

# 外泌體在精準醫學中的應用、未來潛力與挑戰

文、圖 / 張立群<sup>1</sup> 楊鎮謙<sup>2</sup> 張金堅<sup>3</sup> 沈湯龍<sup>2,4</sup>

國立臺灣大學醫學院附屬醫院內科部<sup>1</sup>

國立臺灣大學植物病理與微生物學系<sup>2</sup>

國立臺灣大學醫學院附屬醫院外科部<sup>3</sup>

國立臺灣大學生物技術研究中心<sup>4</sup>

## 前言

外泌體(exosome或稱small extracellular vesicle/sEV)是透過細胞內的內胞體(endosomes)路徑生合成的內源性奈米級(直徑30-200nm)細胞外囊泡(或稱小胞外體, small extracellular vesicles, sEVs)(圖1)<sup>(1-4)</sup>, 其可大量存在體內各式的液態環境, 如血液、唾液、尿液、淚液等, 並具有穩定性、異質性、低免疫原性、高滲透力和標靶遞送的能力, 因此使得其在精準醫學中成為一種極具前景的診斷治療應用工具。相較於血液中循環的RNA、DNA或生化分子, 外泌體的生物學特性賦予了它們可攜帶多種內容物(cargo)的能力, 包括各類RNAs (如miRNAs、mRNAs、lncRNAs等)、蛋白質、小分子代謝物、脂質和人工/天然藥物, 這些內容物會因身體或細胞的生理或病理變化而異, 因而可在細胞或組織間進行活性生物分子的訊息傳遞而發揮細胞間交互作用的角色<sup>(1,3,5)</sup>。此外, 外泌體能夠穿越多種生物屏障, 包括血腦屏障, 這使它們在開發新的藥物遞送系統和再生醫學策略中扮演了至關重要的角色。

由於外泌體獨特高滲透性及靶向能力的運輸功能, 許多研究顯示, 外泌體在細胞間訊息的溝通中發揮著關鍵作用<sup>(2,3,5)</sup>。通過傳遞多元、大量和動態的分子信號, 外泌體可以影響標靶或接收細胞的基因表現、生化活性和功能行為等, 參與多種生理和病理的效應。在癌症上, 癌細胞可透過分泌的外泌體促進癌症的惡化, 包含免疫抑

制、癌轉移、抗藥性等<sup>(3,5)</sup>。因此, 近年來許多的研究針對外泌體在癌症治療中的潛在應用, 包括診斷、監測、藥物反應甚至開發作為藥物載體精準的標靶腫瘤細胞中等等。這些優勢則是透過外泌體能夠通過包裹化療藥物或基因治療分子, 增強藥物對腫瘤的標靶性並減少對正常細胞的毒性, 從而提高治療效果並減少副作用。

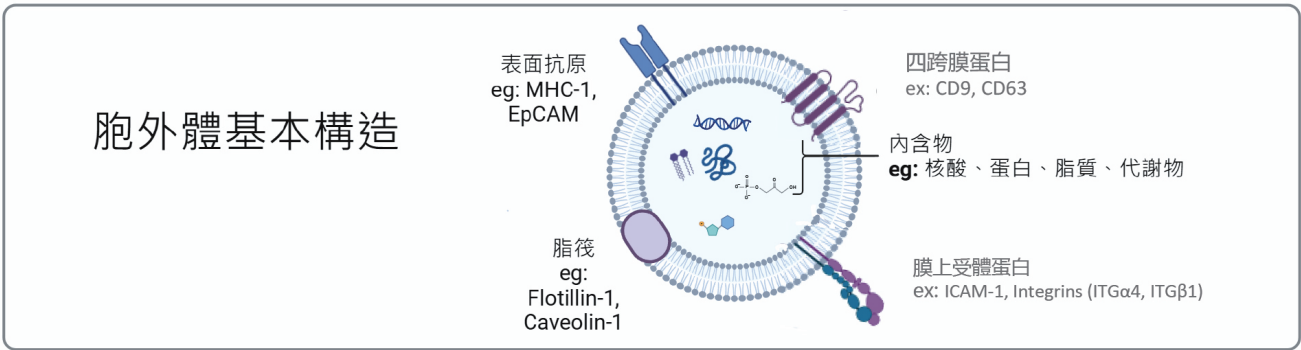
此外, 外泌體在再生醫學中的應用也備受關注。許多幹細胞會將其活化後的活性生物分子以外泌體來進行傳送達到促進組織修復和再生甚至抗發炎和免疫調節, 這在治療神經損傷、心血管疾病和骨組織再生方面顯現了不同於直接細胞治療的新穎的方式<sup>(2,6)</sup>。進一步透過生物工程設計的外泌體來提高其遞送效率和生物特異性, 可更優化外泌體的治療潛能, 使其在個人化醫療和精準醫學中發揮更大的效用<sup>(7)</sup>。

