

肿瘤细胞外囊泡分子分析在肿瘤精准诊疗的研究进展

邱磊^{1,2†}, 黄蓓茵^{1,3†}, 徐文娟^{1,4}, 裴仁军^{1,2}, 孙娜^{1,2*}

1. 中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所, 江苏省类器官创制与精准医疗重点实验室, 苏州 215123

2. 中国科学技术大学纳米技术与纳米仿生学院, 合肥 230026

3. 上海大学理学院化学系, 上海 200444

4. 苏州大学附属第二医院呼吸与危重症医学科, 苏州 215004

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: nsun2013@sinano.ac.cn

2026-05-05 收稿, 2026-07-06 修回, 2026-07-07 接受, 2026-07-08 网络版发表

江苏省前沿引领技术基础研究重大项目(BK20232046)、中国科学院青年创新促进会(2023335)和苏州市科技计划(SZS2023006)资助

摘要 细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是由细胞分泌至胞外的一类双层脂质膜性囊泡, 其可以携带来源细胞的各类生物学信息. 肿瘤EVs因参与肿瘤发生发展、侵袭转移及微环境调控, 并可在体液中稳定存在, 已成为肿瘤液体活检和精准诊疗研究的重要对象. 对肿瘤EVs开展分子分析, 有望为肿瘤早期诊断、疗效监测等提供新的技术途径. 然而, 肿瘤EVs信号易受复杂体液背景和低丰度特征影响, 限制了其精准分析和临床应用. 针对以上挑战, 本团队近年来围绕肿瘤EV分子分析的关键环节开展了系统的研究, 在EV分离纯化、表面蛋白分析、核酸标志物检测及其在多种肿瘤诊断中的应用等方面取得了一系列进展. 相关工作体现了方法学创新与临床应用验证相结合的研究特点, 为提升肿瘤EV检测的灵敏度、特异性和临床可用性提供了重要支撑. 本文以本团队近年来的代表性研究为主线, 系统总结了肿瘤EV分子分析在肿瘤精准诊疗中的研究进展, 同时对多维信息整合和临床转化等未来发展方向进行了展望.

关键词 细胞外囊泡, 分离纯化, 分子分析, 肿瘤早期诊断, 治疗监测

肿瘤已成为威胁全球人类健康的重大公共卫生问题, 给社会医疗体系和患者家庭带来沉重负担^[1]. 实现肿瘤的早期诊断、疗效监测及预后评估, 是提升患者生存率、改善临床诊疗效果的关键^[2]. 组织活检作为肿瘤诊断的金标准, 虽能提供明确的病理依据, 但存在创伤性强、无法重复取样和易遗漏肿瘤异质性信息等固有缺陷, 难以满足肿瘤全程精准管理的临床需求^[3]. 液体活检是一类非侵入性检测方法, 通过分析患者血液、尿液等易获取、可重复采集的体液样本中的肿瘤相关生物标志物, 实现对肿瘤发生发展过程的动态监测^[4], 其检测对象涵盖循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)、循环肿瘤DNA (circulating tumor DNA,

ctDNA)以及肿瘤细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)等多种成分, 因具有微创、实时的优势而受到广泛关注^[5]. 由于CTCs来源于肿瘤组织并参与血行播散过程, 因此在肿瘤术后复发监测及疗效评估中具有重要应用潜力^[6-9].

EVs则是由几乎所有细胞分泌至胞外的一类双层脂质膜性囊泡, 能够稳定携带来源细胞的蛋白质、核酸、脂质及代谢物等多种生物学信息, 反映了来源细胞的分子特征与功能状态^[10]. EVs的粒径范围为30~1000 nm, 但其并非单一均质群体, 不同EV亚群在粒径范围、分子组成及生物学来源上存在一定重叠, 仅依据粒径大小难以对其进行准确区分. 因此, 实际研

引用格式: 邱磊, 黄蓓茵, 徐文娟, 等. 肿瘤细胞外囊泡分子分析在肿瘤精准诊疗的研究进展. 科学通报, 2026, 71: 6339–6353

Qiu L, Huang B, Xu W, et al. Research progress on tumor precise diagnosis and treatment by molecular analysis of tumor extracellular vesicles (in Chinese). Chin Sci Bull, 2026, 71: 6339–6353, doi: [10.1360/CSB-2026-0632](https://doi.org/10.1360/CSB-2026-0632)

究中通常需结合囊泡形貌、粒径分布及EV相关标志蛋白等多种指标进行综合表征,以提高EV鉴定结果的可靠性。肿瘤EVs能够在血液、汗液及尿液等体液中检测到,具有显著优势^[11],已成为液体活检领域的新兴研究热点^[12]。

目前EV检测及分析走向临床应用仍面临多重挑战。一方面,体液样本成分复杂,存在大量来源多样的非肿瘤EVs及可溶性蛋白、脂蛋白及核酸背景,导致肿瘤相关信号易被稀释或掩盖;另一方面,肿瘤EVs在体液中丰度相对较低,且不同来源、不同功能状态EV亚群之间存在显著异质性,使得高灵敏、高特异、可重复的检测面临困难。此外,样本前处理、分离流程、检测读出和数据建模等环节尚缺乏充分标准化,也在一定程度上限制了EV液体活检技术的大规模临床转化。

围绕上述关键问题,本团队近年来围绕EV分离纯化^[13,14]、分子特征分析^[15,16]及其在肿瘤诊疗中的应用^[17,18]开展了大量的系统研究^[19]。本文将本团队近年来的代表性研究为主线,系统总结EV分子分析在肿瘤诊疗中的研究进展(图1)^[20~24],以期为该领域的发展

提供参考。

1 面向临床应用的EV分离方法

EV分子分析的前提是在复杂体液样本中尽可能提高目标EV亚群的回收率、纯度和特异性。传统的EV分离方法主要依赖其基本的生物物理性质,如密度和粒径等。差速超速离心法是目前应用最广泛的分离方法之一,被视为EV分离的经典方法^[25]。该方法通过逐步提高离心转速,从大体积生物样本中分离EVs^[26],但分离效果易受离心条件影响,并可能伴随蛋白、脂蛋白等非EV成分共沉淀。而另一种常用的传统方法是密度梯度离心(density gradient centrifugation, DGC),其通常采用蔗糖或碘克沙醇建立梯度体系,利用密度梯度对EVs进行分离,可获得较高的分离纯度,但操作复杂、耗时较长^[27]。而体积排阻色谱(size exclusion chromatography, SEC)和超滤(ultrafiltration, UF)则是基于EV与其他杂质颗粒之间的粒径差异进行分离^[28]。这类方法操作条件相对温和、无需超速离心设备,常用于EV富集、样本浓缩及与其他分离方法联合使用。其中,

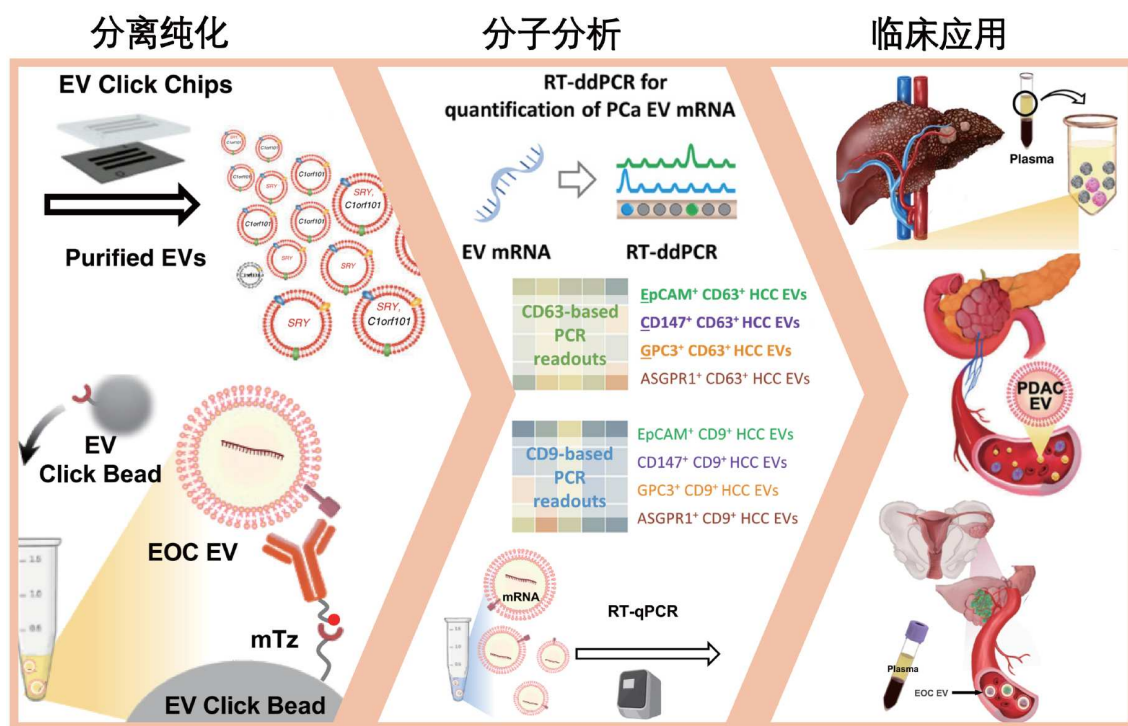


图1 EV分子分析在肿瘤诊疗中应用的示意图^[20~24]. Copyright © 2020 Springer. Copyright © 2023, 2025 Elsevier. Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH. Copyright © 2023 American Association for the Study of Liver Diseases

Figure 1 Schematic diagram of EV molecular analysis in tumor diagnosis and treatment^[20~24]. Copyright © 2020 Springer. Copyright © 2023, 2025 Elsevier. Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH. Copyright © 2023 American Association for the Study of Liver Diseases

UF可用于样本预浓缩, SEC则有助于分离EVs与游离蛋白等可溶性杂质, 二者联用已被用于生物样本中EV的分离. 但由于其主要依赖物理尺寸差异, 单独使用时难以区分粒径相近的脂蛋白、蛋白复合物或其他非EV颗粒, 分离产物中仍可能残留较多杂质, 且对样本的体积有要求^[29,30]. 因此, 发展兼顾高效率、高特异性、低样本消耗和易标准化的新型EV分离策略, 成为推动EV分子分析向临床应用转化的重要方向.

