

药用植物细胞外囊泡作为新型药效物质的研究进展

苏勇汇^{1,2}, 徐珊珊^{1,2}, 王欢¹, 李太平¹, 王松松¹, 田青平^{2*}, 韩利文^{1*}

1. 山东第一医科大学(山东省医学科学院)药学与制药科学学院, 山东 济南 250000

2. 山西医科大学药学院, 山西 太原 030001

摘要: 药用植物细胞外囊泡(medicinal plant-derived extracellular vesicles, MPEVs)是由其药用植物特定部位细胞分泌的, 装载有小分子化合物、核酸、蛋白质和脂质等功能物质的纳米级膜囊泡。由于其同源植物中的活性物质, MPEVs 具有特殊的生物活性。通过对近年来 MPEVs 的分离纯化、鉴定、成分分析、生物活性等方面进行总结分析, 为作为新型药效物质的深入研究提供借鉴和启示。

关键词: 细胞外囊泡; 药用植物细胞外囊泡; 生物活性; 抗肿瘤; 抗衰老

中图分类号: R283; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)12-4044-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.12.030

Research progress on medicinal plant-derived extracellular vesicles as novel pharmacodynamic substances

SU Yong-hui^{1,2}, XU Shan-shan^{1,2}, WANG Huan¹, LI Tai-ping¹, WANG Song-song¹, TIAN Qing-ping², HAN Li-wen¹

1. School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250000, China

2. School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Medicinal plant-derived extracellular vesicles (MPEVs) are nanoscale membrane vesicles loaded with functional substances such as small molecules, nucleic acids, proteins and lipids secreted by cells in particular parts of medicinal plants. Due to the presence of active substances from their homologous plants, MPEVs possess unique biological activity. As a result, the isolation and purification, identification, compositional analysis, and biological activity of MPEVs in recent years are summarized and analyzed in this review to provide reference and insight for in-depth research of MPEVs as novel pharmacological substances.

Key words: extracellular vesicles; medicinal plant-derived extracellular vesicles; biological activity; anti-tumor; anti-aging

细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是由不同种类的细胞主动释放的多种纳米级膜囊泡^[1], 在细胞间和种间交流中起着信息和物质传递的作用^[2]。根据其生物起源、大小和生物物理性质, 分为外泌体、微囊泡和凋亡体^[3]。20 世纪 60 年代, Halperin 等^[4]在胡萝卜中首次观察到植物 EVs 的存在。随后, 在动物和微生物中也相继发现存在有 EVs^[5-6]。近年来, 随着对 EVs 研究的深入, 药用植物 EVs(medicinal plant-derived EVs, MPEVs)已被

发现具有较普通植物来源 EVs 更为突出的生物活性, 在作为治疗剂和药物载体方面展现出独特优势^[7-9], 具有十分广阔的应用前景。

本文整理了《中国药典》2020 年版所收录的生姜 *Zingiberis Rhizoma Recens*、人参 *Ginseng Radix et Rhizoma*、姜黄 *Curcumae Longae Rhizoma*、红景天 *Rhodiola Crenulatae Radix et Rhizoma*、槲寄生 *Viscii Herba*、黄芪 *Astragali Radix* 和天冬 *Asparagi Radix* 等常用药材或其基原植物来源的 EVs 的相关文献,

收稿日期: 2023-01-16

基金项目: 中央本级重大增减支项目(2060302-1907-09); 山东第一医科大学学术提升计划(2019LJ003)

作者简介: 苏勇汇(1998—), 硕士研究生, 研究方向为细胞外囊泡药效学及应用。Tel: 15135368492 E-mail: 2436044732@qq.com

*通信作者: 韩利文(1980—), 博士, 副研究员, 从事药物筛选及中药质量控制研究。Tel: (0531)59567223 E-mail: hanliwen08@126.com

田青平(1966—), 博士, 教授, 从事药物制剂研究。Tel: (0351)3985245 E-mail: tianqp123456@163.com

对其分离纯化、鉴定、成分分析及在疾病治疗中的应用进行总结与分析,为新型药效物质的深入研究提供借鉴和启示。

1 EVs 的形成

EVs 的形成及分泌是一个复杂的过程,图 1 为 EVs 经不同途径生成的示意图。根据国际 EVs 学会 2018 年版指导手册^[10],当前研究中的囊泡类型主要是小于 200 nm 的小 EVs (small EVs, sEVs),包括外泌体和部分微囊泡。微囊泡的直径在 50~1000 nm,主要由细胞膜向外出芽而形成^[11],此过程伴随着生物活性脂质、mRNA 和蛋白等成分的转运^[12]。而外泌体是细胞内体途径起源,直径在 30~150 nm 的囊泡。首先,细胞膜向内出芽将蛋白、核酸和次级代谢产物等物质包裹到膜囊泡中形成早期内体,随后,早期内体进一步成熟并转化为晚期内体,也称为多囊泡体(multivesicular bodies, MVBs)。MVBs 包裹有腔内小泡(intraluminal vesicles, ILVs),当其与细胞膜融合时,ILVs 被释放到细胞外环境中,称为外泌体^[13]。此外,植物外泌体的分泌还涉及液泡、胞外阳性细胞器(exocyst positive organelles, EXPO)等途径。Hatsugai 等^[14]研究表明植物可以通过液泡与细胞膜融合从而将防御蛋白释放到细胞外启动防御策略。另有研究表明液泡可以与 MVBs 融合进而含有 ILVs^[15]。Cui 等^[16]提出一定数量的植物 EVs 来源于液泡与细胞膜的融合,并可能含有防御相关的蛋白及小 RNA (small RNAs, sRNAs) 的观点。EXPO