總體而言, 外泌體作為一種新興的生物技術工具, 其在疾病診斷和監測、藥物遞送和再生醫學中的應用前景廣闊。本文將依據外泌體幾個重要的應用領域逐一介紹。

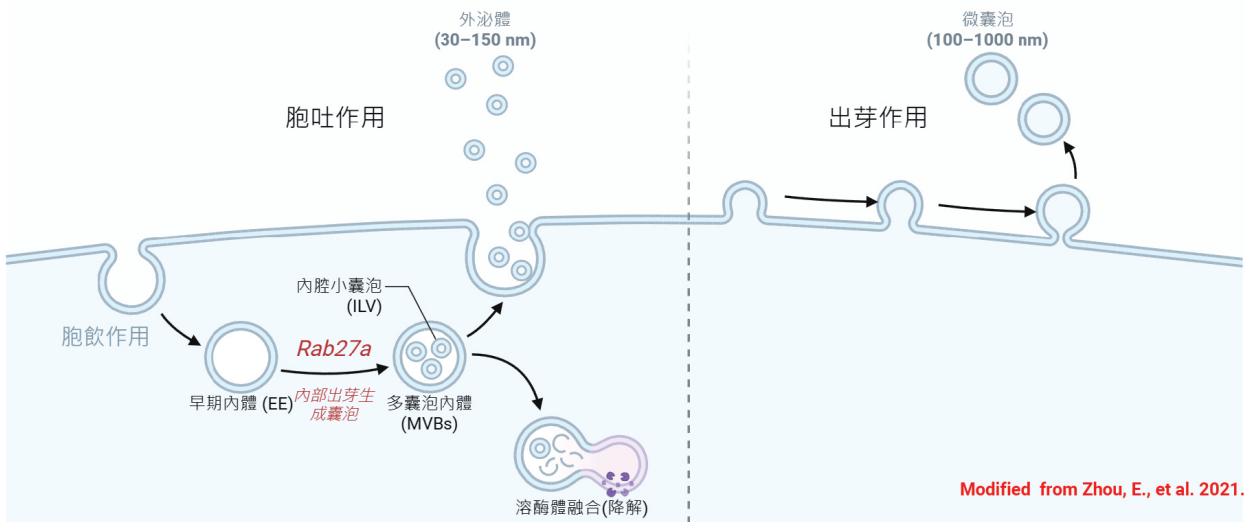
## 外泌體的應用

### 疾病診斷和監測

由於外泌體所攜帶的複雜且動態的生物分子, 可以反映其母細胞不同時期的生理或病理狀態, 因此它們在液體檢體(liquid biopsy)中的潛力正受到越來越多的關注。液體檢體是一種利用血液、尿液、唾液或其他體液進行疾病檢測的方



胞外體 (以外泌體和微囊泡為例) 生成過程



Modified from Zhou, E., et al. 2021.

圖1 外泌體的基本結構及其內部生物分子組成。外泌體由脂質雙層膜包覆，內含豐富的生物分子，包括核酸(如mRNA、miRNA、DNA)、蛋白質、脂質以及代謝體分子。這些分子共同參與細胞間的訊息傳遞，調控細胞功能。特別是代謝體成分，包含小分子代謝物，能反映細胞的代謝狀態，並在糖尿病、癌症等代謝相關疾病的診斷和治療中展現潛力。

外泌體的生物生成過程，從早期內體的形成到多囊泡內體(Multi-vesicular body, MVB)的產生，最後透過細胞膜與MVB融合，將外泌體釋放到細胞外環境中。此過程涉及ESCRT複合體(內體分選轉運複合體)及其他非ESCRT途徑。外泌體作為細胞間通訊的重要媒介，攜帶特定的蛋白質、核酸和代謝物，調節目標細胞的生理功能，並在疾病診斷和治療中展現重要應用潛力。值得注意的是微囊泡也是胞外體的一種，其生成方式和大小與外泌體有所不同，因此也推論在功能性上有所不同。

法，相較於傳統的組織檢體，液體檢體具有低侵入性、低風險、方便、低成本且能夠多次重複操作的優勢。

在癌症診斷方面，外泌體顯示出了卓越的發展潛力。研究顯示，外泌體可以攜帶腫瘤細胞釋放的DNA、RNA、蛋白質、代謝物及其他分子來參與癌症生成及惡化的過程，因此利用這些分子可以作為早期癌症形成或是癌轉移的生物標記<sup>(4,8)</sup>。例如，某些外泌體中的miRNA和蛋白質表

現異常，這些異常可以作為肺癌、乳腺癌或前列腺癌的早期診斷指標。通過分析病人血液中的外泌體，可以實現無創性地檢測癌症，並在疾病早期階段進行診斷，從而提高手術、治療和疾病管理的成功率。

除了癌症診斷，外泌體在其他疾病如心血管疾病、神經退行性疾病和感染性疾病中的應用也在積極探索中。外泌體中的特定蛋白質或RNA可能與心肌梗塞、阿茲海默症或COVID-19等疾病

