(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116731958 A
(43)申请公布日 2023.09.12

(21)申请号 202310711769.3

(22)申请日 2015.10.08

(30)优先权数据
62/062,046 2014.10.09 US

(62)分案原申请数据
201580054280.7 2015.10.08

(71)申请人 细胞结构公司
地址 美国新泽西州

(72)发明人 埃里克·劳 安德鲁·莫绍泽尔
亚历山大·弗兰茨基
詹妮弗·帕雷德斯
凯西·E·卡拉斯威茨-门德斯
艾伦·雷杜塔
弗拉基米尔·扬科维奇
伊凡娜·杜雷蒂克

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平 袁泉

(51)Int.Cl.
C12N 5/073(2010.01)
C12N 5/0775(2010.01)
A61K 35/50(2015.01)
A61K 35/28(2015.01)
A61K 31/7105(2006.01)
A61P 17/02(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)

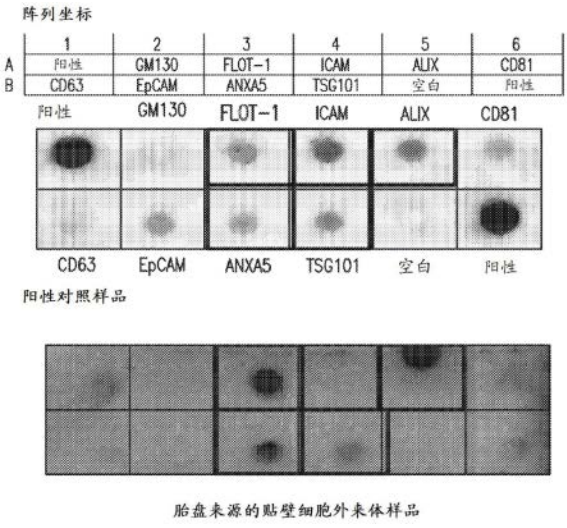
权利要求书2页 说明书45页 附图23页

(54)发明名称

胎盘来源的贴壁细胞外泌体及其用途

(57)摘要

本文提供了胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物及其制备和使用方法。一方面，本文提供了包含由胎盘细胞生成和/或源自胎盘细胞，例如胎盘来源的贴壁细胞的外泌体的组合物。在某些实施方案中，本文提供的所述外泌体由已经体外培养，例如1、2、3、4、5、6代或更多代的胎盘来源的贴壁细胞生成。



CN 116731958 A

1.一种包含源自人胎盘来源的贴壁细胞的外泌体的组合物，其中所述外泌体为$CD9^+$、$CD10^+$、$CD13^+$、$CD29^+$、$CD44^+$、$CD49b^+$、$CD49c^+$、$CD55^+$、$CD59^+$、$CD63^+$、$CD73^+$、$CD81^+$、$CD82^+$、$CD90^+$、$CD98^+$、$CD105^+$、$CD141^+$、$CD142^+$、$CD151^+$、$CD164^+$、$CD295^+$或$CD200^+$。

2.根据权利要求1所述的组合物，其中所述外泌体为$CD9^+$、$CD10^+$、$CD13^+$、$CD29^+$、$CD44^+$、$CD49b^+$、$CD49c^+$、$CD55^+$、$CD59^+$、$CD63^+$、$CD73^+$、$CD81^+$、$CD82^+$、$CD90^+$、$CD98^+$、$CD105^+$、$CD141^+$、$CD142^+$、$CD151^+$、$CD164^+$、$CD295^+$和$CD200^+$。

3.根据权利要求1或2所述的组合物，其中所述外泌体为CD3-、CD11b-、CD14-、CD19-、CD33-、CD192-、HLA-A-、HLA-B-、HLA-C-、HLA-DR-、CD11c-或CD34-。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的组合物，其中所述外泌体为CD3-、CD11b-、CD14-、CD19-、CD33-、CD192-、HLA-A-、HLA-B-、HLA-C-、HLA-DR-、CD11c-和CD34-。

5.根据权利要求1-4中任一项所述的组合物，其中所述外泌体包含非编码RNA分子。

6.根据权利要求5所述的组合物，其中所述RNA分子为微RNA。

7.根据权利要求6所述的组合物，其中所述微RNA为miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p或let-7d-3p。

8.根据权利要求1-7中任一项所述的组合物，其中所述外泌体包含水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少两倍的至少一种标志分子。