与 MVBs 不同,不属于内吞途径,被认为与自噬体的形成方式类似,可通过与细胞膜融合从而释放其内部囊泡^[17]。当前,新鲜植物组织来源的 MPEVs 的发生途径主要包括 MVBs、EXPO、液泡 3 种,不同 MPEVs 的成分差异主要是由来源植物的基原或生长代谢特性决定,而以上的不同形成机制造成了同一植物由不同途径产生的囊泡在成分类型或含量存在一定差异,进而影响其生物学活性。对于已经加工成的中药饮片而言,其囊泡的形成还存有争议。赵梦等^[18]通过文献总结发现中药饮片来源的 MPEVs 可以耐受煎煮、干燥等过程。另有学者认为中药复杂多样的化学成分在炮制或煎煮过程中可以通过分子识别与自组装形成纳米囊泡^[19-21],该囊泡的成分主要由中药中的各种物质(如脂质、蛋白、小分子化合物等)的性质决定。同种或不同成分间通过氢键、静电力和范德华力等相互作用自发形成囊泡,从而被赋予不同的生物活性。

2 MPEVs 的分离纯化与结构表征

针对 EVs 独特的物理和生物化学性质,已开发出多种分离方法,如基于密度进行分离的超速离心法和密度梯度离心法,基于尺寸筛分的超滤法、尺寸排阻色谱法、切向流过滤法和非对称流场流分离法,基于溶解度进行分离的聚合物沉淀法,基于亲和力分选的免疫磁珠法、洗脱色谱联合分子排阻色谱法和亲和色谱法,基于电荷分离的离子交换色谱法^[22-32]及一些新兴的技术,如微流控技术、纳米流式细胞术和纳米级侧向位移阵列技术^[33-35]等。超速离心法也称差速离心法,是利用不同的物质在受到强大的离心力时,在溶液中的沉降系数不同从而达到分离的目的,是最为常用的 EVs 分离方法,但其存在耗时、产量低等缺点。密度梯度离心法是将样品加在惰性梯度介质中进行离心沉降或沉降平衡,在一定的离心力下把颗粒分配到梯度中某些特定位置上,从而形成不同区带的分离方法,该方法可以得到更高纯度的 EVs,故多用作纯化^[36]。尺寸排阻色谱法是利用尺寸不同的分子在固定相孔隙中保留的作用不同以实现分离,该方法可保证 EVs 的生物活性和结构的完整性^[25]。与动物来源 EVs 不同,由于植物样品成分复杂,常常需要额外的纯化步骤。在 MPEVs 分离方法的选择上,多使用超速离心法初步得到囊泡样品,随后根据实验需求或样品特性选择不同的纯化方法。如注重高产量时宜选择沉淀法^[28],注重高纯度时宜选择密度梯度离心法^[36],糖分较高样品不

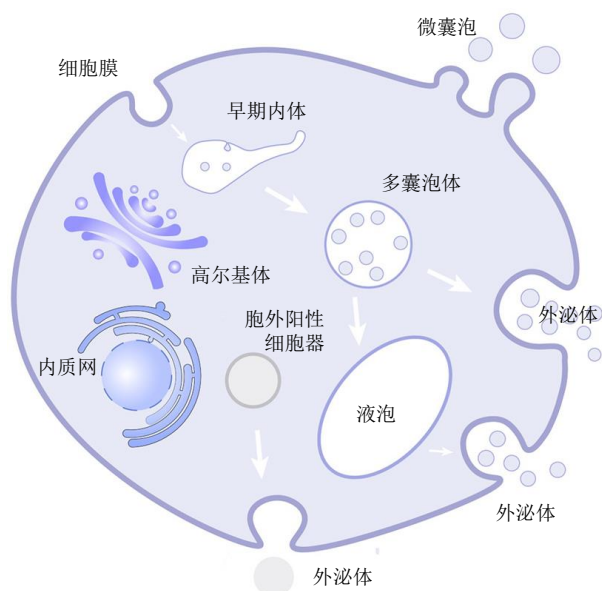


图 1 EVs 的形成及释放过程

Fig. 1 Formation and release of EVs

宜使用尺寸排阻色谱法^[37]等。而对于动物细胞来源的 EVs, 通常选择一种分离方法即可达到纯度要求^[38]。如超速离心联合密度梯度离心法已被用于生姜、天冬、姜黄和人参等^[39-49]药用植物中 MPEVs 的

分离与纯化。超速离心法单独使用或联合其他纯化方法在蒲公英 *Taraxaci Herba*、黄精 *Polygonati Rhizoma*、芦荟 *Aloe* 和地黄 *Rehmanniae Radix* 等^[37,50-57]药用植物中也有应用。相关信息见表 1。