的進展有關<sup>(7)</sup>。通過追蹤外泌體內所攜帶與相關疾病的特定分子生物標記，臨床醫師可以更好地了解疾病的進展情況，並及時調整治療方案，以達到最佳的治療效果。

此外，外泌體還可以用來監測治療效果和疾病復發的風險。由於外泌體可以動態反映腫瘤或病變組織的狀況，通過定期檢測病人血液中的外泌體內容物，醫師可以評估治療效果，及早發現疾病復發的跡象，從而及時採取干預措施<sup>(2,4,8)</sup>。這種動態的監測能力為個人化治療提供了有力支持，使治療更加精確和有效。值得一提的，相較於存在於血液中的循環腫瘤細胞和循環腫瘤DNA較無專一性和簡易的分離技術及通常需要癌症後期和與藥物治療才易於檢測出，外泌體具有疾病縱向性(longitudinal)監控的效益。

綜合來說，外泌體在疾病診斷中的應用潛力巨大，尤其是在非侵入性的疾病或是健康檢測中的價值日益突出。隨著技術的進步，外泌體在液體檢體中成為未來疾病診斷和監測的重要工具，為臨床醫師提供更準確的診斷訊息，同時減少病人的痛苦，從而改善病人的治療結果和生活品質。

### 藥物遞送

外泌體作為一種新穎的藥物遞送方法，已經引起了廣泛的注意。與傳統的遞送系統如脂質體(liposomes)和微囊泡(micro-vesicles)相比，外泌體其屬於細胞天然性來源使其更容易被人體細胞接受，甚至可以減少免疫系統的排斥反應。此外，外泌體具有高度的穩定性和在體內環境中的長壽命，使其成為一個理想的藥物載體<sup>(2)</sup>。

外泌體在癌症治療中的應用特別關注，主要是由於外泌體具有靶向傳遞的特性，它們可以精確地將抗癌藥物直接遞送到腫瘤細胞中，從而大幅提高藥物的有效濃度，並減少對健康細胞的毒性影響<sup>(1)</sup>。這樣的標靶遞送系統不僅能顯著增強藥物的治療效果，還能有效減輕病人在治療過程中的副作用，使治療更加安全可靠。

除了抗癌藥物的遞送外，外泌體還在其他疾病的治療中展現了潛力<sup>(1,3)</sup>。例如，在神經退化性疾病的治療中，外泌體可以用來遞送神經保護性藥物穿越血腦屏障，這是傳統藥物遞送系統難

以實現的。此外，外泌體還可以用來攜帶基因治療分子，如siRNA或CRISPR核酸組成，這些分子可以透過外泌體進入目標細胞，從而達到治療基因相關疾病的目的。

總而言之，外泌體在藥物遞送和診斷中的應用潛力巨大。隨著技術的不斷進步，未來外泌體有望成為治療多種疾病的有效工具，從而改變目前的治療模式，提供更精準和個人化的醫療服務。

### 再生醫學

在再生醫學領域，來自幹細胞所分泌的外泌體具有極大的應用潛力，特別是在組織修復和再生醫療方面<sup>(9)</sup>。這些外泌體不僅促進了細胞間的溝通，還能調節免疫反應，為受損組織的修復創造有利環境或是給予活化相關生化活性。許多的報導已經顯示，在心肌梗塞、中風和慢性傷口等病症的治療中，幹細胞外泌體表現出明顯的治療效果。

具體而言，在心肌梗塞的治療中，幹細胞外泌體已被證明能夠促進心臟組織的再生，並減少心肌壞死後的疤痕形成。這不僅能提高心臟功能，還能顯著改善病人的生活品質。事實上，外泌體中的某些特定因子如生長因子和抗氧化酶能夠有效減少心肌細胞的凋亡，促進血管新生，從而恢復心肌的正常功能<sup>(6)</sup>。

此外，幹細胞外泌體在慢性傷口癒合中的潛力也越來越受到關注。慢性傷口通常因為長期的發炎反應和缺乏足夠的血液供給而難以癒合。外泌體可以通過調節發炎反應、促進新生血管的形成以及增加細胞增殖和移動，加速傷口癒合過程。這些特性使外泌體成為治療慢性傷口如糖尿病足和褥瘡的有潛力的工具<sup>(6)</sup>。

除了心臟和傷口治療，外泌體在神經系統損傷中的應用也展現出巨大潛力。中風後的神經元損傷往往難以修復，而幹細胞外泌體中的神經保護因子可以促進神經元的存活和再生，而減少中風後的神經功能缺損。此外，外泌體還能夠跨越血腦屏障，此高滲透性的特性使其成為治療中樞神經系統疾病的理想工具<sup>(2)</sup>。