9.根据权利要求1-8中任一项所述的组合物，其中所述胎盘来源的贴壁细胞已经传代多于3次。

10.根据权利要求1-9中任一项所述的组合物，其中所述胎盘来源的贴壁细胞已经在培养物中保持大于24小时。

11.根据权利要求1-10中任一项所述的组合物，其中至少90％的所述胎盘来源的贴壁细胞是非母体来源的。

12.根据权利要求1-11中任一项所述的组合物，其中至少99％的所述胎盘来源的贴壁细胞是非母体来源的。

13.根据权利要求1-12中任一项所述的组合物，其呈适于静脉内施用的形式。

14.一种所述对象中血管生成或血管化的方法，其包括向所述对象施用根据权利要求1-13中任一项所述的组合物。

15.一种调节所述对象的免疫系统的方法，其包括向所述对象施用根据权利要求1-13中任一项所述的组合物。

16.一种修复对象中的患病或受损组织的方法，其包括向所述对象施用根据权利要求1-13中任一项所述的组合物。

17.根据权利要求14-16中任一项所述的方法，其中所述对象为人。

18.一种包含源自人胎盘来源的贴壁细胞的外泌体的组合物，其中所述外泌体为$CD10^+$和$CD55^+$。

19.一种使胎盘来源的贴壁细胞外泌体负载外源剂的方法，其包括孵育胎盘来源的贴壁细胞外泌体和外源剂，使得所述外源剂负载在所述外泌体中。

20.根据权利要求19所述的方法，其中所述孵育在室温下进行。

21.根据权利要求19或20所述的方法，其包括皂角苷透化步骤。

22.根据权利要求19或20所述的方法,其不包括皂角苷透化步骤。

23.根据权利要求19或20所述的方法,其包括一个或多个冻/融循环。

24.根据权利要求19或20所述的方法,其包括超声处理步骤。

25.根据权利要求19或20所述的方法,其包括挤压步骤。

26.一种向个体施用包含外源剂的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的方法。

27.根据权利要求26所述的方法,其中所述外源剂包含人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。

28.根据权利要求26所述的方法,其中所述外源剂包含一种或多种基因修饰组分。

29.根据权利要求28所述的方法,其中所述基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。

30.根据权利要求29所述的方法,其中所述CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。

31.一种组合物,其包含含有一种或多种外源剂的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。

32.根据权利要求31所述的组合物,其中所述外源剂包含人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。

33.根据权利要求31所述的组合物,其中所述外源剂包含一种或多种基因修饰组分。

34.根据权利要求33所述的组合物,其中所述基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。

35.根据权利要求34所述的组合物,其中所述CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。

36.一种将外源剂递送至靶细胞的方法,其中将所述外源剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。

37.根据权利要求36所述的方法,其中所述靶细胞是不同于从中获得所述外泌体的细胞类型的细胞。

38.根据权利要求36或37所述的方法,其中所述外源剂包含人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。

39.根据权利要求36或37所述的方法,其中所述外源剂包含一种或多种基因修饰组分。

40.根据权利要求38所述的方法,其中所述基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。

41.根据权利要求39所述的方法,其中所述CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。

胎盘来源的贴壁细胞外泌体及其用途

[0001] 本申请是申请日为2015年10月8日、申请号为201580054280.7、发明名称为“胎盘来源的贴壁细胞外泌体及其用途”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 本申请要求保护2014年10月9日提交的美国临时专利申请第62/062,046号的权益,其公开内容通过引用整体并入本文。

[0003] 领域

[0004] 本文的公开内容涉及胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物及其制备和使用方法。

[0005] 背景

[0006] 外泌体(exosome)是源自活细胞的小的非细胞体。一般来说,外泌体的直径为50-150纳米(nm)并且由源自多泡体的磷脂双层或真核细胞的质膜组成。外泌体在形状上可为圆形,但也可以是使用电子显微镜和其它成像技术在视觉上可鉴定的“杯形”体。外泌体不含完整细胞核或必需细胞组分来支持细胞的代谢和/或分子功能,但外泌体可含蛋白质、核酸和其它分子,或可装饰有可有助于其检测和分离的表面蛋白。外泌体的含量可以反映它们所来源的细胞类型并且可以由反映源细胞的功能状态的分子标志物组成。外泌体有望作为研究工具和治疗方式,但是在本领域中需要新的和有用的外泌体。