表 1 不同 MPEVs 的分离纯化方法

Table 1 Methods for isolation and purification of different MPEVs

药用植物	分离及纯化方法	密度梯度介质	富集条带	文献
生姜	超速离心法+密度梯度离心法	碘克沙醇	1.13~1.19 g·mL ⁻¹	39
		蔗糖	8%~30%、30%~45%	40-43
天冬	超速离心法+密度梯度离心法	蔗糖	30%~45%	44
姜黄	超速离心法+密度梯度离心法	蔗糖	8%~30%、30%~45%	45
人参	超速离心法+密度梯度离心法	碘克沙醇	1.01~1.15 g·mL ⁻¹	46
		蔗糖	45%	47
			30%~45%	48
			1 mol·L ⁻¹ 、30%~45%	49
蒲公英	超速离心法			50
	超速离心法			51
红景天				
黄精	超速离心法			52
百合				
天麻				
芦荟	超速离心法			53
	超速离心法+切向流过滤法			54
地黄	超速离心法+聚乙二醇沉淀法			55
黄芪	超速离心法+尺寸排阻色谱法			37
槲寄生	超速离心法+琼脂糖凝胶电泳			56
	压缝法+尺寸排阻色谱法			57

根据国际 EVs 学会规定^[10], 需要从形态、粒径分布及表面蛋白标志物 3 个方面对 EVs 进行鉴定。与动物来源 EVs 不同, 由于 MPEVs 缺乏分化簇 9 (cluster of differentiation 9, CD9)、CD63 和 CD81 等蛋白标志物^[58], 所以关于其表面蛋白标志物及检测尚未形成统一标准, 表征时主要采用形态、粒径分布方式。形态表征方面, 可选用的仪器有透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM)、冷冻电子显微镜 (cryo-transmission electron microscopy, Cryo-EM)、原子力显微镜和扫描电子显微镜。其中使用 Cryo-EM 观察 EVs 时不需要染色、干燥等处理, 所得的结果更接近真实状态。但由于 Cryo-EM 设备昂贵、实验步骤繁琐, 故使用较少。使用 TEM 对 MPEVs 形态进行表征时, 多结合负染色技术, 可观察到具有明显膜结构的茶托样或

杯状囊泡^[45,53]。对于粒径表征, 纳米颗粒跟踪分析 (nanoparticle tracking analysis, NTA) 和动态光散射 (dynamic light scattering, DLS) 2 种技术是最常用的。二者都是基于光散射原理, 追踪悬浮液中颗粒的布朗运动, 并通过计算, 从而对 EVs 的粒径分布进行统计^[59]。NTA 和 DLS 的主要区别在于浓度范围, 当浓度较低时, NTA 可以很好的完成检测任务, 而 DLS 只能检测浓度较高的样品。此外, 部分研究者还测定了 ζ 电位, 以评价其物理稳定性。

3 MPEVs 的体内分布特征

药物到达作用部位是其药效发挥的关键。不同的给药方式, 可能会导致 MPEVs 的分布不同。有研究表明动物来源 EVs 经静脉给药后, 主要分布在血管丰富和与网状内皮系统相关的器官中, 如肝、肺、脾和肾; 腹腔给药后, 主要位于肝、肺、脾、

胃肠道和胰腺;鼻腔给药后,在肺和脑中可检测到其存在^[60]。同样 MPEVs 也大多采用口服、静脉或腹腔注射给药。人参和天冬来源囊泡经腹腔和静脉注射给药后,主要在肝脏和脾脏中积累^[44,47];生姜来源囊泡颗粒口服给药后,可在肝脏和肠系膜淋巴结中检出^[43]。此外,还有部分 MPEVs 展示出一定的靶向能力,如生姜囊泡经口服后可以优先被肠道微生物鼠李糖乳杆菌 GG 吸收^[40];姜黄来源纳米囊泡选择性地积聚在炎症性结肠中^[45]。结构中药理学理论认为 EVs 发挥效应还需保证其结构的完整性^[61],即囊泡中的每一种组分都有各自的功能。现有研究显示磷脂酸是决定生姜 EVs 转运分布的关键成分,与生姜 EVs 被选择性吸收密切相关^[40],同时活性小分子及微 RNA (microRNA, miRNA) 成分在 MPEVs 体内分布及药效发挥中也具有重要作用^[43,51]。

4 MPEVs 的组成成分特征

4.1 脂质

脂质是 MPEVs 双分子层的主要组成部分。不同 MPEVs 中各种脂质的种类和含量存在一定的差异,如生姜来源纳米颗粒富含磷脂酸、二半乳糖基二酰基甘油、单半乳糖基二酰基甘油和单半乳糖基单酰基甘油等结构性成分,其中磷脂酸含量最为丰富^[41,43]。Teng 等^[40]发现磷脂酸在鼠李糖乳杆菌 GG 优先吸收生姜纳米囊泡的过程中起着信号传递作用,而芦荟来源纳米囊泡中葡萄糖神经酰胺是其主要脂质类型,在外泌体形成和分泌中具有促进或诱导膜曲率的特性^[53]。此外,部分研究发现 MPEVs 的脂质成分还具有一定的生物活性^[62]。