外泌體在骨組織再生中的應用同樣備受矚目。在骨折或骨質疏鬆症的治療中，幹細胞外泌

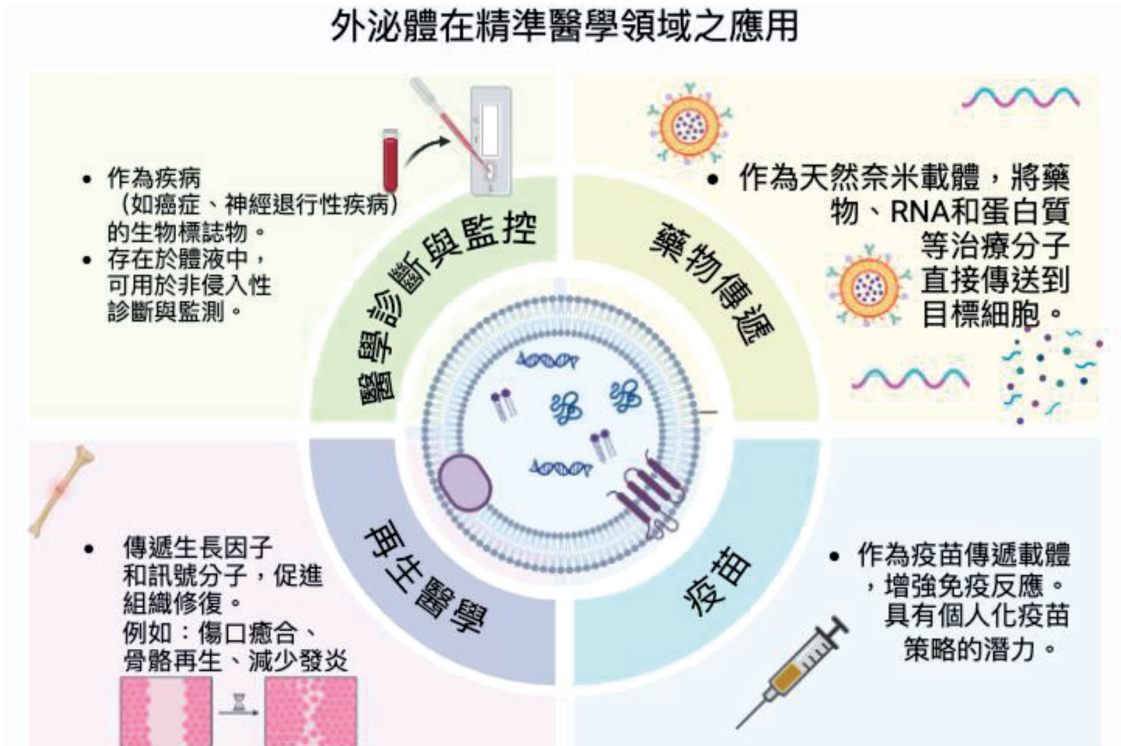


圖2 外泌體在精準醫學上的重要應用，包含1.醫學診斷與監控、2.藥物傳遞、3.再生醫學、4.疫苗平台。

體能夠促進成骨細胞的分化和骨骼組織的形成，加速骨折癒合並提高骨骼密度<sup>(6)</sup>。這種生物療法為傳統的骨科治療提供了新的選擇，尤其是在面對難治性骨折或骨質退化性疾病時。

總結來說，外泌體在再生醫學中的應用前景廣闊。隨著研究的不斷深入，外泌體有望成為治療多種組織損傷和退化性疾病的有效工具，並為個人化醫療和精準治療提供新的途徑(圖2)。未來，隨著技術的進步和臨床試驗的推進，外泌體有望成為再生醫學中的重要組成部分，推動醫學科學的進步。

### 外泌體在精準醫療的發展潛力

#### 個人化醫學

外泌體在個人化醫學中的應用潛力無疑是巨大的。它們作為天然的細胞間通信工具，能夠根據個體病人的需求進行訂製，從而實現高度精確的治療。這一能力使得外泌體成為個人化醫療領域中極具前景的新星。

首先，外泌體的內含物可以根據病人的基因

體學和蛋白質體學所獲得的資訊來進行設計，來針對特定的疾病機制進行治療。這種可被工程化的外泌體透過攜帶特定的miRNA、mRNA、蛋白質或小分子藥物可以有效並精確地調控疾病相關的基因表達或蛋白質功能，進而針對疾病的根本原因進行治療。這種精準的治療方式不僅能提高療效，還能減少不必要的副作用，從而實現真正的個人化醫療。

除了下面會描述的基因編輯應用外，外泌體還可以被用來傳遞個人化的癌症免疫治療藥物。通過將病人自身腫瘤細胞或免疫細胞所釋放的特定抗原或分子載入外泌體中，這些外泌體可以刺激活化病人的免疫系統，針對腫瘤細胞進行攻擊。這種個人化的免疫治療方法，能夠針對每位病人的特異性腫瘤特徵，提供更精準、更有效的治療，從而改善治療效果並延長病人的存活率<sup>(9-11)</sup>。

總而言之，外泌體在個人化醫療中的應用前景極其廣泛。隨著科技的進步，未來外泌體有望成為實現個人化醫療的核心工具之一。無論是在

遺傳性疾病的基因修復，還是在癌症的免疫治療中，外泌體都展示出不可替代的優勢。未來，隨著更多臨床研究的進行和技術的成熟，外泌體在個人化的精準醫學中的應用必將進一步拓展，為病人帶來更精確、更安全的治療選擇。