1.1 基于微流控芯片微纳结构界面的EV亚群分离方法

近年来, 随着芯片结构优化、功能界面构建和多标志物识别策略的发展, 其在特定EV亚群分离方面的潜力逐步显现^[31]. 这类方法的核心在于通过优化芯片表面结构和流体行为, 提高目标EVs与功能界面的接触概率和结合效率, 同时降低复杂样本背景干扰. 围绕这一目标, 本团队逐步发展了融合多标志物免疫识别、微纳结构界面和点击化学捕获的系列技术体系.

本团队构建的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)相关EV纯化体系(图2(a))^[32]整合了点击化学介导的EV捕获/释放、多标志物抗体鸡尾酒、硅纳米线基底以及微流控混沌混合器这四项关键策略. 具体而言, 选取EpCAM、ASGPR1和CD147作为HCC相关EV表面标志物, 通过反式环辛烯(trans-cyclooctene, TCO)修饰抗体对目标EVs进行标记, 再利用表面接枝四嗪(tetrazine, Tz)的硅纳米线基底实现快速、特异且不可逆的点击化学捕获. 随后借助二硫键断裂实现EVs的温和释放, 芯片的回收率可达81.2%~94.6%, 纯度达到85.9%~99.1%^[32], 为复杂背景中HCC相关EV的后续分子分析奠定了基础.

在此基础上, 本团队进一步发展了纳米棒集成微流控芯片(图2(b))^[33], 可提供更大的抗体结合面积, 同时在流体通过过程中引发局部液体扰动, 从而提升EVs与芯片表面的接触概率和结合效率, 结果显示EV分离效率达到83.4%±5.3%^[33]. 此外, 受海葵捕食行为启发, 我们构建了集成硅微海葵结构的新型微流控芯片(图2(c))^[34]. 该芯片由混沌混合器和接枝有抗EpCAM抗体的基底组成, 其中金字塔样结构和表面纳米棒结构共同作用, 可在流体通过时产生更强的流体扰动并增加抗体结合位点, 从而进一步提高EVs与芯片表面发生相互作用的概率, EV分离效率高达91%±2%^[34]. 这些工作表明, 仿生微纳结构与功能界面工程的结合, 能够有效

提升特定EV亚群的捕获性能, 也为复杂样本中EV精细分离提供了新的设计思路. 需要注意的是, 基于微纳结构界面和抗体识别的EV捕获方法仍受到表面标志物选择、抗体亲和力等因素影响. 由于单一或少数表面标志物阳性EV亚群并不能完全代表肿瘤来源EV, 且也会影响后续分子读出, 因此仍需结合多标志物识别、下游分子验证和临床队列分析, 对目标EV亚群的肿瘤相关性进行检测稳定性进行综合评估. 在此基础上, 微流控平台的进一步集成化和自动化, 有望在提升分离效率的同时, 减少人为操作差异并增强检测流程的标准化程度.

随着微流控芯片平台的不断发展, 基于该平台还有望实现EV从分离富集到分子检测的一体化流程^[35~37]. 例如, Woo等人^[35]提出了一种名为SpinEx的集成化离心式圆盘微流控装置, 可实现从全血样本中对EVs进行自动化分离、富集及多重免疫标记的全流程处理. 该系统能够在单一样本中同时检测16种蛋白质标志物, 并已在临床血浆样本中验证了其在癌症检测和肿瘤分类中的应用潜力: 其癌症检出准确率达到90%, 对5种常见癌症的分类准确率达到96%, 集成化微流控平台为EV临床检测提供了高效、灵敏且具有扩展潜力的技术方案.

1.2 不依赖复杂设备的EV快速分离方法

除高性能芯片平台外, 面向临床转化的EV分离方法还应兼顾操作简便、处理快速、设备依赖低、样本消耗少和易于标准化等特点. 基于此, 本团队近年来发展了以Click Beads为核心的快速EV分离策略, 包括基于脂质标记的总EV通用捕获方法以及基于特异性识别的EV亚群快速富集方法. 两类方法均借助点击化学反应实现EVs的稳定捕获, 并可在简单低速离心条件下完成分离, 从而显著简化操作流程.

在总EVs捕获方面, 本团队建立了脂类介导的快速分离方法^[20]. 该策略利用EV双层脂质膜这一共有结构特征, 通过DSPE-PEG1000-TCO插入EV膜, 将TCO基团引入EV表面, 随后加入表面修饰Tz的Click Beads, 借助TCO-Tz之间高效生物正交的点击反应, 可以在30 min内实现EVs的快速富集与分离(图3(a)), 分离效率为73.1%±6.0%到80.6%±3.6%, 而超高速离心法仅为12.8%±6.1%到18.2%±9.7%^[20]. 在此基础上, 为进一步提高肿瘤相关EV亚群的富集效率, 本团队发展了基于特异性识别的快速分离方法^[21,24]. 该方法首先利用

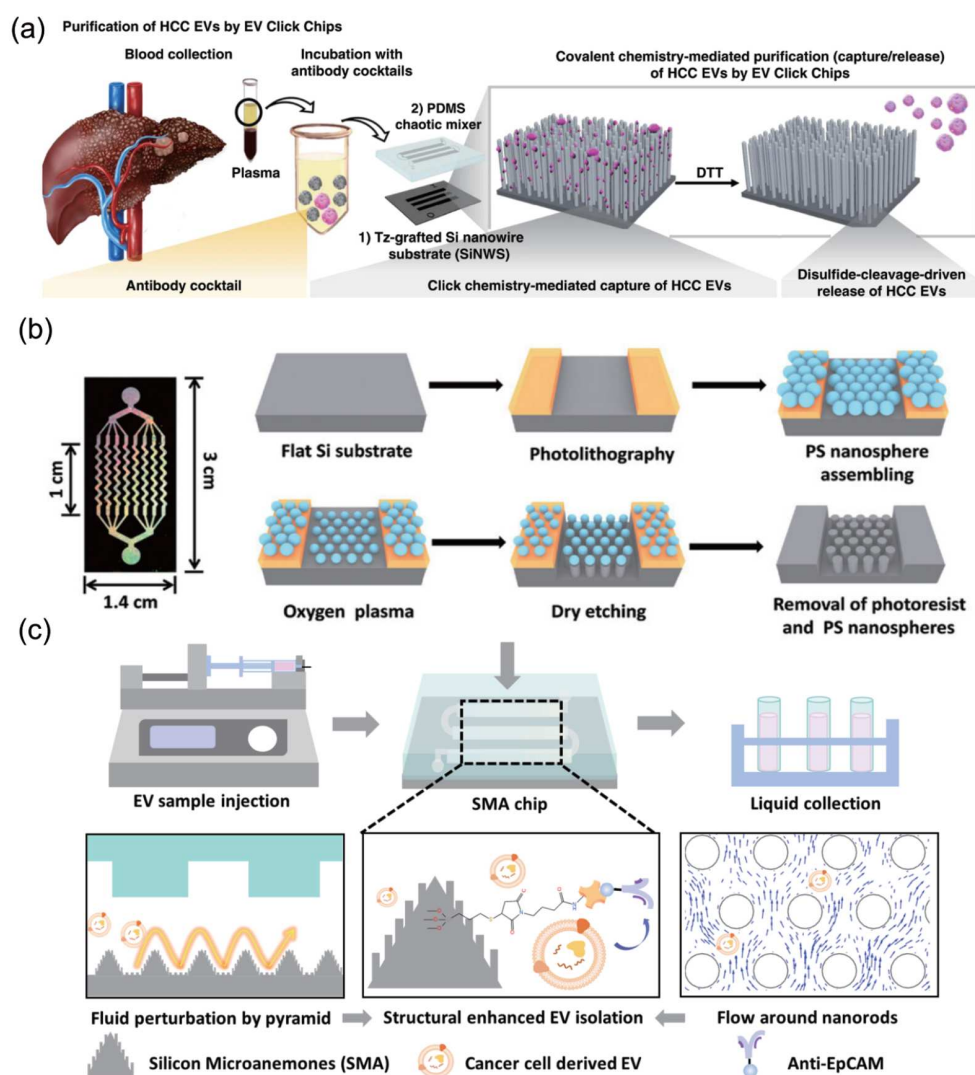


图2 基于微流控芯片的EV亚群分离方法。(a) 基于EV Click Chip的EV纯化体系^[32]。Copyright © 2020 Springer。(b) 纳米棒集成微流控芯片^[33]。Copyright © 2024 Wiley-VCH GmbH。(c) 集成硅微海葵结构的新型微流控芯片^[34]。Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH

Figure 2 Methods for separating EV subpopulations based on microfluidic chips. (a) EV purification system using the EV Click Chip^[32]. Copyright © 2020 Springer. (b) Nanorod-integrated microfluidic chip^[33]. Copyright © 2024 Wiley-VCH GmbH. (c) Novel microfluidic chip featuring integrated silicon sea anemone structures^[34]. Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH

TCO修饰的特异性抗体对目标EV表面抗原进行分子标记, 再通过Click Beads表面的Tz基团实现目标EV亚群的特异性富集。与传统免疫亲和分离相比, 该策略将抗原识别与固相捕获分步完成, 有助于减少复杂界面修饰对捕获效率的影响。本团队已在多种肿瘤中验证了其应用潜力。在胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)研究中, 实现了对MUC1⁺、EGFR⁺和TROP2⁺三种PDAC相关EV亚群的高效富集(图3(b))^[24]。在上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)研究中, 实现了对FR α ⁺、MSLN⁺和TROP2⁺三种

EOC相关EV亚群的高效富集(图3(c))^[21]。近期, 有研究者提出了一种基于介孔-大孔水凝胶的EV直接分离技术^[38], 可在无需预处理的条件下, 通过表面电荷作用对囊泡进行选择捕获, 并在高离子强度条件下直接从血液中高效分离细胞外囊泡。这类快速EV富集方法虽具有操作简便、设备依赖低等优势, 但其分离性能仍受材料表面性质、探针标记效率等因素影响。其中, 脂质插入类方法可能改变EV膜表面性质, 进而对后续膜相关表征或分子读出产生潜在影响。因此, 后续应用中仍需结合EV形貌、粒径分布和分子标志物等指标进

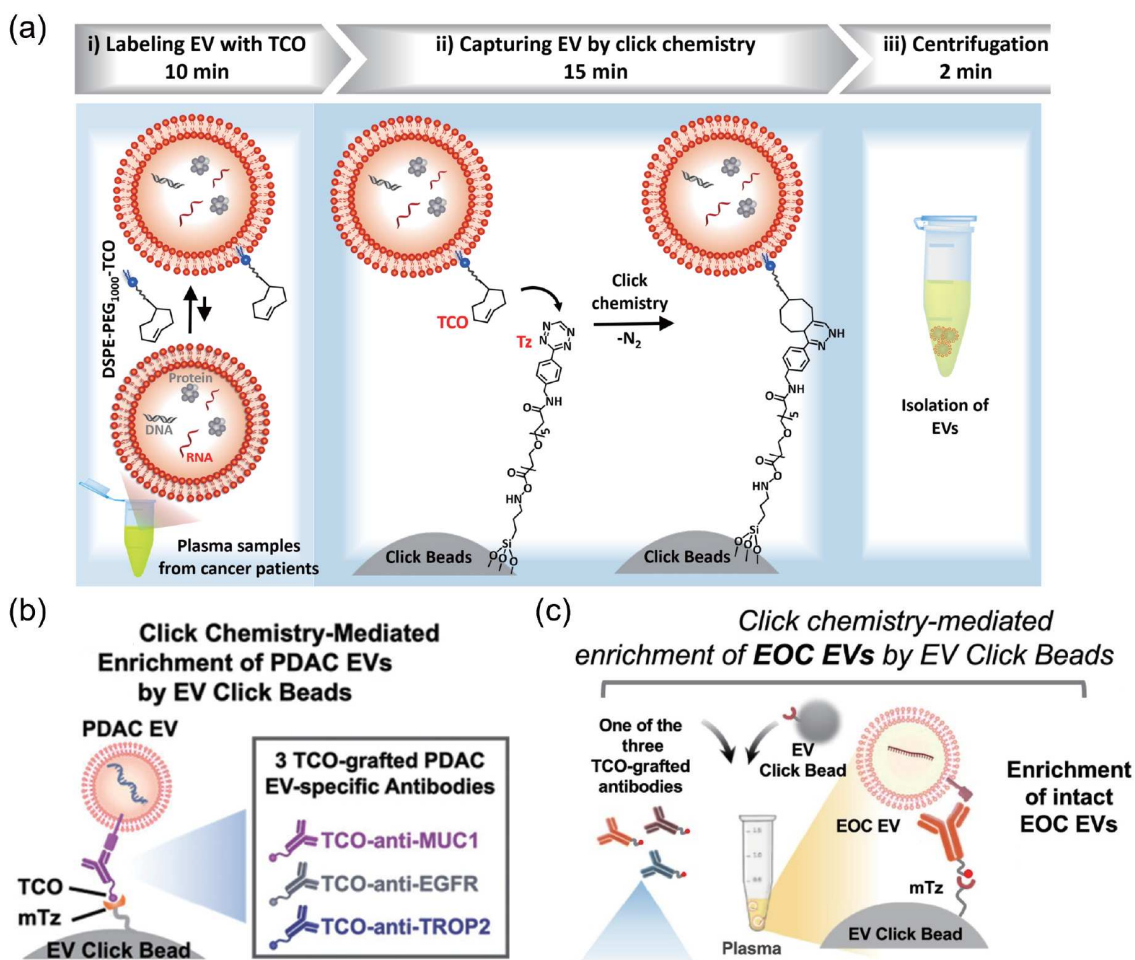


图 3 不依赖复杂设备的EV快速分离方法。(a) 基于DSPE-PEG1000-TCO脂质探针与Click Beads相结合的快速EV富集方法^[20]。Copyright © 2022 Wiley-VCH GmbH。(b) PDAC相关EV表面蛋白检测用于早期PDAC的无创检测^[24]。Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH。(c) EOC相关EV表面蛋白检测用于早期EOC的无创检测^[21]。Copyright © 2025 Elsevier

Figure 3 Rapid EV separation methods that do not rely on complex equipment. (a) A rapid EV enrichment method that combines DSPE-PEG1000-TCO lipid probes with Click Beads^[20]. Copyright © 2022 Wiley-VCH GmbH. (b) Detection of surface proteins on EVs from pancreatic ductal adenocarcinoma for non-invasive detection of early PDAC^[24]. Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH. (c) Detection of surface protein markers on EVs from epithelial ovarian cancer for non-invasive diagnosis of early EOC^[21]. Copyright © 2025 Elsevier

行质量控制。但总体来看, 以上EV快速分离方法的研究仍为EV的基础研究、临床转化应用提供了一种具有发展潜力的技术框架。

2 EV分子分析

在获得高质量EV样本后, 如何从中提取与肿瘤发生、发展和治疗响应密切相关的分子信息, 是EV液体活检研究的核心。EV表面蛋白可用于识别特定EV亚群并反映肿瘤相关表型, 所携带的核酸分子则可提供基因表达异常和转录调控变化等信息。因此, 围绕EV表面蛋白和囊泡内核酸建立高灵敏、高特异且可量化的

分子分析方法, 是推动EV研究向临床应用转化的关键步骤。

2.1 EV表面蛋白分析

EV膜蛋白可直接参与癌症的发生和发展, 因此其被广泛用作癌症的检测靶标。许多研究采用荧光标记抗体开展EV蛋白检测^[39]。该类方法通常利用荧光染料标记的抗体识别EV表面蛋白, 再结合荧光显微成像、流式检测或芯片读出等方式实现目标蛋白分析^[40]。与WB和ELISA相比, 荧光标记抗体方法具有操作相对直观、检测速度较快和便于多指标联合分析等优势。然

而,这类方法总体上仍主要依赖荧光信号直接读出,其检测性能仍受限于荧光背景、信号淬灭和低丰度靶标信号不足等因素。

为提高EV表面蛋白检测的灵敏度,本团队将免疫PCR引入HCC相关EV表面蛋白分析,建立了HCC相关EV表面蛋白分析方法(HCC EV surface protein assay, SPA)(图4)^[22]。该方法利用点击化学制备DNA标签抗体,将免疫识别与核酸扩增相结合,实现了对HCC相关EV表面蛋白的高灵敏定量分析。研究中以EpCAM、CD147、GPC3和ASGPR1为富集标志物,检测其与CD63或CD9共阳性的EV亚群,并基于EpCAM⁺CD63⁺、CD147⁺CD63⁺和GPC3⁺CD63⁺三类亚群构建HCC EV ECG score。该评分基于400 μL血浆样本可区分早期HCC与肝硬化患者,显示出了基于EV表面蛋白高灵敏定量开展早期HCC检测的临床潜力。

除抗体介导的识别体系外,适配体也为EV表面蛋

白检测提供了另一类具有扩展性的分子识别工具。已有研究利用适配体结合荧光极化或多轮原位检测策略,实现了不同癌种EV表面蛋白的区分和多蛋白谱分析^[41,42]。随着适配体筛选技术的迭代^[43],适配体在EV捕获、分型及高灵敏蛋白检测中具有更好应用前景。总体而言, EV表面蛋白分析正由传统的定性验证逐步转向高灵敏、多指标及可建模的定量检测,为后续临床评分体系的建立提供了重要基础。

但需要注意的是, EV表面蛋白分析结果的解释仍需结合标志物在不同细胞类型和疾病状态下的表达特征,以及临床病理背景进行综合判断。因此,多标志物联合检测和蛋白-核酸信息整合仍是提高EV表面蛋白分析特异性和临床解释力的重要方向。