4.2 蛋白质

已有研究表明, MPEVs 中主要包括参与细胞骨架形成、代谢信号传导、细胞转运和分泌途径等相关蛋白。如生姜来源纳米颗粒中蛋白含量较低,主要含肌动蛋白和蛋白水解酶等胞质蛋白及水通道蛋白和氯离子通道蛋白等膜蛋白^[41]。Argonaute 蛋白可能与调节芦荟囊泡中 sRNAs 的包封有关,而其他蛋白,如热休克蛋白 70、谷胱甘肽 S-转移酶、膜联蛋白家族、腺苷高半胱氨酸酶和甘油醛-3-磷酸脱氢酶等已在多种植物囊泡中被报道^[53]。基因本体功能富集数据库显示人参和姜黄来源 EVs 中的蛋白质与参与生物过程、分子功能和细胞组分的蛋白质相对应^[45,50]。

4.3 核酸

核酸作为新一代的药物,在疾病的治疗方面拥

有巨大的潜力。当前核酸疗法面临的关键问题就是体内递送^[63]。已有研究者从 MPEVs 中分析出其所特有的功能性核酸成分,为提高核酸的递送效果提供了可能。Li 等^[51]通过模仿囊泡结构人工合成携带 sRNAs 的脂质复合物证明蒲公英囊泡中存在的 sRNA-6 和红景天囊泡中存在的 sRNA-m7 可以被有效地递送到细胞中。Zhang 等^[41]通过对生姜纳米囊泡总 RNA 进行提取并测序,发现其中存在 125 种不同的 miRNA,且每种 miRNA 含有 15~27 个核苷酸。

4.4 小分子活性成分

小分子活性成分是药用植物中主要的药效成分。在 MPEVs 分泌形成的过程中,植物源的小分子活性成分也会选择性进入囊泡结构中。芦荟来源的囊泡可检测到芦荟大黄素、芦荟素和 β -谷甾醇^[53]。Gao 等^[45]通过高效液相色谱-质谱联用技术,对姜黄囊泡中的姜黄素、脱甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素进行含量测定。Zhang 等^[41]发现生姜囊泡中存在 6-姜辣素和 6-姜烯酚^[41]。此外,Zhuang 等^[43]通过薄层色谱进一步分析,证明了 6-姜烯酚大部分存在于生姜囊泡中而不是以游离的形式存在。

5 MPEVs 的生物活性

多项研究表明 MPEVs 具有抗炎、抗肿瘤和抗衰老等多种生物活性。

5.1 抗炎活性

炎症反应是机体对于刺激做出的一种防御反应,一般而言对机体是有利的。但在某些情况下,过度和持续的炎症会引起一系列的疾病^[64],包括肺炎、脑炎和心肌炎等。一些药用植物来源的 EVs,如生姜、蒲公英、姜黄等在相关研究中显示出优越的抗炎作用。Li 等^[51]从蒲公英汤剂中分离出 EVs,并证明其可以降低人非小细胞肺癌 A549 细胞中聚肌胞苷酸诱导的促炎因子的产生。与蒲公英汤剂相比,其蒲公英 EVs 显示出更强大的抗炎作用。炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种病因不明的特发性肠道炎症性病变^[65],累及回肠、结肠和直肠,包括溃疡性结肠炎和克罗恩病 2 种,目前仍无有效的治疗方法。最近研究表明, MPEVs 对动物模型急性和慢性结肠炎的疗效显著。Gao 等^[45]发现从新鲜姜黄根茎中分离得到的姜黄纳米囊泡 (turmeric-derived nanovesicles, TNVs) 可以降低脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和单核细胞趋化蛋白-1 等炎症因子表达,

促进巨噬细胞分化为 M₂ 表型缓解炎症。进一步研究发现, TNVs 通过恢复肠上皮屏障, 调节肠道微生物群的组成和相对丰度及重塑免疫微环境缓解由葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的小鼠急性和慢性结肠炎相关症状。此外, 从生姜中分离出的纳米颗粒也被报道可以通过减少 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等促炎因子, 增加 IL-10 和 IL-22 等抗炎因子的表达; 或由鼠李糖乳杆菌 GG 摄取后将色氨酸代谢为吲哚-3-甲醛 (indole-3-carboxaldehyde, I3A) 进而激活芳烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AHR) 信号通路促进 IL-22 的表达, 预防或改善 DSS 诱导的小鼠结肠炎^[40-41]。除上述临床前研究, 部分 MPEVs 已进入临床试验阶段。2018 年, 关于生姜和芦荟囊泡减轻多囊卵巢综合征患者慢性炎症能力的初步临床试验方案成功发布 (NCT03493984)。之后一项生姜囊泡抗炎作用研究的临床试验完成试点, 该试验评估了生姜囊泡单独使用或与姜黄素联合使用对难治性 IBD 患者症状的影响及其对 IBD 患者的安全性和耐受性 (NCT04879810)。