### 基因療法

外泌體作為基因治療的載體，展現出極大的發展潛力，為許多遺傳性疾病和複雜病症的治療提供了新的方向<sup>(1)</sup>。由於外泌體可以被天然或工程化地設計用來攜帶和遞送各種類型的遺傳物質，包括DNA、RNA、siRNA和反義寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)，它們已經成為基因療法研究中的熱門工具。

首先，外泌體在基因編輯中的應用極具潛力。基因編輯技術，如CRISPR/Cas9，能夠精確地修復或替換突變基因。然而，這些編輯工具需要被安全且有效地遞送到目標細胞內，這往往是基因治療中的一大挑戰。外泌體以其天然的奈米尺寸、低免疫原性和高度的細胞內吞能力，能夠將CRISPR/Cas9等編輯工具精確地運送到目標細胞中。因此，透過外泌體遞送CRISPR/Cas9，臨床醫師可以精確地對病人體內的特定基因進行編輯，從而實現對基因突變的修復或功能性基因的插入來修復遺傳缺陷，同時也可以提供長期且穩定的治療效果<sup>(8,10)</sup>。例如，對於某些單基因遺傳疾病，外泌體可以被設計為攜帶修正基因突變的CRISPR工具，通過精確編輯達到治療目的。這種方法不僅提高了治療的精確性，還降低了傳統基因治療中潛在的脫靶效應(off-target effect)和免疫反應風險。這一應用尤其在治療單基因遺傳疾病如囊性纖維化、杜興氏肌營養不良症等方面展現出巨大潛力。

此外，外泌體還能夠攜帶siRNA和ASO來標靶抑制有害基因的表達。siRNA能夠通過RNA干擾機制降解特定mRNA，從而減少有害蛋白質的生成，而ASO則可以通過阻斷mRNA的轉譯或促進mRNA的降解來達到相似的效果。這些技術對於治療由過度表達的基因引起的疾病，如某些類型的癌症、神經退化性疾病和病毒感染等，具有巨大的應用潛力。外泌體作為這些傳遞分子的載體，不僅提高了遞送的精確性，還減少了潛在的

副作用<sup>(2,9,10)</sup>。

外泌體在基因治療中的應用還涉及到對複雜多基因疾病的治療。許多複雜疾病，如心血管疾病和代謝症候群，涉及多個基因和途徑的異常。外泌體可以同時攜帶多個基因或調控分子，從而針對多個靶點進行治療<sup>(9)</sup>。這一多重遞送能力使外泌體成為治療複雜疾病的理想工具。

綜合而言，隨著外泌體技術的進步，它們作為基因療法載體的應用前景愈加光明。未來的研究可能會進一步優化外泌體的設計和功能，提高其傳遞靶向和效率，並減少潛在的副作用。隨著更多臨床試驗的推進，外泌體有望成為治療遺傳性疾病、癌症及其他複雜疾病的核心工具，為病人提供更有效、更安全的治療選擇。

### 疫苗開發

外泌體疫苗作為一種新興的疫苗開發策略有很大的潛力。由於外泌體的天然來源和奈米級大小，它們可以有效地在活體內的組織間環境中呈現抗原，從而誘導免疫反應。這一特性使得外泌體疫苗在增強免疫反應的同時，顯著減少了與傳統疫苗相關的副作用和免疫反應過強的風險。

外泌體可以通過展示病毒蛋白或其他病原體相關抗原，模擬病毒或細菌感染的過程，從而活化宿主的免疫系統<sup>(9-11)</sup>。這種模擬病毒感染的功能，使得外泌體疫苗成為一種非常有前景的疫苗模式，尤其在面對新型傳染病的防治方面，外泌體疫苗有望比傳統疫苗更快地開發和部署。這是因為外泌體可以攜帶多種病毒蛋白片段，同時活化體液免疫和細胞免疫，從而提供更全面的保護。

除了在傳染病預防中的應用，外泌體疫苗在癌症治療中的應用前景也非常廣闊。外泌體可以被設計為表現出腫瘤相關抗原，從而誘發病人的免疫系統針對腫瘤細胞進行攻擊。這種方法有望克服腫瘤免疫逃逸的問題，因為外泌體疫苗能夠誘導強烈的T細胞免疫反應，並促使免疫系統識別和消滅腫瘤細胞。此外，外泌體還能夠攜帶免疫調節分子，進一步增強抗腫瘤免疫反應，從而提高癌症免疫治療的效果<sup>(10)</sup>。

在當前疫苗開發面臨的諸多挑戰中，如抗原呈現的有效性、安全性、以及生產的可擴展性，

外泌體疫苗提供了一種創新的解決方案。由於外泌體具有穩定的結構和優異的生物相容性，它們在體內能夠長時間保持穩定，並且可以針對不同病原體或腫瘤進行靈活設計。此外，外泌體的生產可以通過細胞培養系統進行大規模生產，這使得外泌體疫苗具有較高的生產效率和成本效益。