2.2 EV核酸分析

除表面蛋白外, EV内部携带的mRNA、miRNA及

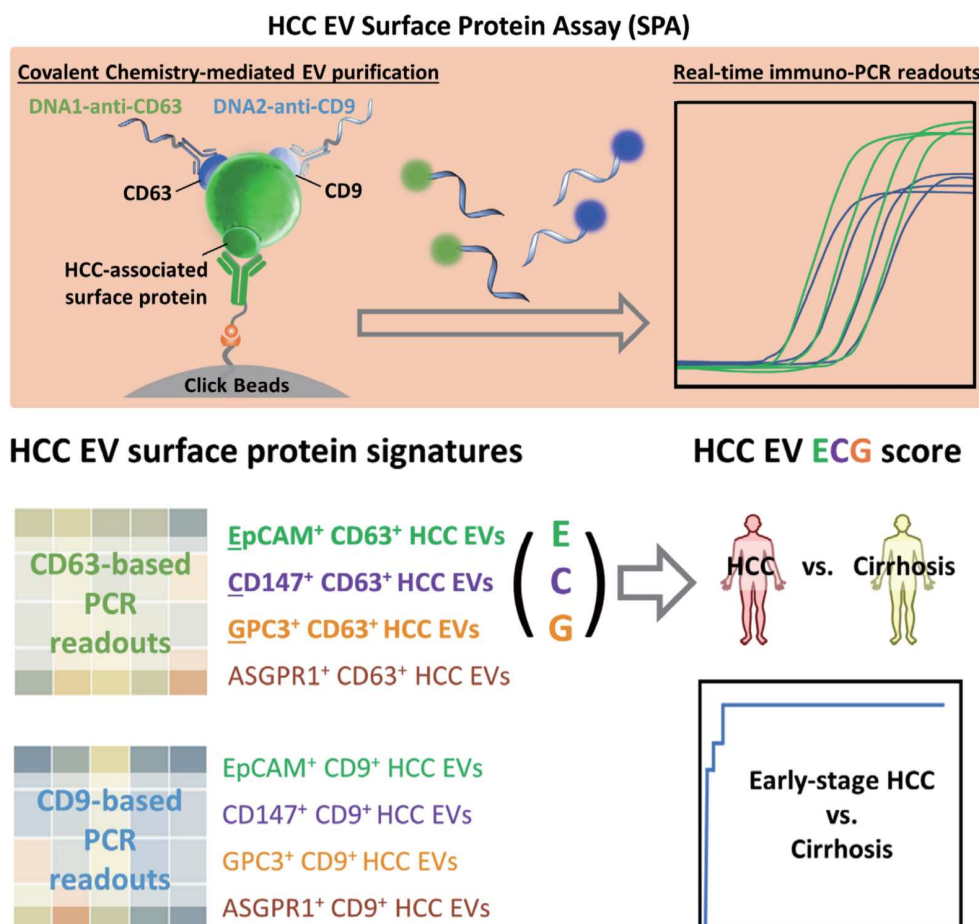


图4 基于免疫PCR的EV表面蛋白分析^[22]。Copyright © 2023 American Association for the Study of Liver Diseases

Figure 4 Analysis of EV surface proteins based on immuno-PCR^[22]。Copyright © 2023 American Association for the Study of Liver Diseases

其他核酸分子同样是反映肿瘤分子状态的重要信息来源。EV核酸分析不仅可揭示肿瘤相关基因异常和转录调控特征,也可为疾病分型、治疗应答及动态监测提供更灵敏的分子读出。为定量分析EV核酸的表达水平,研究者已采用实时荧光定量逆转录PCR (qRT-PCR)、微阵列(microarray)和二代测序(next-generation sequencing, NGS)等技术^[44]。qRT-PCR通常用于核酸候选标志物的检测与验证及相对定量分析,但其在低丰度靶标检测中灵敏度仍受限制。微阵列可通过探针杂交一次性分析大量核酸分子,但灵敏度相对不足,尤其不利于低丰度靶标的精准检测^[45]。NGS在高通量筛选与定量分析方面具有优势,更适合用于EV核酸谱系分析和候选标志物发现,但其检测成本较高、数据处理复杂且建库流程繁琐^[46]。相比之下,液滴数字PCR (droplet digital PCR, ddPCR)在低拷贝核酸定量和低丰度靶标检测方面具有更高的灵敏度、准确性和重复性。由于其可针对已知靶标进行精准检测,ddPCR尤其适用于小panel基因分析,并已在特定癌种EV核酸的小panel基因检测分析中展现出了独特优势^[47]。

基于此,本团队构建了结合EV Click Chip平台与RT-ddPCR的HCC相关EV mRNA分析体系(图5(a))^[32],用于早期HCC的无创检测。通过前期标志物筛选确定10种HCC相关mRNA转录本,并利用RT-ddPCR进行定量分析,最终形成基于EV衍生mRNA特征的分子签名。研究表明,HCC EV来源的10种基因分子特征对高风险肝硬化人群中的早期HCC识别具有良好潜力。该工作的重要意义在于,它将上游高特异性肿瘤的富集与下游绝对定量核酸检测相结合,显著提升了早期HCC相关信号的可检测性。随后,本团队发展了EV Digital Scoring Assay (EV DSA)(图5(b))^[23],并将EV mRNA分析框架拓展至前列腺癌(prostate cancer, PCa)的疾病状态评估。选择11种PCa相关mRNA作为检测指标,并利用RT-ddPCR对纯化后的PCa相关EVs进行绝对定量。

除mRNA以外,EV miRNA的检测也具有重大应用潜力^[48~50]。有研究报道了一种一步式等温CRISPR-Cas12a检测方法(EXTRA-CRISPR)^[48],可用于miRNA的快速、特异性检测,其灵敏度与RT-PCR相当。该研

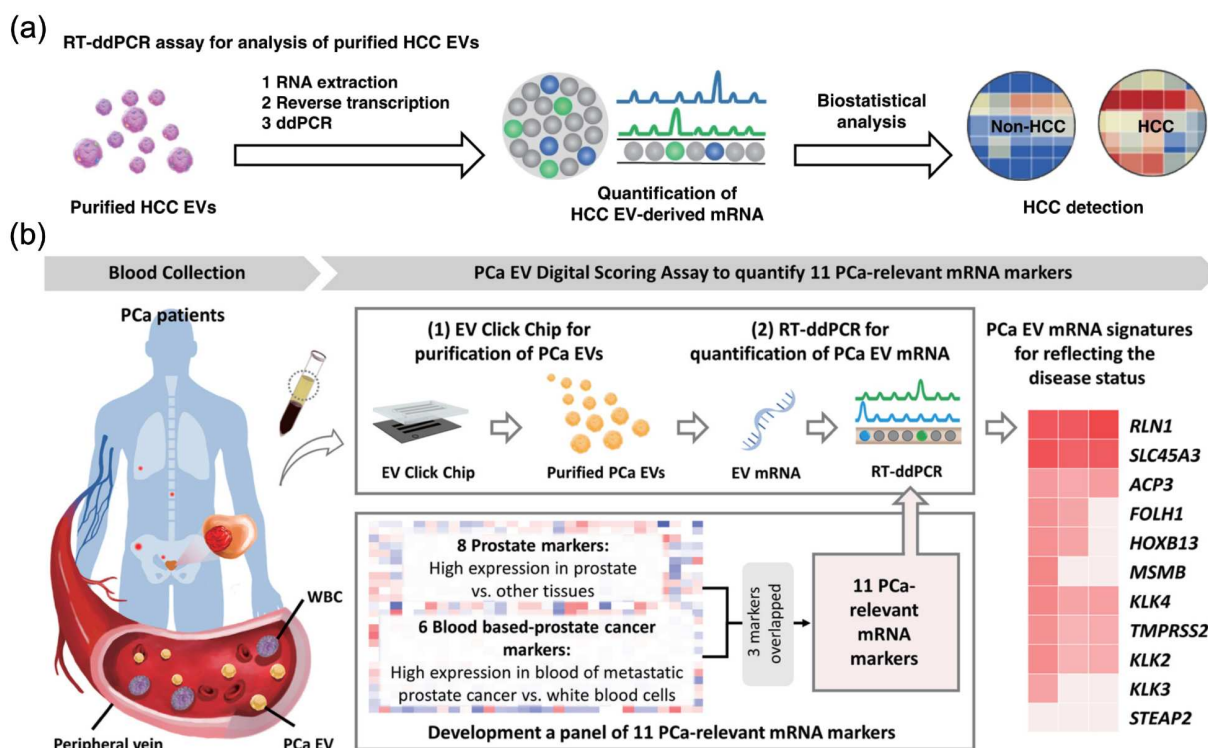


图5 EV mRNA分析。(a) ddPCR检测10种HCC特异性mRNA分子^[32]。Copyright © 2020 Springer。(b) ddPCR检测11种PCa特异性mRNA分子^[23]。Copyright © 2023 Elsevier

Figure 5 EV mRNA analysis. (a) ddPCR detection of 10 HCC-specific mRNA molecules^[32]。Copyright © 2020 Springer。(b) ddPCR detection of 11 PCa-specific mRNA molecules^[23]。Copyright © 2023 Elsevier

究将EXTRA-CRISPR应用于EV中多种miRNA生物标志物(包括miR-21、miR-196a、miR-451a和miR-1246)的定量分析,可服务于基于液体活检的癌症诊断和预后评估。