5.2 抗肿瘤活性

癌症是一种严重威胁人类健康的慢性公共卫生性疾病, 其发病率和死亡率较高^[66]。中药作为多靶点辅助疗法, 已被证明具有切实的抗肿瘤作用^[67]。由于不良反应小, 药用植物在癌症治疗领域的研究逐年增加^[68]。Chun 等^[69]研究发现天冬醇提物的醋酸乙酯部位具有抗肿瘤活性且无肝肾毒性。Zhang 等^[44]发现天冬纳米囊泡在 HepG2 肿瘤异种移植裸鼠中可通过抑制肝细胞增殖, 诱导细胞凋亡和上调肝细胞凋亡相关因子, 发挥抗肿瘤效应。与传统的天冬提取物相比, 天冬囊泡在抗肿瘤方面展现出更突出的活性和更好的类药性。鉴于各种人造纳米颗粒 (如聚合纳米偶联物、脂质体和金属纳米颗粒等) 展现出卓越的抗癌作用^[70], Cao 等^[47]从新鲜人参根中分离出天然来源的人参纳米囊泡并对其抗癌作用进行了深入研究。体内外研究表明, 人参囊泡可通过 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) /髓样分化抗原 88 (myeloid differentiation antigen 88, MyD88) 信号通路促进巨噬细胞 M₂ 至 M₁ 表型的极化并产生总活性氧, 显著降低接种有黑色素瘤细胞小鼠的肿瘤生长。除具有抗炎活性外, Zhang 等^[41]发现生姜来源纳米颗粒通过抑制炎症诱导的肠上皮细胞增殖, 降低结肠癌细胞的生长和癌症发病率。表明 MPEVs 有望成为癌症治疗中潜力较大的一类纳米药物。

5.3 抗衰老活性

衰老指随着时间的推移, 机体表现出组织结构、生理功能和心理行为上的退行性变化。虽然衰老不可避免, 但通过延缓衰老进程、改善健康状态的抗衰老研究却备受人们关注^[71]。中药凭借其抗氧化、增强人体免疫、促进机体新陈代谢等一系列药理活性, 现已成为抗衰老研究热点^[72]。此外, 有研究表明 EVs 具有治疗衰老相关疾病的巨大潜能^[73]。Cho 等^[46]通过研究 EVs 对皮肤衰老的影响, 发现来自人参的 EVs 在复制性衰老成纤维细胞和紫外线 B (ultraviolet radiation B, UVB) 诱导的衰老黑色素细胞中发挥作用。人参 EVs 通过降低细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (cyclin dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A)、CDKN2A、基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase 1, MMP1)、IL-8 等基因表达及酪氨酸酶 (tyrosinase, TYR)、酪氨酸相关蛋白酶 2 (tyrosinase-related protein 2, TYRP2)、Ras 相关蛋白 27 (Ras-related protein 27, RAB27) 表达, 增加高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 表达, 改善人真皮成纤维细胞的复制性衰老和 UVB 辐射处理的人黑素细胞衰老相关色素表型, 证明 MPEVs 的抗衰老潜力。

5.4 其他活性

除上述生物活性外, MPEVs 还具有护肝、抗纤维化、降血糖等作用。Zhuang 等^[43]通过研究生姜 EVs 对肝损伤的影响, 发现其可将姜烯酚靶向递送到肝组织, 并以 TLR4/ β -干扰素 α 结构域衔接蛋白 (tir-domain-containing adaptor-inducing β -interferon, TRIF) 相关性方式诱导核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2) 活化, 上调肝脏解毒和抗氧化基因的表达, 并抑制活性氧的产生, 从而阻止小鼠酒精性肝损伤的发展。Li 等^[51]通过研究红景天 EVs 对肺纤维化的影响, 发现其可以降低人胚肺 MRC-5 细胞模型中纤维化基因纤连蛋白的表达并改善博来霉素诱导的小鼠肺纤维化。高文静^[37]研究发现黄芪水煎液中的 EVs 可通过调节肠道菌群降低 db/db 糖尿病小鼠血糖。此外, 部分研究者将 MPEVs 作为载体用以核酸或单体药物的递送^[39,42], 均显示出较好的生物活性。