未來，隨著對外泌體基礎生物學特性的進一步研究和臨床應用的推進，外泌體疫苗有望在多種傳染病和癌症的預防和治療中發揮重要作用。這種創新的疫苗開發策略不僅可以提高疫苗的有效性和安全性，還有助於應對疫苗開發中的諸多挑戰，如抗原選擇、免疫逃逸和副作用控制。隨著技術的進步和臨床試驗的推進，外泌體疫苗可能成為下一代疫苗技術的核心，為全球公共衛生提供更強有力的保護手段。

## 現在外泌體的挑戰

### 分離和純化

外泌體研究中的一個主要挑戰是如何有效地分離和純化這些奈米級細胞外囊泡。由於外泌體的異質性以及它們與其他細胞外囊泡(如微囊泡和凋亡小體)和聚合性蛋白或脂質在大小和密度上的重疊，要達到高純度和高回收率的分離變得極具挑戰性。這些困難不僅影響了外泌體研究的準確性和可重複性，還對其在臨床應用中的安全性和有效性構成了潛在風險<sup>(3,5)</sup>。

首先，不同細胞來源以及細胞培養條件的外泌體在大小、成分和功能上會存在顯著差異。例如，來自不同細胞類型或組織的外泌體在其膜蛋白組成、RNA含量以及功能性分子方面可能大不相同。這些差異使得研究者難以將不同研究中的結果進行比較，因為即使是在相同條件下進行的實驗，所使用的外泌體樣品也可能具有不同的生物學特性。此外，在治療應用中，這種異質性可能會導致治療效果的不穩定，甚至引發意外的免疫反應或其他副作用。

外泌體的分離和純化目前主要依賴於超高速離心、密度梯度離心、凝集沉澱、免疫親和性分離、超過濾、粒徑大小層析法等技術。然而，這些方法各有優缺點<sup>(1-3)</sup>。例如，超高速離心是目前最常用的方法之一，但它往往需要長時間運行

且容易導致外泌體的損壞或功能性分子的流失。此外，這一方法還可能導致其他奈米顆粒的共沉降，從而降低外泌體樣品的純度。相比之下，免疫親和性分離方法能夠針對特定的外泌體膜蛋白進行分離，從而提高純度，但其成本高且操作繁瑣，不易大規模應用。

為了解決這些問題，科學家們正在探索新型的分離和純化技術。例如，微流道控技術和奈米材料結合的方法正在逐漸興起。這些方法利用微流控裝置的高精度操控能力和奈米材料的表面特性，可以實現對外泌體的高效分離和純化，並且有望在未來應用於大規模生產。此外，標準化的分離和純化流程在國際上仍在建立之中，未來將有助於不同研究之間的數據對照和結果重現，也為外泌體產品的臨床應用鋪平了道路。

標準化技術的開發不僅需要在分離和純化方法上有穩定性且具效能性，還需要搭配外泌體的定性方法。準確定性外泌體的大小、成分、電荷、有效成分和功能性，是保證其臨床應用安全性和有效性的基礎。這要求研發出更加靈敏和特異的檢測工具，能夠精確地鑑別外泌體與其他細胞外囊泡，以及測量其攜帶的生物分子。

總結來說，儘管外泌體作為治療工具的潛力巨大，但在分離和純化技術上的挑戰仍然是一個需要解決的關鍵問題。未來，隨著技術的進步和標準化流程的建立，外泌體的臨床應用將更加可行，也將為精準醫學帶來更加可靠和有效的治療選擇。

### 法規障礙

外泌體療法的臨床應用潛力巨大，但要將其成功轉化為市場上的治療產品，法規是必須克服的重大挑戰之一。外泌體作為一種新興的生物製劑，其生產和應用需遵守各國食品藥品監督管理局(FDA)等監管機構制定的嚴格指導方針，以確保產品的一致性、安全性和有效性。

首先，外泌體產品的生產一致性是監督管理的核心。由於外泌體的異質性，來自不同批次的外泌體產品可能在組成、功能和效果上存在變異。這就必須在生產過程中實施嚴格的品質和品管的控制流程，以確保每一批次的外泌體產品在物理特性和生物活性方面保持一致。這包括控制

細胞庫建立、細胞培養條件、分離純化方法以及產品儲存和運輸的穩定性。任何在這些環節中的偏差都可能導致產品質量的波動，從而影響其臨床效果。

其次，安全性評估也是監管機構審查外泌體療法的關鍵步驟之一。由於外泌體本質上是細胞衍生物的生物製劑，其可能包含來自母細胞的潛在有害分子，如病毒顆粒、致癌因子或免疫原性蛋白質。因此，必須對外泌體產品進行全面的臨床前研究，以評估其在動物模型中的毒性、免疫反應和長期安全性。此外，在進入臨床試驗階段之前，還需要進行廣泛的質量測試和生物安全評估，以確保外泌體產品不會引發預期之外的副作用。