EV表面蛋白和核酸分析技术分别从膜表型和内源分子信息两个层面拓展了肿瘤EV液体活检的应用范围,表1总结了主要EV分析策略及其应用特点比较。然而,临床体液样本中的EV具有显著异质性,群体水平检测获得的平均信号往往难以准确反映少量肿瘤来源EV或特定功能EV亚群的分子特征。因此,近年来EV分子分析正由单一指标检测逐渐向单EV分析、多组学整合分析发展。单EV分析技术能够在单颗粒水平解析EV的表面蛋白、内部核酸及多标志物共表达特征,有助于识别被群体平均信号掩盖的稀有EV亚群。例如,Wu等人[51]将滚环扩增与扩增显微成像结合,建立RCA-ExM单EV成像方法,可在常规荧光显微镜下实现EV表面蛋白和EV内miRNA的联合检测;该方法通过检测EpCAM⁺ PD-L1⁺血浆EV中的miR-21,在临床队列中区分癌症患者与健康供者,并进一步区分不同免疫治疗疗效人群,体现了单EV多参数分析在肿瘤诊断和疗效监测中的潜力。多组学EV分析则更强调从系统层面解析EV所携带的蛋白质、RNA、DNA、脂质和代谢物等多维信息。相比单一组学,多组学整合有助于更全面地揭示肿瘤异质性、疾病进展和治疗响应相关的分子网络,多组学整合结合生物信息学和人工智能算法,能够提高标志物发现和临床预测模型构建的可靠性[52]。

表 1 主要EV分析策略及其应用特点比较

Table 1 Comparison of major EV analysis strategies and their application characteristics

分析策略	检测对象	EV来源/目标亚群	样本类型	方法特点	应用场景	优势与局限	文献
EV Click Chip联合RT-ddPCR	EV mRNA	HCC相关EVs	血浆	多标志物免疫识别结合点击化学捕获/释放,富集HCC相关EVs后进行RT-ddPCR mRNA panel分析	早期HCC检测	富集纯度高、可绝对定量;但依赖芯片和多抗体体系	[32]
Click Beads快速EV富集后定量分析	总EV或特定EV亚群	总EVs; 肿瘤相关EV亚群	血浆	脂质标记或抗体标记结合点击化学捕获	快速EV分离、PDAC/EOC早期检测及疗效监测	操作快速、设备依赖低;但依赖脂质膜特征或已知表面标志物	[20,21,24]
免疫PCR型EV表面蛋白分析	EV表面蛋白	HCC相关EV亚群	血浆	DNA标签抗体结合免疫识别与核酸扩增	早期HCC检测	灵敏度高;但抗体-DNA标签制备和流程较复杂	[22]
EV DSA	EV mRNA	PCa相关EVs	血浆	RT-ddPCR检测PCa相关mRNA并构建Met score	PCa疾病状态评估和疗效监测	适合纵向监测;但依赖预设mRNA panel和模型验证	[23]

3 EV分子分析在肿瘤精准诊疗中的应用

随着EV分离富集与分子检测技术的发展,复杂体液样本中的EV分子信号逐渐转化为可量化、可解释的临床指标,为肿瘤早期诊断、疗效监测和预后评估提供了新的技术路径。EV液体活检的临床转化不仅取决于检测方法本身的灵敏度和特异性,临床EV分子分析的标准化与质量控制也至关重要[52]。

3.1 临床EV分子分析的标准化与质量控制

在开展临床EV分子分析时,全过程建立质量控制体系能够降低技术变量对结果的影响,提高不同研究和不同中心之间数据的可比性与可重复性[53]。为保证检测结果的准确性和可靠性,面面向临床应用的EV分子分析需要对样本采集、前处理、储存、EV分离富集、污染物控制、EV表征、分子检测和数据报告等环节进行系统质量控制。

首先,样本类型、采血管、抗凝剂类型以及采血至处理的时间间隔会影响EV数量、粒径分布及背景污染水平,因此需明确血浆或血清来源,并记录采样和处理条件。其次,离心速度、离心时间、温度及过滤条件等预处理参数直接影响细胞碎片、血小板、凋亡小体和大颗粒污染物的去除效果,应建立统一流程并完整报告关键参数。在样本储存过程中,储存温度、保存时间、冻融次数和保存管类型可能影响EV完整性、聚集状态及蛋白和核酸稳定性,因而应尽量减少反复冻融并记录储存条件。并且,EV分离富集方法的选择同样会影响检测结果,不同方法在回收率、纯度和亚

群偏倚方面存在差异,需根据下游检测目标选择超速离心、SEC、超滤、免疫捕获或微流控等策略,并结合颗粒回收率、蛋白污染水平和EV标志物检测结果进行评价。对于血浆等复杂体液,还需重点关注脂蛋白、白蛋白、免疫球蛋白、蛋白复合物和游离核酸等共分离污染物,以避免其干扰EV蛋白、核酸和多组学读出。分离后的EV样本应结合粒径分布、颗粒浓度、形貌观察和标志蛋白检测等多种指标进行表征,以提高样本真实性和研究可比性。在分子检测阶段,还需控制内参选择、检测限、重复性、批间差异及阴阳性对照设置,并报告数据归一化方式、变异系数和质控结果。最后,临床队列信息、样本量、分组标准、统计方法和模型验证策略也应完整报告,以增强EV分子分析结果的可重复性、临床解释性和转化应用价值。

3.2 肿瘤早期诊断

肿瘤早期诊断场景的核心,在于如何在低肿瘤负荷和复杂背景下识别微弱但具有特异性的肿瘤相关分子异常。因此,这一应用方向尤其依赖高特异EV亚群富

集、高灵敏读出和多指标联合建模。

在EOC研究中,基于FR α^+ 、MSLN $^+$ 和TROP2 $^+$ 三种EOC相关EV亚群的内参mRNA信号建立了EOC EV SPRI Score(图6(a))^[21];在PDAC研究中,基于MUC1 $^+$ 、EGFR $^+$ 和TROP2 $^+$ 三种PDAC相关EV亚群的内参mRNA信号建立了PDAC EV Score(图6(b))^[24]。两个基于EV的肿瘤早期诊断模型均具有优异表现,在EOC队列中,训练集($n = 118$)AUROC达到0.99,独立验证集($n = 118$)AUROC达到0.93(图6(a))。在PDAC队列中,训练集($n = 124$)AUROC达到0.94,独立验证集($n = 136$)AUROC达到0.93(图6(b))。上述结果表明,通过围绕不同癌种选择合适的EV亚群和读出分子,并结合统计模型进行整合,可有效提升EV液体活检在肿瘤早期诊断中的性能与适用性。

在以血浆为代表的血液成分已被广泛用于EV检测与肿瘤早期诊断的基础上,针对不同肿瘤类型的生物学特征与发生部位,选择更具特异性的其他体液作为检测对象,正逐渐成为提升诊断灵敏性与特异性的关键策略^[54~56]。例如,由于膀胱癌与尿路直接相关,其早

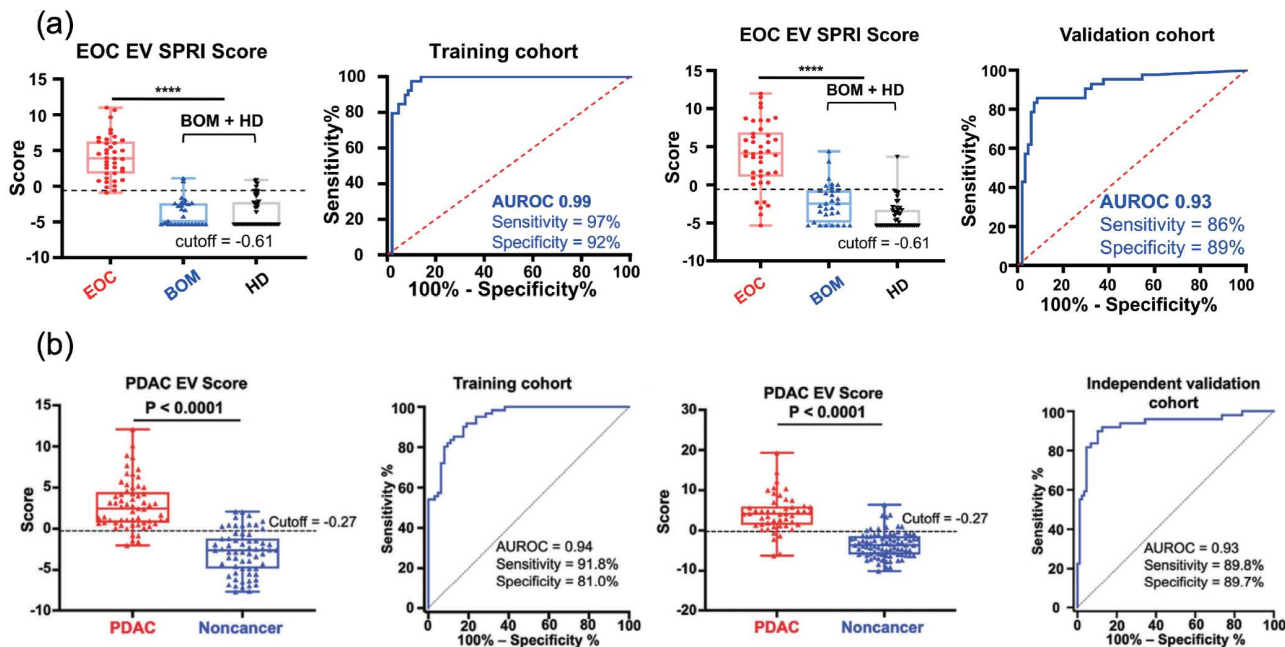


图 6 EV分子分析在肿瘤早期诊断中的应用效果。(a) EOC EV SPRI Score在训练队列中检测EOC,以及在验证队列中区分EOC与良性卵巢肿块(BOM)及健康供体(HD)对照的表现^[21]。Copyright © 2025 Elsevier。(b) PDAC EV Score在训练队列和验证队列中区分PDAC患者与非癌对照的诊断表现^[24]。Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH

Figure 6 Performance of EV molecular analysis in the early diagnosis of tumors. (a) EOC EV SPRI Score for detecting EOC in the training cohort and EOC EV SPRI Score for distinguishing EOC from BOM and HD controls in the validation cohort^[21]。Copyright © 2025 Elsevier. (b) Diagnostic performance of PDAC EV Score for distinguishing PDAC patients from noncancer controls in the training cohort and PDAC EV Score for distinguishing PDAC patients from noncancer controls in the validation cohort^[24]。Copyright © 2025 Wiley-VCH GmbH

期诊断更适合以尿液来源EVs为研究对象。有研究者报道了一种面向居家检测的膀胱癌诊断方法^[57]。该方法以膀胱癌相关生物标志物——尿液透明质酸酶为检测靶点,通过酶促反应释放负载有溶剂致变色荧光团的有机凝胶颗粒。该检测体系对膀胱癌样本的鉴别准确率约为90%。这种无需样本预处理、操作简便的检测方式,有望推动膀胱癌居家快速检测的实际应用。

3.3 疗效监测

与单次诊断不同,疗效监测更强调时间维度上的连续评估,即通过重复采样和定量检测,动态反映患者

治疗过程中肿瘤负荷、分子状态及治疗应答的变化。因此,这一应用方向更依赖可重复、可定量、可纵向比较的EV分子定量。

本团队利用发展的基于脂质标记与点击化学的EV快速捕获策略,对患者血浆EVs的EWS基因重排与KRAS突变进行检测,结果与肿瘤组织活检一致(图7(a)),证实了EV分子检测的特异性和可解释性。随后通过连续检测尤文肉瘤患者血浆EVs中的EWS/FLI-1重排转录本,并与PET/CT或CT结果进行对照,发现疾病进展较慢患者的相关信号随病程逐步升高,而快速进展患者则表现出更为迅速和显著的信号增加(图7(b)),

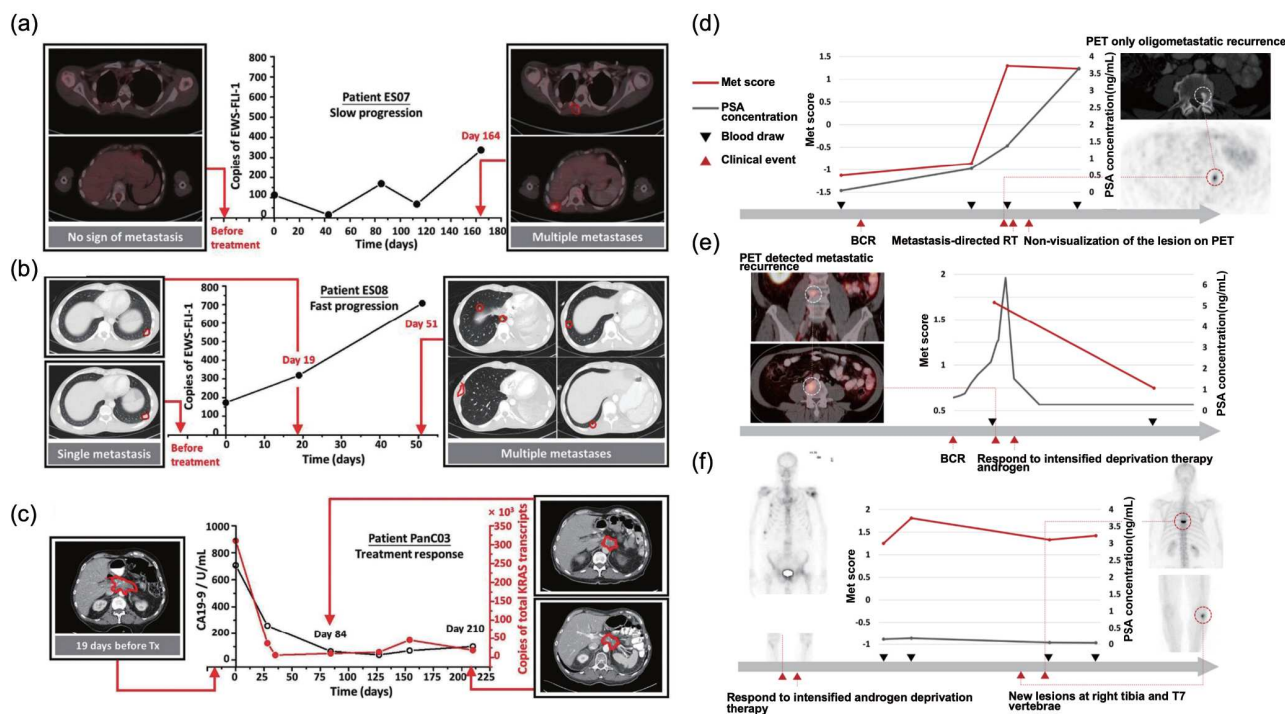


图 7 EV分子分析在肿瘤疗效监测中的应用效果。(a) 尤文肉瘤患者ES07在不同检测时间点的EWS/FLI-1 mRNA拷贝数(每1.0 mL血液)变化曲线,显示其疾病缓慢进展过程。图中同时给出了治疗前及治疗后164天获取的正电子发射断层扫描-计算机断层扫描(PET/CT)图像^[20]。(b) 尤文肉瘤患者ES08在不同检测时间点的EWS/FLI-1 mRNA拷贝数变化曲线,显示其疾病快速进展过程。图中同时给出了治疗前、治疗后19天及治疗后51天获取的CT图像^[20]。(c) 胰腺癌患者PanC03在不同检测时间点的KRAS突变转录本总拷贝数(每1.0 mL血液)和CA19-9水平(U/mL)变化曲线,反映其治疗应答情况。图中同时给出了治疗前19天、治疗后84天及治疗后210天获取的CT图像^[20]。Copyright © 2022 Wiley-VCH GmbH。(d) 接受立体定向放疗进行转移灶靶向治疗但随后未获临床获益的患者^[23]。(e) 对强化雄激素剥夺治疗表现出临床应答的患者^[23]。(f) 影像学及症状一度提示疾病进展,但后续证实为误判的患者^[23]。Copyright © 2023 Elsevier

Figure 7 Performance of EV molecular analysis in monitoring tumor treatment outcomes. (a) Plots of EWS/FLI-1 mRNA copies (per 1.0 mL blood) versus times of the assay depicting the slow disease progression of an Ewing sarcoma patient (ES07). Positron emission tomography-computed tomography (PET/CT) images taken before and 164 days after treatment^[20]. (b) A plot of copies of EWS/FLI-1 mRNA versus time depicting the fast disease progression of an Ewing sarcoma patient (ES08). CT images taken before, at 19 days, and 51 days post-treatment^[20]. (c) Plots of total KRAS mutation transcript copies (per 1.0 mL blood) and CA19-9 levels (U/mL) versus time of the assay depict the treatment response of a pancreatic cancer patient (PanC03). Computed tomography (CT) images taken 19 days before, 84 days, and 210 days after treatment^[20]. Copyright © 2022 Wiley-VCH GmbH. (d) Patient undergoing metastasis-directed therapy via stereotactic radiotherapy without subsequent benefit^[23]. (e) Patient with clinical response to intensified androgen deprivation therapy^[23]. (f) Patient with suspected progression by radiograph and symptoms later found to be erroneous^[23]. Copyright © 2023 Elsevier

提示基于EV核酸的动态定量可较好反映肿瘤负荷变化和病情演变。采用相同策略对胰腺癌患者进行随访时,血浆EVs中KRAS转录本的动态变化与配对血清CA19-9水平及CT影像结果保持一致(图7(c)),进一步说明EV核酸信号可作为治疗应答监测的重要补充指标^[20]。在转移性前列腺癌患者的治疗响应研究中,我们定量了PCa相关EV中的11种相关mRNA并通过加权Z评分计算Met score。该评分可在纵向随访中随转移复发升高(图7(d)),并在强化雄激素剥夺治疗后下降(图7(e)),较好地反映了患者临床病程变化。并且在部分病例中, Met score对疾病进展的提示早于常规影像学结果(图7(e))。值得注意的是,在另一些复杂情境下,该指标还可帮助区分真实进展与非肿瘤性影像学异常(图7(f)),从而为临床治疗决策提供更准确依据^[23]。

在临床级检测体系方面, EV分析平台正逐步从小样本方法学验证走向大队列和多中心临床评估。Han等人^[58]基于高通量纳米生物芯片系统建立了早期肺癌EV膜蛋白检测模型EVELC-M5,联合检测CD81、PD-L1、GLIPR1、LBR和SFTPA1五种EV膜蛋白,并在302例非癌对照和645例肺癌患者中验证,其在验证队列中区分早期肺癌与对照的AUC为0.926,对 ≤ 8 mm肺结节的诊断AUC为0.931。另一项研究^[59]基于EV来源lncRNA建立早发性胃癌液体活检模型,由NALT1、PTENP1和HOTTIP组成的三lncRNA特征在训练队列及两个外部验证队列中均显示出较好的诊断性能,并可识别可切除阶段早发性胃癌患者。总体来看,临床级EV检测体系仍需要进一步关注自动化、重复性、检测成本和多中心验证。

4 总结与展望

EVs作为肿瘤液体活检和精准诊疗研究的重要对象,可为肿瘤相关分子信号的获取提供稳定载体。肿瘤EVs能够在一定程度上反映肿瘤细胞的分子特征、功能状态及动态演变过程,因此围绕其开展分离富集与分子分析,对于肿瘤的早期诊断、疗效监测等具有重要意义。本文基于本团队近年来的代表性研究,系统梳理了从EV分离富集、蛋白与核酸分析到临床应用模