[0007] 概述

[0008] 一方面,本文提供了包含由胎盘细胞生成和/或源自胎盘细胞,例如胎盘来源的贴壁细胞的外泌体的组合物。在某些实施方案中,本文提供的外泌体由已经体外培养,例如1、2、3、4、5、6代或更多代的胎盘来源的贴壁细胞生成。在某些实施方案中,本文提供的外泌体从已经体外培养1代的胎盘来源的贴壁细胞收集。在其它某些实施方案中,本文提供的外泌体从已经体外培养2代的胎盘来源的贴壁细胞收集。在其它某些实施方案中,本文提供的外泌体从已经体外培养3代的胎盘来源的贴壁细胞收集。在其它某些实施方案中,本文提供的外泌体从已经体外培养4代的胎盘来源的贴壁细胞收集。在其它某些实施方案中,本文提供的外泌体从已经体外培养5代的胎盘来源的贴壁细胞收集。在一个具体实施方案中,本文提供的外泌体从已经体外培养6代的胎盘来源的贴壁细胞收集。在其它某些实施方案中,本文提供的外泌体从已经体外培养多于6代的胎盘来源的贴壁细胞收集。在某些实施方案中,本文提供的外泌体从第6代平板接种的胎盘来源的贴壁细胞收集,并且从第7代的培养上清液收集(例如,收获)。

[0009] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含特定标志物。此类标志物可以,例如,用于外泌体的鉴定和将其与其它外泌体,例如非源自胎盘来源的贴壁细胞的外泌体区别开。参见5.1.1部分。在某些实施方案中,本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含以下中的一种、两种、三种、四种或更多种:CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和/或CD200,即例如通过流式细胞术,例如荧光活化细胞分选术(FACS)所测定,此类外泌体是$CD9^{+}$、$CD10^{+}$、$CD13^{+}$、$CD29^{+}$、$CD44^{+}$、$CD49b^{+}$、$CD49c^{+}$、$CD55^{+}$、$CD59^{+}$、$CD63^{+}$、$CD73^{+}$、$CD81^{+}$、$CD82^{+}$、$CD90^{+}$、$CD98^{+}$、$CD105^{+}$、$CD141^{+}$、$CD142^{+}$、$CD151^{+}$、$CD164^{+}$、$CD295^{+}$和/或$CD200^{+}$中的一种或多种。另外,可基于某些标志物的不存在来鉴定本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在某些实施方案

中，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体缺乏以下标志物中的一种、两种、三种、四种或更多种：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和/或CD34，即例如通过流式细胞术，例如通过FACS所测定，此类外泌体是$CD3^-$、$CD11b^-$、$CD14^-$、$CD19^-$、$CD33^-$、$CD192^-$、$HLA\text{-}A^-$、$HLA\text{-}B^-$、$HLA\text{-}C^-$、$HLA\text{-}DR^-$、$CD11c^-$和/或$CD34^-$中的一种或多种。确定此类标志物存在或不存在可以使用本领域已知的方法，例如荧光活化细胞分选术(FACS)完成。

[0010] 在一个具体实施方案中，例如通过流式细胞术，例如通过FACS所测定，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD55^+$和$CD10^+$。

[0011] 在具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD10^+$和$CD55^+$(通过例如FACS所测定)并且另外含有水平高于绒膜绒毛间充质干细胞外泌体或前脂肪细胞间充质干细胞外泌体(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的CD82、CD142、CD49c和CD90。

[0012] 在另一个实施方案中，例如通过流式细胞术，例如通过FACS所测定，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD16、CD24、CD25、CD26、CD27、CD32、CD35、CD37、CD39、CD45、CD46、CD54、CD56、CD61、CD74、CD86、CD88、CD91、CD99、CD103、CD108、CD112、CD117、CD119、CD120a、CD123、CD126、CD130、CD134、CD138、CD140a、CD140b、CD144、CD146、CD147、CD152、CD163、CD183、CD184、CD186、CD191、CD194、CD196、CDw198、CD202b、CD220、CD221、CD235a、CD252、CD266、CD271、CD273、CD274、CD318、CD326、CD333、CD334、HLA-DP、HLA-DQ、HLA-G、IgD、IgM、NG2、PDGF和/或SSEA-3。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD4。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD5。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD6。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD7。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD8。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD16。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD24。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD25。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD26。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD27。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD32。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD35。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD37。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD39。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD45。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD46。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD54。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD56。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD61。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD74。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD86。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD88。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD91。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD99。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的