在監管機構層面，目前針對外泌體療法的專門指導準則和標準仍需要持斷來完善。由於外泌體的生物製劑屬性和潛在應用的廣泛性，監管機構需要制定更加具體且適用的標準，來評估外泌體產品的生產技術、品質控制、安全性和有效性。例如，如何確定外泌體產品的臨床劑量？如何標準化外泌體的特性描述？如何進行長期的臨床監測？這些問題都需要在法規層面得到明確的解答。

此外，外泌體療法的臨床試驗設計和數據管理也是法規審查過程中的重要挑戰。外泌體產品可能具有複雜的作用機制和多標靶效應，這使得臨床試驗的設計和結果分析變得更為複雜。監管機構需要要求申請者提供詳細的試驗設計，包括試驗目標、受試者選擇、終點指標和數據分析方法，以確保試驗數據的可信度和可重複性。

總體而言，儘管外泌體療法顯現出廣闊的應用前景，但其臨床轉化之路充滿了法規上的挑戰。只有在監管機構和研究者共同努力下，制定出清晰而科學的指導方針，外泌體療法才能在確保安全性和有效性的前提下，順利進入臨床應用，最終造福於病人。

### 可擴展性

將外泌體生產規模擴大到臨床使用實際上面臨著一系列技術上的挑戰。由於外泌體的特殊性，其生產過程需要高度精細的控制和技術創新，以確保大規模生產時產品的一致性和療效。

這些挑戰涉及細胞培養、外泌體分離與純化、質量控制，以及生產的自動化和高通量技術的開發<sup>(1,6,9)</sup>。

首先，在細胞培養系統方面，外泌體的高效生產需要穩定且高產的細胞株和培養環境。目前使用的細胞培養技術，包括傳統的單層培養、懸浮培養以及更先進的生物反應器系統，都需要進行優化，以提高外泌體的產量和品質。特別是，生物反應器系統能夠在可控條件下大規模地培養細胞，並且有望在未來成為外泌體生產的主流技術。然而，這些系統的開發和維護成本高昂，且在不同細胞株之間的適應性也存在變數，這增加了生產過程的一致性風險。

其次，外泌體的分離和純化是另一個重要挑戰。隨著生產規模的擴大，傳統的分離純化方法(如超高速離心和密度梯度離心)變得越來越不適用，因為這些方法難以在工業規模上應用，且效率不高。為此，科學家們正在探索更為高效的分離純化技術，如基於免疫親和性捕獲的分離方法、超過濾技術以及微流道技術，這些技術有望提高外泌體純化的效率和產量。然而，這些技術的實現需要投入大量的資源進行研發，並且必須克服生產流程放大的技術挑戰，以保證生產規模擴大時的產品質量。

品質控制是確保外泌體產品一致性和安全性的關鍵。在大規模生產中，品質控制系統需要涵蓋從細胞庫建立、細胞培養、外泌體分離純化到最終產品測試的每一個環節。這要求建立一套標準化的質量控制指標和檢測方法，確保外泌體的物理化學性質、功能性分子和生物活性在不同批次間保持一致。此外，質量控制還應該包括對潛在污染物(如細菌、病毒、生物毒素和其他細胞外囊泡)的檢測，以確保外泌體產品的純度和安全性。

最後，開發自動化和高通量的生產技術是推動外泌體療法市場化的關鍵。自動化生產系統不僅能提高生產效率，降低人為錯誤的風險，還能有效降低生產成本，從而使外泌體療法更具經濟可行性。高通量技術的應用可以快速篩選和優化生產條件，加速新產品的研發進程，並且在臨床需求增加的情況下，能夠快速擴大生產規模，滿

足市場需求。

總而言之，外泌體療法的臨床應用和市場化面臨著多重挑戰，但隨著技術的進步和產業的發展，這些挑戰有望逐步被克服。未來，隨著更高效、標準化和自動化的生產技術的實現，外泌體療法將在臨床和市場領域展現出更廣闊的應用前景。

### 基礎生物學

全面了解外泌體的生物學特性是外泌體將來應用在疾病療法上成功的關鍵。然而，這一領域仍面臨諸多挑戰，特別是在外泌體合成機轉及調控、內容物再入和選擇和活性成分在治療的作用機制方面的研究上。

首先，外泌體的生成過程是極度複雜且受多種細胞內外因子的調控。外泌體源自細胞內體的多泡體(MVBs)，在多泡體與細胞膜inside-out的融合後釋放到細胞外環境中。這一過程受到細胞內訊息傳導路徑、細胞周邊微環境條件和細胞類型的影響。例如，細胞的代謝狀態、氧化壓力、炎症反應等都可能影響外泌體的生成和釋放等。此外，不同細胞類型分泌的外泌體在大小、組成和功能上可能存在顯著差異，這使得研究者難以制定通用的生產標準和治療規範<sup>(3)</sup>。