型构建的研究进展。

针对肿瘤相关EVs分离效率、亚群识别和分子检测等关键环节,本团队发展了多种具有代表性的技术策略。在EV分离方面,团队发展了基于微流控微纳结构界面的EV亚群捕获方法,通过硅纳米线、纳米棒、仿生硅微海葵结构及混沌混合器等设计,提高EVs与功能界面的接触概率和捕获效率。同时,进一步构建了不依赖复杂设备的Click Beads快速分离策略,实现了基于EV脂质膜通用特征或特异性表面蛋白的快速富集。在分子分析方面,将免疫PCR、RT-ddPCR等高灵敏检测技术与EV分离策略相结合,建立了面向EV表面蛋白和囊泡内核酸的多维分析体系。进一步结合机器学习方法,对不同癌种来源EVs的分子定量信息进行特征优化与整合,建立了面向具体临床问题的诊断模型,用于肿瘤早期诊断和患者病情动态监测等。

尽管如此, EV分子分析技术距离稳定、广泛的临床应用仍有一些关键问题需要解决。不同研究在样本采集、前处理方式、分离流程以及质量控制标准上仍存在差异,这在一定程度上影响了结果之间的可比性,也限制了方法的重复性和临床推广。与此同时,现有技术虽然已经能够实现总EV或部分特定EV亚群的富集与检测,但对于不同来源、不同功能状态EV亚群的进一步区分仍然不够充分,仅依赖单一蛋白或单一核酸指标,也往往难以完整反映肿瘤复杂而动态的生物学特征。基于此,今后的研究有必要进一步加强EV表面蛋白、囊泡内核酸及其他分子信息的联合分析,在多维信息整合的基础上建立更加稳定、更加具有生物学解释力的诊断和监测模型。此外,目前不少研究仍主要停留在单中心或特定队列的验证阶段,模型在更大样本和不同人群中的适用性仍需进一步评估。后续应结合跨中心、前瞻性临床研究,对其稳健性、泛化能力及真实临床场景下的表现进行系统验证。随着数据量的持续积累,机器学习和多模态分析方法也将为EV分子特征的挖掘提供新的手段,有望从复杂信号中筛选出与肿瘤发生发展、治疗应答及疾病转归密切相关的关键特征^[60,61]。我们相信,基于EV分子分析的液体活检技术将在未来肿瘤精准诊疗中发挥越来越重要的作用。

参考文献

- 1 Vos T, Lim S S, Abbafati C, et al. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*, 2020, 396: 1204–1222

- 2 Yin H, Zhang M, Zhang Y, et al. Liquid biopsies in cancer. *Mol Biomed*, 2025, 6: 18
- 3 Hamid Y, Rabbani R D, Afsara R, et al. Exosomal liquid biopsy in prostate cancer: a systematic review of biomarkers for diagnosis, prognosis, and treatment response. *Int J Mol Sci*, 2025, 26: 802
- 4 Qureshi Z, Altaf F, Khanzada M, et al. Liquid biopsies for early detection and monitoring of cancer: advances, challenges, and future directions. *Ann Med Surg*, 2025, 87: 3244–3253
- 5 Hao X, Liu Z, Ma F, et al. Exosome-based liquid biopsy in early screening and diagnosis of cancers. *Dose-Response*, 2025, 23: 15593258251344480
- 6 Wang X, Ding P, Xu W, et al. Distinct CTC specific RNA profile enables NSCLC early detection and dynamic monitoring of advanced NSCLC. *Adv Sci*, 2025, 12: e2417849
- 7 Pan Y, Wang Z, Ma J, et al. Folic acid-modified fluorescent-magnetic nanoparticles for efficient isolation and identification of circulating tumor cells in ovarian cancer. *Biosensors*, 2022, 12: 184
- 8 Sun N, Yang Y, Miao H, et al. Discovery and characterization of circulating tumor cell clusters in neuroendocrine tumor patients using nanosubstrate-embedded microchips. *Biosens Bioelectron*, 2022, 199: 113854
- 9 Ma J, Chen Y, Ren J, et al. Purification of circulating tumor cells based on multiantibody-modified magnetic nanoparticles and molecular analysis toward epithelial ovarian cancer detection. *ACS Sens*, 2023, 8: 3744–3753
- 10 Yu D, Li Y, Wang M, et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy. *Mol Cancer*, 2022, 21: 56
- 11 Li W, Li C, Zhou T, et al. Role of exosomal proteins in cancer diagnosis. *Mol Cancer*, 2017, 16: 145
- 12 Zhao Z, Fan J, Hsu Y M S, et al. Extracellular vesicles as cancer liquid biopsies: from discovery, validation, to clinical application. *Lab Chip*, 2019, 19: 1114–1140
- 13 Jia Y, Yu L, Ma T, et al. Small extracellular vesicles isolation and separation: current techniques, pending questions and clinical applications. *Theranostics*, 2022, 12: 6548–6575
- 14 McNamara R P, Dittmer D P. Modern techniques for the isolation of extracellular vesicles and viruses. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2020, 15: 459–472
- 15 Hallal S, Tüzesi &, Grau G E, et al. Understanding the extracellular vesicle surface for clinical molecular biology. *J Extracell Vesicle*, 2022, 11: e12260
- 16 Kreimer S, Belov A M, Ghiran I, et al. Mass-spectrometry-based molecular characterization of extracellular vesicles: lipidomics and proteomics. *J Proteome Res*, 2015, 14: 2367–2384
- 17 Ciferri M C, Quarto R, Tasso R. Extracellular vesicles as biomarkers and therapeutic tools: from pre-clinical to clinical applications. *Biology*, 2021, 10: 359
- 18 Xu R, Greening D W, Zhu H J, et al. Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application. *J Clin Invest*, 2016, 126: 1152–1162
- 19 Wiklander O P B, Brennan M, Lötvall J, et al. Advances in therapeutic applications of extracellular vesicles. *Sci Transl Med*, 2019, 11: eaav8521
- 20 Sun N, Tran B V, Peng Z, et al. Coupling lipid labeling and click chemistry enables isolation of extracellular vesicles for noninvasive detection of oncogenic gene alterations. *Adv Sci*, 2022, 9: 2105853
- 21 Yen Y T, Zhao C, Gao T, et al. Tumour extracellular vesicle surface Protein-mRNA integration assay for early detection of epithelial ovarian cancer. *eBioMedicine*, 2025, 119: 105884
- 22 Sun N, Zhang C, Lee Y T, et al. HCC EV ECG score: an extracellular vesicle-based protein assay for detection of early-stage hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2023, 77: 774–788
- 23 Wang J J, Sun N, Lee Y T, et al. Prostate cancer extracellular vesicle digital scoring assay – a rapid noninvasive approach for quantification of disease-relevant mRNAs. *Nano Today*, 2023, 48: 101746
- 24 Zhao C, Wang Z, Kim H, et al. Identification of tumor-specific surface proteins enables quantification of extracellular vesicle subtypes for early detection of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Adv Sci*, 2025, 12: 2414982
- 25 Brezgin S, Parodi A, Kostyusheva A, et al. Technological aspects of manufacturing and analytical control of biological nanoparticles. *Biotechnol Adv*, 2023, 64: 108122
- 26 Iwai K, Minamisawa T, Suga K, et al. Isolation of human salivary extracellular vesicles by iodixanol density gradient ultracentrifugation and their characterizations. *J Extracell Vesicle*, 2016, 5: 30829
- 27 Guo J, Wu C, Lin X, et al. Establishment of a simplified dichotomic size-exclusion chromatography for isolating extracellular vesicles toward clinical applications. *J Extracell Vesicle*, 2021, 10: e12145
- 28 Vergauwen G, Dhondt B, Van Deun J, et al. Confounding factors of ultrafiltration and protein analysis in extracellular vesicle research. *Sci Rep*, 2017, 7: 2704
- 29 Karttunen J, Heiskanen M, Navarro-Ferrandis V, et al. Precipitation-based extracellular vesicle isolation from rat plasma co-precipitate vesicle-free