CD103。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD108。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD112。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD117。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD119。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD120a。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD123。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD126。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD130。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD134。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD138。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD140a。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD140b。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD144。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD146。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD147。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD152。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD163。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD183。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD184。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD186。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD191。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD194。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD196。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CDw198。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD202b。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD220。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD221。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD235a。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD252。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD266。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD271。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD273。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD274。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD318。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD326。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD333。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD334。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的HLA-DP。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的HLA-DQ。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的HLA-G。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的IgD。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的IgM。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的NG2。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的PDGF。在某些实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的SSEA-3。

[0013] 在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD82^+$并且例如通

过流式细胞术,例如通过FACS所测定,含有低水平的CD141(即,为CD141(低))。

[0014] 在某些实施方案中,通过例如FACS所测定,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比同等数量或同等质量的源自绒膜绒毛间充质干细胞或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体中存在的标志物的水平高至少两倍的一种或多种标志物。在一个具体实施方案中,例如通过流式细胞术,例如通过FACS所测定,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平分别比源自绒膜绒毛间充质干细胞或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体中存在的每种标志物的水平高至少两倍的CD49c、CD142、CD90和/或CD82。

[0015] 在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比非胎盘来源的贴壁细胞外泌体中所述标志物的量更高的量的CD49c、CD82、CD90和/或CD142。在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体中存在的所述标志物的量更高的量的CD49c、CD82、CD90和/或CD142。在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比源自前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体中存在的所述标志物的量更高的量的CD49c、CD73、CD82、CD90和/或CD142。

[0016] 在某些实施方案中,通过例如FACS所测定,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比同等数量或同等质量的源自绒膜绒毛间充质干细胞或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体中存在的标志物的水平低至少两倍的一种或多种标志物。

[0017] 在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比非胎盘来源的贴壁细胞外泌体中所述标志物的量更低的量的CD164。在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比源自前脂肪细胞间充质干细胞或绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体中存在的所述标志物的量更低的量的CD164。

[0018] 在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含一种或多种核酸。在一个实施方案中,所述核酸为非编码RNA。在另一个实施方案中,所述非编码RNA为微RNA(miRNA)。在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含一种或多种选自以下的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-218-5p的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-133b的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-422a的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-564、miR-16-5p的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为let-7a的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-92的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-142-3p的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-451的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-124-5p的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-223-3p的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-630的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为miR-296-5p的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为let-7b-3p的miRNA。在某一实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含为let-7d-3p的miRNA。在另

一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miRNA miR-218-5p、miR-133b、miR-422a和/或miR-564中的一种或多种。在另一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miRNA miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-296-5p和/或miR-Let-7d*/Let-7d-3p中的一种或多种。在另一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miRNA miR-591、miR-218-5p、miR-133b、miR-422a和/或miR-564中的一种或多种。在另一个具体实施方案中，所述一种或多种miRNA以比绒膜绒毛间充质干细胞中存在的相应miRNA的水平高至少两倍的水平存在。在其它具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体，当对于特定miRNA进行RT-PCR并与对照RNA(例如，RNU44)比较时，所含水平比绒膜绒毛间充质干细胞外泌体中相同的miRNA高1.1、2、5、10、100、500、600、700、800、900、1000、1100或1200倍，或比绒膜绒毛间充质干细胞外泌体中相同的miRNA高1.1至2、2至5、2至10、5至10、10至100、100至500、500至600、600至700、700至800、800至900、900至1000、1000至1100或1100至1200倍之间。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少1.1倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少2倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少5倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少10倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少100倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少500倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少600倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少700倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少800倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少900倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少1000倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少1100倍的标志物。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含至少一种水平比源自间充质干细胞的外泌体高至少1200倍的标志物。

[0019] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有一种或多种选自以下的血管生成蛋白：内皮糖蛋白(Endoglin)、瘦素(Leptin)、血管生成素-2(Angiopoietin-2)、G-CSF、卵泡抑素(Follistatin)、FGF-2、HGF、VEGF-A、IL-8和/或EGF。