內含物選擇載入是外泌體研究中的另一個重要挑戰。外泌體內部攜帶的分子(如蛋白質、脂質、RNA、代謝物等)對其生物學功能具有決定性作用。然而，外泌體如何選擇和包裹這些分子的具體機制仍非常的不清楚。已知細胞可能利用特定的蛋白質機制或RNA結構特性來選擇哪些分子進入外泌體，但這些過程中的調控機制仍需深入研究。探討和了解這一過程對於優化外泌體做為治療性載體的功能非常的重要。例如，通過基因工程或化學修飾技術，研究者可以有針對性地改變外泌體所攜帶的內含物，以實現更精確的治療效果<sup>(11)</sup>。

此外，外泌體的所具功效的作用機制也尚未完全闡明。事實上，目前對於外泌體如何與目標細胞進行識別和結合，以及如何將其內部內容物遞送到細胞內，這些過程涉及複雜的細胞間信號傳導和膜融合機制。目前的研究顯示，外泌體表面的特定受體和糖蛋白可能在與目標細胞的相互

受體-配體模式的交互作用具有關鍵作用，但實際的結合機制和影響因素仍需進一步探索。這些知識對於提高外泌體的靶向性、降低潛在副作用以及增強治療效果具有重要意義<sup>(3)</sup>。

研究外泌體生物學的難度不僅限於基礎科學層面，還涉及到實驗技術的挑戰。例如，如何在活體環境中精確地追蹤外泌體的動態過程，如何分離和分析外泌體的特定亞群，這些都是目前亟待解決的技術問題。隨著先進技術的發展，如高解析度的顯微影像技術、單分子成像技術和高通量多體學分析，研究者有望獲得更深入的理解，從而優化外泌體的設計和應用。

總結來說，外泌體的生物學研究仍處於發展階段，尚有許多基礎科學和技術的問題仍未解決。隨著對外泌體生成機制、內含物選擇載入機制和與目標細胞/組織的作用機制的深入了解，未來有望通過基因工程和化學修飾技術，實現對外泌體功能的精確調控，從而提高其在臨床治療中的應用效果和安全性。這將為外泌體療法開創更加光明的前景，也將推動生物醫學領域的重大突破。

### 結語

外泌體作為一種奈米級細胞外囊泡，因其穩定性、低免疫原性和標靶遞送能力，已在疾病診斷、藥物遞送、再生醫學甚至疫苗開發等領域展示出廣泛的應用潛力。在臨床應用中，外泌體能夠標靶遞送抗癌藥物和基因編輯工具，顯著提高治療效果並減少副作用。此外，外泌體還可作為疫苗開發的載體，展示出對傳染病和癌症的預防與治療的潛力。未來，外泌體在個人化醫療和基因療法中的應用前景廣闊。

然而，外泌體的臨床轉化面臨諸多挑戰，包括分離和純化技術的標準化、產品質量的一致性、以及法規環境的制定。此外，將外泌體生產規模擴大到臨床使用，還需解決技術上如細胞培養和生產自動化的困難。隨著研究的深入和技術的進步，這些挑戰有望被克服，使外泌體療法成為未來醫學的重要組成部分，為病人提供更精確和有效的治療選擇。



## 參考文獻

1. Al-Madhagi H: The landscape of exosomes biogenesis to clinical applications. *Int J Nanomedicine* 2024; 19: 3657-3675.
2. Cabrera-Pastor A: Extracellular vesicles as mediators of neuroinflammation in intercellular and inter-organ crosstalk. *Int J Mol Sci* 2024; 5: 7041.
3. Kalluri R, Lebleu VS: The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science* 2020; 367: eaau6977.
4. Zhou E, Li Y, Wu F, et al.: Circulating extracellular vesicles are effective biomarkers for predicting response to cancer therapy. *EBioMedicine* 2021; 67: 103365.
5. Tai YL, Chu PY, Lee BH, et al.: Basics and applications of tumor-derived extracellular vesicles. *J Biomed Sci* 2019; 26: 35.
6. Tan F, Li X, Wang Z, et al.: Clinical applications of stem cell-derived exosomes. *Signal Transduct Target Ther* 2024; 9: 17.
7. Rezaie J, Fegghi M, Etemadi T: A review on exosomes application in clinical trials: Perspective, questions, and challenges. *Cell Commun Signal* 2022; 20: 145.
8. Zhou B, Xu K, Zheng X, et al.: Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis. *Signal Transduct Target Ther* 2020; 5: 144.
9. Negahdaripour M, Vakili B, Nezafat N: Exosome-based vaccines and their position in next generation vaccines. *Int Immunopharmacol* 2022; 113: 109265.
10. Santos P, Almeida F: Exosome-based vaccines: History, current state, and clinical trials. *Front Immunol* 2021; 12: 711565.
11. Zhang B, Sim WK, Shen TL, et al.: Engineered EVs with pathogen proteins: Promising vaccine alternatives to LNP-mRNA vaccines. *J Biomed Sci* 2024; 31: 9.