- microRNAs. *J Extracell Vesicle*, 2019, 8: 1555410
- 30 Guan S, Yu H, Yan G, et al. Characterization of urinary exosomes purified with size exclusion chromatography and ultracentrifugation. *J Proteome Res*, 2020, 19: 2217–2225
 - 31 Liga A, Vliegenthart A D B, Oosthuyzen W, et al. Exosome isolation: a microfluidic road-map. *Lab Chip*, 2015, 15: 2388–2394
 - 32 Sun N, Lee Y T, Zhang R Y, et al. Purification of HCC-specific extracellular vesicles on nanosubstrates for early HCC detection by digital scoring. *Nat Commun*, 2020, 11: 4489
 - 33 Kang H, Li C, Liu W, et al. Si nanorod array integrated microfluidic device for enhanced extracellular vesicle isolation. *Adv Mater Technologies*, 2025, 10: 2400294
 - 34 Kang H, Qiu L, Li Y, et al. Si microanemones integrated microfluidic chip for highly efficient isolation of extracellular vesicles. *Adv Healthcare Mater*, 2025, 14: 2500439
 - 35 Woo H K, Kim C, Choi Y, et al. Automated disc device for multiplexed extracellular vesicle isolation and labelling from liquid biopsies in cancer diagnostics. *Nat Biomed Eng*, 2026, 10: 882–896
 - 36 Ren Y, Ge K, Sun D, et al. Rapid enrichment and sensitive detection of extracellular vesicles through measuring the phospholipids and transmembrane protein in a microfluidic chip. *Biosens Bioelectron*, 2022, 199: 113870
 - 37 Qiu J, Guo Q, Chu Y, et al. Efficient EVs separation and detection by an alumina-nanochannel-array-membrane integrated microfluidic chip and an antibody barcode biochip. *Anal Chim Acta*, 2024, 1304: 342576
 - 38 Kim J, Kang M, Han G, et al. Meso-macroporous hydrogel for direct litre-scale isolation of extracellular vesicles. *Nat Nanotechnol*, 2025, 20: 1678–1687
 - 39 Roberts-Dalton H D, Cocks A, Falcon-Perez J M, et al. Fluorescence labelling of extracellular vesicles using a novel thiol-based strategy for quantitative analysis of cellular delivery and intracellular traffic. *Nanoscale*, 2017, 9: 13693–13706
 - 40 Cheng S, Li Y, Yan H, et al. Advances in microfluidic extracellular vesicle analysis for cancer diagnostics. *Lab Chip*, 2021, 21: 3219–3243
 - 41 Pham C V, Chowdhury R, Patel S, et al. An aptamer-guided fluorescence polarisation platform for extracellular vesicle liquid biopsy. *J Extracell Vesicle*, 2024, 13: e12502
 - 42 Pan L, Yuan C, Ma X, et al. DNA encoded multi-round profiling of extracellular vesicle membrane proteins for cancer diagnostics. *Biosens Bioelectron*, 2026, 291: 118055
 - 43 Luo G, Song J, Fu Y, et al. SPARK-seq: a high-throughput platform for aptamer discovery and kinetic profiling. *Science*, 2026, 391: eadv6127
 - 44 Gandham S, Su X, Wood J, et al. Technologies and standardization in research on extracellular vesicles. *Trends Biotechnol*, 2020, 38: 1066–1098
 - 45 Mateescu B, Kowal E J K, van Balkom B W M, et al. Obstacles and opportunities in the functional analysis of extracellular vesicle RNA – an ISEV position paper. *J Extracell Vesicle*, 2017, 6: 1286095
 - 46 Jaluria P, Konstantopoulos K, Betenbaugh M, et al. A perspective on microarrays: current applications, pitfalls, and potential uses. *Microb Cell Fact*, 2007, 6: 4
 - 47 Olmedillas-López S, García-Arranz M, García-Olmo D J M D, et al. Current and emerging applications of droplet digital PCR in oncology. *Mol Diagn Ther*, 2017, 21: 493–510
 - 48 Yan H, Wen Y, Tian Z, et al. A one-pot isothermal Cas12-based assay for the sensitive detection of microRNAs. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7: 1583–1601
 - 49 Xie G Y, Song D, Luo T, et al. EVmiRNA2.0: an updated database for miRNA expression in comprehensive human extracellular vesicles. *Nucleic Acids Res*, 2026, 54: D128–D134
 - 50 Ma J Y, Wang X, Cai Y, et al. Anionic liposomes as optimal membrane fusion carriers enabling *in situ* multiplexed detection of extracellular vesicle microRNAs. *Adv Sci*, 2026, 13: e19758
 - 51 Wu J, Dou Q, Mao M, et al. Single extracellular vesicle imaging via rolling circle amplification–expansion microscopy. *Nat Commun*, 2025, 16: 7498
 - 52 Ansermino C, Pavlovic R, Braccia C, et al. Unlocking the power of extracellular vesicles: multi-omics integration for cancer biomarker discovery. *Biomark Res*, 2026, 14: 13
 - 53 Greening D W, Xu R, Rai A, et al. Clinical relevance of extracellular vesicles in cancer — therapeutic and diagnostic potential. *Nat Rev Clin Oncol*, 2025, 22: 924–952
 - 54 Zhang Z, Liu X, Peng C, et al. Machine learning-aided identification of fecal extracellular vesicle microRNA signatures for noninvasive detection of colorectal cancer. *ACS Nano*, 2025, 19: 10013–10025
 - 55 Li K, Lin Y, Luo Y, et al. A signature of saliva-derived exosomal small RNAs as predicting biomarker for esophageal carcinoma: a multicenter prospective study. *Mol Cancer*, 2022, 21: 21
 - 56 Huang L, Li M, Liu W, et al. Noninvasive, rapid, and precise identification of esophageal cancer via salivary extracellular vesicle-based diagnosis. *ACS Nano*, 2026, 20: 11019–11031

- 57 Keum C, Yeom H, Noh T I, et al. Diagnosis of early-stage bladder cancer via unprocessed urine samples at the point of care. *Nat Biomed Eng*, 2025, 9: 1026–1038
- 58 Han L, Song Y, Tong L, et al. Extracellular vesicle protein panel enables early lung cancer detection in a large clinical cohort. *J Extracell Vesicle*, 2025, 14: e70129
- 59 Guo X, Wang W, Cheng X, et al. Diagnostic efficacy of an extracellular vesicle-derived lncRNA-based liquid biopsy signature for the early detection of early-onset gastric cancer. *Gut*, 2025, 74: 1209–1218
- 60 Zhang S, Yang H, Zhao Y, et al. Research progress on the nanodrug mediated regulation of tumor fibroblast-like cells for tumor therapy (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2023, 68: 4373–4382 [张淑慧, 阳卉茹, 赵颖, 等. 基于纳米药物调控肿瘤成纤维样细胞用于肿瘤治疗的研究进展. 科学通报, 2023, 68: 4373–4382]
- 61 Du Y B, Zhu C X, Chen Y M. Polymers inhibit inflammation and tumor metastasis caused by extracellular nucleic acids (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2024, 69: 2883–2897 [杜逸博, 朱晨旭, 陈永明. 聚合物材料抑制由胞外核酸引起的炎症和肿瘤转移. 科学通报, 2024, 69: 2883–2897]

Summary for “肿瘤细胞外囊泡分子分析在肿瘤精准诊疗的研究进展”

Research progress on tumor precise diagnosis and treatment by molecular analysis of tumor extracellular vesicles

Lei Qiu^{1,2†}, Beiyin Huang^{1,3†}, Wenjuan Xu^{1,4}, Renjun Pei^{1,2} & Na Sun^{1,2*}

¹ Jiangsu Key Laboratory of Organoid Engineering and Precision Medicine, Suzhou Institute of Nano-Tech and Nano-Bionics, Chinese Academy of Sciences, Suzhou 215123, China

² School of Nano-Tech and Nano-Bionics, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China

³ Department of Chemistry, College of Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China

⁴ Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China

† Equally contributed to this work

* Corresponding author, E-mail: nsun2013@sinano.ac.cn

Extracellular vesicles (EVs) are lipid bilayer-enclosed nanoscale particles released by almost all cell types into the extracellular environment. By carrying proteins, nucleic acids, lipids, metabolites and other bioactive molecules from their parental cells, EVs mediate intercellular communication and reflect the molecular status of their cells of origin. Tumor-derived EVs are involved in tumor initiation, progression, invasion, metastasis, immune regulation and remodeling of the tumor microenvironment. Owing to their stability in peripheral blood and other body fluids, tumor EVs have emerged as promising biomarkers for liquid biopsy and precision oncology. Molecular analysis of tumor EVs provides new opportunities for non-invasive cancer diagnosis, therapeutic response monitoring, prognosis assessment and dynamic disease management.

Despite this potential, the clinical application of EV-based liquid biopsy remains challenging. Tumor-derived EVs are usually present at low abundance in complex biofluids, where they coexist with abundant non-tumor EVs, lipoproteins, soluble proteins, nucleic acid-protein complexes and other background components. In addition, EVs are highly heterogeneous in size, biogenesis, molecular composition and cellular origin, making it difficult to capture tumor-specific signals using conventional bulk analysis. Therefore, efficient EV isolation, enrichment of tumor-associated EV subpopulations, sensitive molecular detection and standardized quality control are essential for improving the analytical performance and clinical reliability of EV-based assays. In recent years, our group has investigated key technologies for tumor EV molecular analysis, focusing on EV separation and purification, surface protein profiling, nucleic acid biomarker detection and clinical application in cancer diagnosis and monitoring. We developed affinity-based and micro/nano-engineered strategies to enrich tumor-associated EVs from complex clinical samples and established sensitive assays for detecting EV surface proteins and intravesicular nucleic acids. By integrating EV protein and nucleic acid information with statistical modeling and machine learning, we further constructed diagnostic and monitoring models for different tumor types. These studies demonstrate that EV molecular signatures can be transformed into quantitative and interpretable clinical indicators, supporting early cancer detection, treatment response evaluation and prognosis prediction.

This review summarizes recent advances in molecular analysis of tumor EVs, with emphasis on representative studies from our group and related progress in the field. We first discuss major strategies for EV isolation and purification, followed by analytical approaches for EV surface proteins and nucleic acids. We then describe the application of EV molecular analysis in cancer precision medicine, particularly early diagnosis and therapeutic monitoring. In addition, we compare emerging platforms such as single-EV analysis, multi-omics profiling and clinically oriented EV detection systems, and discuss their advantages, limitations and translational challenges. Finally, we highlight the importance of standardized workflows, quality control, biomarker integration and multicenter clinical validation. Continued development of clinically compatible EV molecular analysis technologies is expected to promote the translation of EV liquid biopsy into practical tools for precision cancer diagnosis and management.

extracellular vesicles, isolation and purification, molecular analysis, early cancer diagnosis, treatment monitoring

doi: [10.1360/CSB-2026-0632](https://doi.org/10.1360/CSB-2026-0632)