MPEVs 来源广泛, 在基础研究中表现出丰富的生物活性。本文对生姜、人参、天冬和姜黄等药用植物不同部位来源囊泡的生物活性及其作用机制进行总结, 见表 2。

表 2 MPEVs 的生物活性
Table 2 Biological activities of MPEVs

药用植物	使用部位	剂量	生物活性及作用机制	文献
生姜	根茎（鲜药）	500 mg·kg ⁻¹	激活 AHR 信号通路促进 IL-22 的表达发挥抗炎活性	40
		0.3 mg	抑制 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 表达，促进 IL-10 和 IL-22 表达发挥抗炎活性	41
		50 mg	通过 TLR4/TRIF 途径上调 Nrf2 发挥护肝活性	43
		3 × 10 ¹⁰ particles·mL ⁻¹	抑制 NOD 样受体热蛋白结构域蛋白 3 发挥抗炎活性	62
人参	根（鲜药）	10 μg·mL ⁻¹	降低 CDKN1A、CDKN2A、MMP1、IL-8 等基因表达及 TYR、TYRP2、RAB27 蛋白表达，增加 HMBG1 蛋白表达发挥抗衰老活性	46
		10 μg·mL ⁻¹	以 TLR4/MyD88 依赖性方式触发巨噬细胞 M ₁ 型极化发挥抗肿瘤活性	47
		80 μg·mL ⁻¹	保护线粒体相关凋亡途径发挥心肌保护活性	48
		20 μg·mL ⁻¹	调节皮肤细胞周期，激活转化生长因子-β 通路发挥抗炎活性	49
		60 μg·mL ⁻¹	抑制磷酸戊糖途径发挥抗肿瘤活性	50
天冬	块根（鲜药）	40 μg·mL ⁻¹ （体外）、200 mg·kg ⁻¹ （体内）	抗肿瘤活性	44
姜黄	根茎（鲜药）	25 μg·mL ⁻¹ （体外）、10 mg·kg ⁻¹ （体内）	促进巨噬细胞由 M ₁ 型向 M ₂ 型转化，恢复受损的肠上皮屏障发挥抗炎活性	45
蒲公英	全草（饮片）	20 μg·mL ⁻¹ （体外）、10 mg（体内）	抗炎活性	51
红景天	根及根茎（饮片）	50 μg·mL ⁻¹	抗纤维化活性	
黄芪	根（饮片）	21.1 g·kg ⁻¹	调节肠道菌群发挥降血糖活性	37
芦荟	皮（鲜药）	1 × 10 ⁹ particles·mL ⁻¹	激活 Nrf2 发挥抗氧化活性	54
地黄	根（鲜药）	61.2 g·kg ⁻¹	降血糖活性	55

6 结语与展望

我国使用药用植物治疗疾病历史悠久，药用植物中的药效物质通过复杂的机制发挥疗效，在保障机体健康中具有重要作用。但大多数已知的药效物质普遍存在生物利用度低等问题，尚不能完全揭示药用植物的作用功效。而 MPEVs 作为细胞间通讯的重要媒介，在药用植物发挥疗效过程中扮演着重要的角色。与其他来源的 EVs 相比，MPEVs 中包裹了其同源植物的药效物质，对于溶解性较差的活性成分，可以极大地提高其生物利用度。此外，MPEVs 除包裹的活性成分外，还可对其自身结构进一步修饰，以达到靶向目的或发挥多成分协同作用。虽然有关 MPEVs 的研究已经得到一定的关注，但是目前在相关研究中尚且存在一些缺陷和不足：（1）缺乏对 MPEVs 中发挥疗效的关键成分的分析，明确发挥药效的具体物质有助于进一步研究 MPEVs 复杂的作用机制，从而为 MPEVs 的药理作用提供依据；（2）产率低，较低的产率意味着需要消耗更多的原材料，严重影响 MPEVs 的应用；（3）实验所

用 MPEVs 的纯度要求尚未形成定论等。EVs 的纯度低是目前研究面临的普遍问题，样品纯度不够，相关活性实验的结果将受到质疑。

我国药用植物种类丰富，品种繁多，是创新药物发现的宝库。大量的研究表明，MPEVs 在疾病的预防和治疗方面具有相当的潜力，值得专家学者展开更加广泛的研究。此外，MPEVs 的内容物完成精准的分析以揭示其更加完整的作用机制或许成为将来的研究热点，深入揭示其作用机制也将进一步推动其在临床的广泛应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhang M Z, Viennois E, Xu C L, *et al.* Plant derived edible nanoparticles as a new therapeutic approach against diseases [J]. *Tissue Barriers*, 2016, 4(2): e1134415.
- [2] Wu Z Y, Wang L L, Li J Y, *et al.* Extracellular vesicle-mediated communication within host-parasite interactions [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 3066.
- [3] Zarà M, Guidetti G F, Camera M, *et al.* Biology and role