[0020] 本文还提供了包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的外泌体群体。在一个具体实施方案中，本文提供的外泌体群体相对于胎盘来源的贴壁细胞外泌体的内容物是纯的或基本上纯的，例如，外泌体群体包含约90％、95％、98％、99％或100％胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在另一个具体实施方案中，本文提供的外泌体群体包含本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体和一种或多种其它类型的外泌体，例如源自不同于胎盘来源的贴壁细胞的细胞的外泌体。

[0021] 在一个具体实施方案中，本文提供了胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体，其中通过

例如FACS所测定，所述群体中约75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％的外泌体为$CD9^+$、$CD10^+$、$CD13^+$、$CD29^+$、$CD44^+$、$CD49b^+$、$CD49c^+$、$CD55^+$、$CD59^+$、$CD63^+$、$CD73^+$、$CD81^+$、$CD82^+$、$CD90^+$、$CD98^+$、$CD105^+$、$CD141^+$、$CD142^+$、$CD151^+$、$CD164^+$、$CD295^+$和/或$CD200^+$中的一种或多种。

[0022] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体可通过本领域中已知适于分离外泌体的任何方法分离。参见5.2部分。例如，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体可通过离心(例如，密度依赖性超速离心)、聚合物共沉淀(例如，System Biosciences生产的ExoQuick-TC外泌体沉淀试剂)、过滤(例如，高效液相色谱法和凝胶过滤色谱法)、抗体捕获或荧光活化细胞分选术(FACS)来分离。在某些实施方案中，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的分离和纯化产生基本上纯的胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体，例如通过与本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体相关的一种或多种标志物(例如，表面标志物和/或miRNA)的存在所测定，纯度为至少99％、98％、97％、96％、95％、94％、93％、92％、91％或90％的胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少99％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少98％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少97％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少96％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少95％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少94％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少93％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少92％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少91％。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体纯度为至少90％。

[0023] 本文还提供了包含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物。此类组合物通常不包含胎盘来源的贴壁细胞外泌体已源自其中的胎盘细胞。而且，此类组合物通常不包含来自胎盘来源的贴壁细胞外泌体已源自其中的细胞培养物的细胞培养物上清液。

[0024] 在某些实施方案中，将纯化的胎盘来源的贴壁细胞外泌体配制成适于向有需要的对象施用的药物组合物。在某些实施方案中，所述对象为人。本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物可以配制成向有需要的对象局部、全身性皮下、肠胃外、静脉内、肌肉内、局部性、口服、皮内、经皮或鼻内施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于局部施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于全身性皮下施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于肠胃外施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于肌肉内施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于局部性施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于口服施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于皮内施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于经皮施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于鼻内施用。在某一实施方案中，本文提供的含胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物经配制用于静脉内施用。

[0025] 在一个具体实施方案中，本文提供的外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞为$CD34^-$、$CD10^+$、$CD105^+$和$CD200^+$。在另一个实施方案中，本文提供的外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞以比骨髓来源的间充质干细胞高至少两倍的水平衍生表达一个或多个基因，其中所述一个或多个基因是以下的一种或多种：ACTG2、ADARB1、AMIGO2、ARTS-1、B4GALT6、BCHE、C11orf9、CD200、COL4A1、COL4A2、CPA4、DMD、DSC3、DSG2、ELOVL2、F2RL1、FIJ10781、GATA6、GPR126、GPRC5B、HLA-G、ICAM1、IER3、IGFBP7、IL1A、IL6、IL18、KRT18、KRT8、LIPG、LRAP、MATN2、MEST、NFE2L3、NUAK1、PCDH7、PDLIM3、PJP2、RTN1、SERPINB9、ST3GAL6、ST6GALNAC5、SLC12A8、TCF21、TGFB2、VTN和/或ZC3H12A。在另一个实施方案中，本文提供的外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞以比骨髓来源的间充质干细胞高至少两倍的水平衍生表达一个或多个基因，其中所述一个或多个基因是LOVL2、ST3GAL6、ST6GALNAC5和/或SLC12A8中的一个或多个。在另一个实施方案中，本文提供的外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞以比骨髓来源的间充质干细胞高至少两倍的水平衍生表达一个或多个基因，其中所述一个或多个基因是CPA4、TCF21、VTN、B4GALT6、FLJ10781和/或NUAK1中的一个或多个。

[0026] 在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体分离自含血清(例如，胎牛血清)的胎盘来源的贴壁细胞培养物。在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体分离自缺乏血清的胎盘来源的贴壁细胞培养物。

