/brain axis [J]. *Theranostics*, 2022, 12(3): 1220-1246.
- [21] Kim M, Park JH. Isolation of *Aloe saponaria*-derived extracellular vesicles and investigation of their potential for chronic wound healing [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(9): 1905.
- [22] Liu C, Yan X J, Zhang Y J, et al. Oral administration of turmeric-derived exosome-like nanovesicles with anti-inflammatory and pro-resolving bioactions for murine colitis therapy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 206.
- [23] Sriwastva M K, Deng Z B, Wang B M, et al. Exosome-like nanoparticles from Mulberry bark prevent DSS-induced

- colitis via the AhR/COPS<sub>8</sub> pathway [J]. *EMBO Rep*, 2022, 23(3): e53365.
- [24] Kim W S, Ha J H, Jeong S H, *et al.* Immunological effects of *Aster yomena* callus-derived extracellular vesicles as potential therapeutic agents against allergic asthma [J]. *Cells*, 2022, 11(18): 2805.
- [25] Zhang L, He F J, Gao L N, *et al.* Engineering exosome-like nanovesicles derived from *Asparagus cochinchinensis* can inhibit the proliferation of hepatocellular carcinoma cells with better safety profile [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 1575-1586.
- [26] Cao Y, Zhao Q, Liu F B, *et al.* Drug value of drynariae rhizoma root-derived extracellular vesicles for neurodegenerative diseases based on proteomics and bioinformatics [J]. *Plant Signal Behav*, 2022, 17(1): 2129290.
- [27] Cui W W, Ye C, Wang K X, *et al.* *Momordica charantia*-derived extracellular vesicles-like nanovesicles protect cardiomyocytes against radiation injury via attenuating DNA damage and mitochondria dysfunction [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 864188.
- [28] Sánchez-López C M, Manzanque-López M C, Pérez-Bermúdez P, *et al.* Characterization and bioactivity of extracellular vesicles isolated from pomegranate [J]. *Food Funct*, 2022, 13(24): 12870-12882.
- [29] Du J C, Liang Z, Xu J T, *et al.* Plant-derived phosphocholine facilitates cellular uptake of anti-pulmonary fibrotic HJT-sRNA-m7 [J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(3): 309-320.
- [30] György B, Szabó T G, Pásztói M, *et al.* Membrane vesicles, current state-of-the-art: Emerging role of extracellular vesicles [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(16): 2667-2688.
- [31] Théry C, Witwer K W, 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.
- [32] Cheng L, Hill A F. Therapeutically harnessing extracellular vesicles [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(5): 379-399.
- [33] Buzas E I. The roles of extracellular vesicles in the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(4): 236-250.
- [34] Huang Y F, Wang S M, Cai Q, *et al.* Effective methods for isolation and purification of extracellular vesicles from plants [J]. *J Integr Plant Biol*, 2021, 63(12): 2020-2030.
- [35] Liu Y, Wu S, Koo Y, *et al.* Characterization of and isolation methods for plant leaf nanovesicles and small extracellular vesicles [J]. *Nanomedicine*, 2020, 29: 102271.
- [36] Zhao Q, Liu G L, Liu F B, *et al.* An enzyme-based system for extraction of small extracellular vesicles from plants [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 13931.
- [37] Gao C, Zhou Y, Chen Z, *et al.* Turmeric-derived nanovesicles as novel nanobiologics for targeted therapy of ulcerative colitis [J]. *Theranostics*, 2022, 12(12): 5596-5614.
- [38] Liu H S, Tian Y, Xue C F, *et al.* Analysis of extracellular vesicle DNA at the single-vesicle level by nano-flow cytometry [J]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(4): e12206.
- [39] Haraszi R A, Miller R, Stoppato M, *et al.* Exosomes produced from 3D cultures of MSCs by tangential flow filtration show higher yield and improved activity [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(12): 2838-2847.
- [40] You J Y, Kang S J, Rhee W J. Isolation of cabbage exosome-like nanovesicles and investigation of their biological activities in human cells [J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(12): 4321-4332.
- [41] He B, Cai Q, Qiao L, *et al.* RNA-binding proteins contribute to small RNA loading in plant extracellular vesicles [J]. *Nat Plants*, 2021, 7(3): 342-352.
- [42] Kocholata M, Prusova M, Auer Malinska H, *et al.* Comparison of two isolation methods of tobacco-derived extracellular vesicles, their characterization and uptake by plant and rat cells [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 19896.
- [43] Yang M, Liu X Y, Luo Q Q, *et al.* An efficient method to isolate lemon derived extracellular vesicles for gastric cancer therapy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2020, 18(1): 100.
- [44] Jackson K K, Mata C, Marcus R K. A rapid capillary-channeled polymer (C-CP) fiber spin-down tip approach for the isolation of plant-derived extracellular vesicles (PDEVs) from 20 common fruit and vegetable sources [J]. *Talanta*, 2023, 252: 123779.
- [45] Cui Y, Gao J, He Y, *et al.* Plant extracellular vesicles [J]. *Protoplasma*, 2020, 257(1): 3-12.
- [46] Tran T M, Chng C P, Pu X M, *et al.* Potentiation of plant defense by bacterial outer membrane vesicles is mediated by membrane nanodomains [J]. *Plant Cell*, 2022, 34(1): 395-417.
- [47] Liu N J, Wang N, Bao J J, *et al.* Lipidomic analysis reveals the importance of GIPCs in *Arabidopsis* leaf extracellular vesicles [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(10): 1523-1532.
- [48] Kumar A, Sundaram K, Teng Y, *et al.* Ginger nanoparticles mediated induction of Foxa2 prevents high-fat diet-induced insulin resistance [J]. *Theranostics*, 2022, 12(3): 1388-1403.
- [49] Han X, Wei Q, Lv Y, *et al.* Ginseng-derived nanoparticles

- potentiate immune checkpoint antibody efficacy by reprogramming the cold tumor microenvironment [J]. *Mol Ther*, 2022, 30(1): 327-340.
- [50] Benmoussa A, Lee C H, Laffont B, *et al.* Commercial dairy cow milk microRNAs resist digestion under simulated gastrointestinal tract conditions [J]. *J Nutr*, 2016, 146(11): 2206-2215.
- [51] Liu N J, Wang N, Bao J J, *et al.* Lipidomic analysis reveals the importance of GIPCs in arabidopsis leaf extracellular vesicles [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(10): 1523-1532.
- [52] Cai Q, Qiao L L, Wang M, *et al.* Plants send small RNAs in extracellular vesicles to fungal pathogen to silence virulence genes [J]. *Science*, 2018, 360(6393): 1126-1129.
- [53] Zhuang X, Deng Z B, Mu J, *et al.* Ginger-derived nanoparticles protect against alcohol-induced liver damage [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 28713.
- [54] Kim K, Jung J H, Yoo H J, *et al.* Anti-metastatic effects of plant sap-derived extracellular vesicles in a 3D microfluidic cancer metastasis model [J]. *J Funct Biomater*, 2020, 11(3): 49.
- [55] Xu X H, Yuan T J, Dad H A, *et al.* Plant exosomes as novel nanoplatforms for microRNA transfer stimulate neural differentiation of stem cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nano Lett*, 2021, 21(19): 8151-8159.
- [56] Niu W, Xiao Q, Wang X, *et al.* A Biomimetic drug delivery system by integrating grapefruit extracellular vesicles and doxorubicin-loaded heparin-based nanoparticles for glioma therapy [J]. *Nano Lett*, 2021, 21(3): 1484-1492.

[责任编辑 潘明佳]