- of extracellular vesicles (EVs) in the pathogenesis of thrombosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): 2840.
- [4] Halperin W, Jensen W A. Ultrastructural changes during growth and embryogenesis in carrot cell cultures [J]. *J Ultrastruct Res*, 1967, 18(3): 428-443.
 - [5] Johnstone R M, Adam M, Hammond J R, *et al.* Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19): 9412-9420.
 - [6] Mayrand D, Grenier D. Biological activities of outer membrane vesicles [J]. *Can J Microbiol*, 1989, 35(6): 607-613.
 - [7] Nemati M, Singh B, Mir R A, *et al.* Plant-derived extracellular vesicles: A novel nanomedicine approach with advantages and challenges [J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 69.
 - [8] Tian T, Qiao S Y, Tannous B A. Nanotechnology-inspired extracellular vesicles theranostics for diagnosis and therapy of central nervous system diseases [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(1): 182-199.
 - [9] Chen C X, Wang J L, Sun M D, *et al.* Toward the next-generation phyto-nanomedicines: Cell-derived nanovesicles (CDNs) for natural product delivery [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 145: 112416.
 - [10] 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.
 - [11] Kalluri R, LeBleu V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
 - [12] Morel O, Jesel L, Freyssinet J M, *et al.* Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(1): 15-26.
 - [13] Zhao Y, Li X L, Zhang W B, *et al.* Trends in the biological functions and medical applications of extracellular vesicles and analogues [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(8): 2114-2135.
 - [14] Hatsugai N, Iwasaki S, Tamura K, *et al.* A novel membrane fusion-mediated plant immunity against bacterial pathogens [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(21): 2496-2506.
 - [15] Cui Y, Cao W H, He Y L, *et al.* A whole-cell electron tomography model of vacuole biogenesis in *Arabidopsis* root cells [J]. *Nat Plants*, 2019, 5(1): 95-105.
 - [16] Cui Y, Gao J Y, He Y L, *et al.* Plant extracellular vesicles [J]. *Protoplasma*, 2020, 257(1): 3-12.
 - [17] Wang J, Ding Y, Wang J Q, *et al.* EXPO, an exocyst-positive organelle distinct from multivesicular endosomes and autophagosomes, mediates cytosol to cell wall exocytosis in *Arabidopsis* and tobacco cells [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(12): 4009-4030.
 - [18] 赵梦, 李思敏, 张蕾, 等. 植物来源囊泡及其生物医学应用研究进展 [J]. *药学报*, 2021, 56(8): 2039-2047.
 - [19] 王蕾, 曹雪晓, 栗焕焕, 等. 中药化学成分分子识别与自组装在中药研究中的应用 [J]. *中草药*, 2020, 51(2): 516-521.
 - [20] 王艳宏, 赵曙宇, 张利那, 等. 中药成分自组装的机制及应用价值综述 [J]. *中国药房*, 2021, 32(22): 2803-2806.
 - [21] 胡静雯, 贾国香, 董亚倩, 等. 从中药全过程视角探析纳米颗粒自组装行为及应用 [J]. *中草药*, 2022, 53(22): 7307-7316.
 - [22] Gandhi J, Naik M N, Mishra D K, *et al.* Proteomic profiling of *Aspergillus flavus* endophthalmitis derived extracellular vesicles in an *in-vivo* murine model [J]. *Med Mycol*, 2022, 60(9): myac064.
 - [23] 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.
 - [24] Vergauwen G, Dhondt B, van Deun J, *et al.* Confounding factors of ultrafiltration and protein analysis in extracellular vesicle research [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2704.
 - [25] Fortunato D, Giannoukakis S, Giménez-Capitán A, *et al.* Selective isolation of extracellular vesicles from minimally processed human plasma as a translational strategy for liquid biopsies [J]. *Biomark Res*, 2022, 10(1): 57.
 - [26] Busatto S, Vilanilam G, Ticer T, *et al.* Tangential flow filtration for highly efficient concentration of extracellular vesicles from large volumes of fluid [J]. *Cells*, 2018, 7(12): 273.
 - [27] Sitar S, Kejžar A, Pahovnik D, *et al.* Size characterization and quantification of exosomes by asymmetrical-flow field-flow fractionation [J]. *Anal Chem*, 2015, 87(18): 9225-9233.
 - [28] Park J, Go E B, Oh J S, *et al.* Multiple-cycle polymeric extracellular vesicle precipitation and its evaluation by targeted mass spectrometry [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4311.
 - [29] Valle-Tamayo N, Pérez-González R, Chiva-Blanch G, *et al.* Enrichment of astrocyte-derived extracellular vesicles from human plasma [J]. *J Vis Exp*, 2022(186): e64107.
 - [30] Corso G, Mäger I, Lee Y, *et al.* Reproducible and scalable