[0027] 在某些实施方案中，从中分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的胎盘来源的贴壁细胞在分离所述外泌体之前已经传代至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18或20次或更多次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少1次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少2次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少3次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少4次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少5次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少6次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少7次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少8次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少9次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少10次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少12次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少14次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少16次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少18次。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经传代至少20次。在某些实施方案中，从中分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的胎盘来源的贴壁细胞在分离所述外泌体之前已经扩增1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38或40次群体倍增或更多。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行1次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行2次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行3次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行4次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行5次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行6次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行7次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行8次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行9次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行10次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘

来源的贴壁细胞已经扩增以进行12次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行14次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行16次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行18次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行20次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行22次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行24次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行26次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行28次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行30次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行32次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行34次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行36次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行38次群体倍增。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行40次群体倍增。

[0028] 在某些实施方案中，从中分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的胎盘来源的贴壁细胞至少80％、至少90％、至少95％、至少99％或100％是胎儿来源的。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞至少80％是胎儿来源的。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞至少90％是胎儿来源的。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞至少95％是胎儿来源的。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞至少99％是胎儿来源的。在某一实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞至少100％是胎儿来源的。

[0029] 另一方面，本文提供了胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物的用途。参见5.4部分。

[0030] 在一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于治疗和/或预防有需要的对象中的疾病和/或病状。在一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于促进有需要的对象中的血管生成和/或血管化。在另一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于调节有需要的对象的免疫活性(例如，增加免疫反应或减少免疫反应)。在另一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于修复有需要的对象中的组织损伤，例如由急性或慢性损害引起的组织损伤。

[0031] 在另一个具体实施方案中，来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于治疗和/或预防有需要的对象中的疾病和/或病状的方法中。在另一个实施方案中，包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于治疗有需要的对象中的疾病和/或病状的方法中。在另一个实施方案中，包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于预防有需要的对象中的疾病和/或病状的方法中。在一个具体实施方案中，包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于促进有需要的对象中的血管生成和/或血管化的方法中。在另一个具体实施方案中，包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于调节有需要的对象的免疫活性(例如，增加免疫反应或减少免疫反应)的方法中。在另一个具体实施方案中，包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用于修复有需要的对象中的组织损伤，

例如由急性或慢性损害引起的组织损伤的方法中。

[0032] 在另一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物用作细胞保护剂。另一方面，胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的药物组合物呈适于药用的试剂盒形式提供。参见5.5部分。

[0033] 在另一个实施方案中，本文提供了使胎盘来源的贴壁细胞外泌体负载外源剂例如药剂的方法。在一个实施方案中，此类方法包括孵育胎盘来源的贴壁细胞外泌体和外源剂例如药剂，例如在室温下孵育，进行或不进行皂角苷透化、冻/融循环、超声处理或挤压。在某些实施方案中，通过在室温下孵育将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在具体实施方案中，进行孵育，例如在室温下孵育，不进行外泌体的皂角苷透化。在具体实施方案中，进行孵育，例如在室温下孵育，进行胎盘来源的贴壁细胞外泌体的皂角苷透化。在某些实施方案中，通过冻/融循环，例如1、2、3、4、5个或更多个冻/融循环将外源剂例如药剂负载到外泌体中。在某些实施方案中，通过超声处理将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中，通过挤压将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中，通过电穿孔将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在具体实施方案中，使胎盘来源的贴壁细胞外泌体负载外源剂例如药剂的方法包括以上的任何组合。

[0034] 在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中，外源剂例如药剂为结合剂，例如抗体，诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中，抗体为单特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中，抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中，没有胎盘来源的贴壁细胞外泌体的帮助，抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中，例如不同于从中获得外泌体的细胞类型的细胞。

[0035] 在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中，所述一种或多种核酸包含小干扰RNA(siRNA)或miRNA。

[0036] 在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

[0037] 在另一个实施方案中，本文提供了将外源剂例如药剂递送至靶细胞的方法，其中将所述外源剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中，靶细胞是不同于从中获得外泌体的细胞类型的细胞。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中，外源剂例如药剂为结合剂，例如抗体，诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中，抗体为单

特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中，抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中，没有胎盘来源的贴壁细胞外泌体的帮助，抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中，例如不同于从中获得外泌体的细胞类型的细胞。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中，所述一种或多种核酸包含siRNA或miRNA。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