- purification of extracellular vesicles using combined bind-elute and size exclusion chromatography [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11561.
- [31] Reiter K, Aguilar P P, Wetter V, *et al.* Separation of virus-like particles and extracellular vesicles by flow-through and heparin affinity chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1588: 77-84.
- [32] Kosanović M, Milutinović B, Goč S, *et al.* Ion-exchange chromatography purification of extracellular vesicles [J]. *Biotechniques*, 2017, 63(2): 65-71.
- [33] Davies R T, Kim J, Jang S C, *et al.* Microfluidic filtration system to isolate extracellular vesicles from blood [J]. *Lab Chip*, 2012, 12(24): 5202-5210.
- [34] Morales-Kastresana A, Musich T A, Welsh J A, *et al.* High-fidelity detection and sorting of nanoscale vesicles in viral disease and cancer [J]. *J Extracell Vesicles*, 2019, 8(1): 1597603.
- [35] Wunsch B H, Smith J T, Gifford S M, *et al.* Nanoscale lateral displacement arrays for the separation of exosomes and colloids down to 20 nm [J]. *Nat Nanotechnol*, 2016, 11(11): 936-940.
- [36] Doyle L M, Wang M Z. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis [J]. *Cells*, 2019, 8(7): 727.
- [37] 高文静. 黄芪囊泡样纳米颗粒的药效学初步研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2021.
- [38] Böing A N, van der Pol E, Grootemaat A E, *et al.* Single-step isolation of extracellular vesicles by size-exclusion chromatography [J]. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3: 23430.
- [39] Li Z F, Wang H Z, Yin H R, *et al.* Arrowtail RNA for ligand display on ginger exosome-like nanovesicles to systemic deliver siRNA for cancer suppression [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14644.
- [40] Teng Y, Ren Y, Sayed M, *et al.* Plant-derived exosomal microRNAs shape the gut microbiota [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(5): 637-652.
- [41] 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.
- [42] Zhang M Z, Xiao B, Wang H, *et al.* Edible ginger-derived nano-lipids loaded with doxorubicin as a novel drug-delivery approach for colon cancer therapy [J]. *Mol Ther*, 2016, 24(10): 1783-1796.
- [43] Zhuang X Y, Deng Z B, Mu J Y, *et al.* Ginger-derived nanoparticles protect against alcohol-induced liver damage [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 28713.
- [44] 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 Nanomed*, 2021, 16: 1575-1586.
- [45] Gao C F, Zhou Y Y, Chen Z J, *et al.* Turmeric-derived nanovesicles as novel nanobiologics for targeted therapy of ulcerative colitis [J]. *Theranostics*, 2022, 12(12): 5596-5614.
- [46] Cho E G, Choi S Y, Kim H, *et al.* *Panax ginseng*-derived extracellular vesicles facilitate anti-senescence effects in human skin cells: An eco-friendly and sustainable way to use ginseng substances [J]. *Cells*, 2021, 10(3): 486.
- [47] 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.
- [48] 刘恬佳, 邱智东, 邱野, 等. 人参根外泌体的提取、表征及其对多柔比星诱导的心肌损伤保护作用机制 [J]. *中草药*, 2021, 52(12): 3514-3521.
- [49] 卢姝言, 杨松, 任李梅, 等. 人参外泌体促进 HaCat 细胞增殖和伤口愈合 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2021, 37(11): 1510-1519.
- [50] Yang L, Jin W Q, Tang X L, *et al.* Ginseng-derived nanoparticles inhibit lung cancer cell epithelial mesenchymal transition by repressing pentose phosphate pathway activity [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 942020.
- [51] Li X Y, Liang Z, Du J C, *et al.* Erratum to: Herbal decoctosome is a novel form of medicine [J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(9): 1428.
- [52] 李思敏, 何凤军, 秦琳茜, 等. 药食两用植物细胞外囊泡样纳米粒的制备和性能研究 [J]. *药学学报*, 2021, 56(8): 2086-2092.
- [53] Zeng L P, Wang H Y, Shi W H, *et al.* *Aloe* derived nanovesicle as a functional carrier for indocyanine green encapsulation and phototherapy [J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 439.
- [54] Kim M K, Choi Y C, Cho S H, *et al.* The antioxidant effect of small extracellular vesicles derived from *Aloe vera* peels for wound healing [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2021, 18(4): 561-571.
- [55] 任永申, 梅之南, 李燕, 等. 一种地黄外泌体及其制备方法和应用: 中国, CN 110302278B [P]. 2021-12-24.
- [56] Woith E, Melzig M F. Extracellular vesicles from fresh and dried plants-simultaneous purification and visualization using gel electrophoresis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 357.

- [57] Winkler K, Lenewit G, Schubert R. Characterization of membrane vesicles in plant extracts [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2005, 45(2): 57-65.
- [58] Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: Composition, biogenesis and function [J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(8): 569-579.
- [59] 王立志, 刘路宽, 刘晶. 外泌体分离与纯化技术研究进展 [J]. *化学通报*, 2021, 84(10): 1023-1030.
- [60] Aimaletdinov A M, Gomzikova M O. Tracking of extracellular vesicles' biodistribution: New methods and approaches [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 11312.
- [61] 乔宏志, 陈熹, 陈军, 等. 基于结构中药学思维的中药研究方法探讨——以外用中药为例 [J]. *南京中医药大学学报*, 2022, 38(11): 970-975.
- [62] Chen X Y, Zhou Y, Yu J J. Exosome-like nanoparticles from ginger rhizomes inhibited NLRP3 inflammasome activation [J]. *Mol Pharm*, 2019, 16(6): 2690-2699.
- [63] Yamada Y. Nucleic acid drugs-current status, issues, and expectations for exosomes [J]. *Cancers*, 2021, 13(19): 5002.
- [64] Luo G, Cheng B C, Zhao H, et al. *Schisandra chinensis* lignans suppresses the production of inflammatory mediators regulated by NF- κ B, AP-1, and IRF3 in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells [J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3319.
- [65] Kempski J, Huber S. Role of the gut microbiome in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases [J]. *Inn Med*, 2022, 63(10): 1022-1027.
- [66] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [67] Wei L, Wang Z Y, Jing N C, et al. Frontier progress of the combination of modern medicine and traditional Chinese medicine in the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Chin Med*, 2022, 17(1): 90.
- [68] Xiang Y N, Guo Z M, Zhu P F, et al. Traditional Chinese medicine as a cancer treatment: Modern perspectives of ancient but advanced science [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(5): 1958-1975.
- [69] Chun J, Cheon M, Moon B, et al. Anti-tumor activity of the ethyl acetate fraction from *Asparagus cochinchinensis* in HepG2-xenografted nude mice [J]. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 2012, 54: 538-543.
- [70] Mathiyalagan R, Yang D C. Ginseng nanoparticles: A budding tool for cancer treatment [J]. *Nanomedicine*, 2017, 12(10): 1091-1094.
- [71] 胡克新, 韩丽敏. 主要抗衰老药物的研究进展 [J]. *生命的化学*, 2021, 41(9): 1891-1899.
- [72] 钟钰, 郑琴, 胡鹏翼, 等. 植物精油抗衰老的药理作用与机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(22): 5584-5590.
- [73] Sun Z X, Hou X M, Zhang J X, et al. Diagnostic and therapeutic roles of extracellular vesicles in aging-related diseases [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 6742792.

[责任编辑 赵慧亮]