[0038] 在另一个实施方案中，本文提供了向对象例如人施用包含外源剂例如药剂的外泌体的方法。在某些实施方案中，外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中，外源剂例如药剂为结合剂，例如抗体，诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中，抗体为单特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中，抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中，没有外泌体的帮助，抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中，所述一种或多种核酸包含siRNA或miRNA。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

[0039] 在另一个实施方案中，本文提供了包含负载有一种或多种外源剂例如药剂的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物。在某些实施方案中，掺入本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中，外源剂例如药剂为结合剂，例如抗体，诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中，抗体为单特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中，抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中，没有外泌体的帮助，抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中，所述一种或多种核酸包含siRNA或miRNA。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导

RNA。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

附图说明

[0040] 图1显示证明存在胎盘来源的贴壁细胞外泌体的外泌体抗体阵列的结果。上图：来自于绒膜绒毛间充质干细胞的阳性对照；下图：胎盘来源的贴壁细胞外泌体。

[0041] 图2A-2B：图2A是胎盘来源的贴壁细胞外泌体的电子显微照片，箭头指示的杯形结构是外泌体的常见区别特征。图2B显示通过纳米粒子跟踪测定法确定的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的尺寸分布。

[0042] 图3A-3D显示相比于来自绒膜绒毛间充质干细胞的外泌体(图3B)或在含有或缺乏血清的培养条件下分离的本文描述的非绒膜绒毛的胎盘来源的贴壁细胞的外泌体(图3C和3D)，已知分子的洗脱图谱(图3A)。

[0043] 图4A-4C：图4A显示分离自绒膜绒毛间充质干细胞的外泌体或本文描述的外泌体中所含的各种微RNA的水平。图4B-4C显示本文描述的外泌体上或内部所含的各种血管生成蛋白的水平。

[0044] 图5显示本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体被血液的某些细胞摄取的能力。

[0045] 图6显示胎盘来源的贴壁细胞外泌体和胎盘来源的贴壁细胞对人血管内皮细胞增殖的影响。

[0046] 图7A-B显示在随胎盘来源的贴壁细胞或胎盘来源的贴壁细胞外泌体孵育之后由受LPS刺激的人血体外生成的各种细胞因子和趋化因子的水平。

[0047] 图8A-8G显示胎盘来源的贴壁细胞外泌体对血管内皮细胞生长和增殖的影响。图8A和8B显示胎盘来源的贴壁细胞外泌体在所述外泌体收集自含血清(图8A)或缺乏血清(图8B)的胎盘来源的贴壁细胞培养物时促进培养的血管细胞的小管形成和分支的能力。图8C显示随胎盘来源的贴壁细胞外泌体共同培养之后VEGF通路基因的相对表达。阴影越深对应的表达越高，白色条目除外，其为阳性对照(即，18S、GAPDH、HPRT1和GUSB)。图8D-8G显示在随胎盘来源的贴壁细胞或胎盘来源的贴壁细胞外泌体共同培养血管内皮细胞之后，随时间推移VEGF通路基因在基因表达上的变化。用胎盘来源的贴壁细胞培养物上清液(十字)、50μg胎盘来源的贴壁细胞外泌体(三角形)或作为对照的培养基(菱形)孵育培养的HUVEC。

[0048] 图9A-9B：图9A显示在随胎盘来源的贴壁细胞或胎盘来源的贴壁细胞外泌体共同培养之后单核细胞来源的巨噬细胞分泌的TNF-α和MCP-1的相对水平。图9B显示在随胎盘来源的贴壁细胞或胎盘来源的贴壁细胞外泌体共同培养之后巨噬细胞分泌的TNF-α和MCP-1(分别为左侧和中间)的分泌水平。还显示了(图9B，右侧)完整或裂解的胎盘来源的贴壁细胞外泌体对IL-8从单核细胞来源的巨噬细胞分泌的影响。

[0049] 详述

[0050] 5.1胎盘来源的贴壁细胞外泌体

[0051] 如下所述，可通过其形态和/或分子标志物来选择和鉴定本文描述的胎盘来源的

贴壁细胞外泌体。本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体不同于本领域中已知的外泌体，例如绒膜绒毛间充质干细胞来源的外泌体，例如Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的那些。因此，如本文中所用的术语“胎盘来源的贴壁细胞外泌体”并非意在包括获自或源自绒膜绒毛间充质干细胞的外泌体。

[0052] 在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体不包含细胞，例如有核细胞，例如胎盘细胞，例如胎盘来源的贴壁细胞。

[0053] 5.1.1.胎盘来源的贴壁细胞外泌体标志物

[0054] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有可用于鉴定和/或分离所述外泌体的标志物。这些标志物可以是，例如蛋白质、核酸、糖分子、糖基化蛋白质、脂质分子，并且可呈单体、寡聚体和/或多聚体形式存在。在某些实施方案中，标志物由外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞生成。在某些实施方案中，标志物由外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞提供，但标志物不是由所述细胞以更高水平表达的。在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的标志物当与对照标志分子比较时，在外泌体中相比于源细胞更高。在另一个具体实施方案中，相比于获自另一细胞类型(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞和前脂肪细胞间充质干细胞)的外泌体，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的标志物在所述外泌体中富集，其中外泌体是通过相同方法获得的并且其中将外泌体所源自的细胞保持在相同条件下。

[0055] 外泌体的三维结构允许标志物保留在外泌体表面和/或含于外泌体内。类似地，标志分子可部分存在于外泌体内部，部分存在于外泌体的外表面上和/或穿过外泌体的磷脂双层。在一个具体实施方案中，与本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体相关的标志物为蛋白质。在某些实施方案中，标志物为跨膜蛋白，其锚定在外泌体磷脂双层内或穿过外泌体磷脂双层锚定，使得部分蛋白质分子处于外泌体内部，而部分相同分子暴露于外泌体的外表面。在某些实施方案中，标志物完全含于外泌体内。在另一个具体实施方案中，与本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体相关的标志物为核酸。在某些实施方案中，所述核酸为非编码RNA分子，例如微RNA(miRNA)。

[0056] 5.1.1.1.表面标志物

[0057] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含表面标志物，表面标志物允许对其进行鉴定并且可用于分离/获得不含其来源的胎盘来源的贴壁细胞和其它细胞和非细胞物质的基本上纯的胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体。用于确定外泌体表面标志物组成的方法在本领域中已知。例如，可通过荧光活化细胞分选术(FACS)或Western印迹法检测外泌体表面标志物。

[0058] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有允许将其与本领域已知的其它外泌体区别开的不同表面标志物。在一个具体实施方案中，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含以下标志物中的一种、两种、三种、四种、五种或更多种：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295、CD200(通过例如FACS所测定)。

[0059] 在一个具体实施方案中，例如通过流式细胞术，例如通过FACS所测定，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD55^+$和$CD10^+$。

[0060] 在具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD10^+$和$CD55^+$(通过

例如FACS所测定)并且另外含有水平高于绒膜绒毛间充质干细胞外泌体或前脂肪细胞间充质干细胞外泌体(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的CD82、CD142、CD49c和CD90。

[0061] 在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD9^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD10^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD13^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD29^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD44^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD49b^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD49c^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD55^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD59^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD63^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD73^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD81^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD82^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD90^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD98^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD105^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD141^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD142^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD151^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD164^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD295^+$。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD200^+$。确定此类标志物的存在可以例如通过流式细胞术,例如通过FACS进行。在另一个实施方案中,本文描述了含有以上提及的表面标志物的任何组合的胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体。

[0062] 在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD9^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0063] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD10^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0064] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD13^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0065] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD29^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0066] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD44^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD29、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0067] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD49b^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0068] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD49c^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0069] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD55^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0070] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD59^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0071] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD63^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0072] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD73^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0073] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD81^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0074] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD82^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0075] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD90^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0076] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD98^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0077] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD105^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0078] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD141^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0079] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD142^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0080] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD151^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD164、CD295和CD200。

[0081] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD164^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD295和CD200。

[0082] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD295^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151和CD200。

[0083] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD200^+$并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD164和CD295。

[0084] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD49b^+$、$CD49c^+$、$CD98^+$、$CD29^+$、$CD142^+$、$CD10^+$、$CD47^+$、$CD55^+$、$CD90^+$、$CD147^+$、$CD151^+$、$CD166^+$、$CD82^+$和$CD200^+$。

[0085] 在另一个实施方案中，本文描述了含有以上提及的表面标志物的任何组合的胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体。

[0086] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体通常不包含表面标志物CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c或CD34。因此，在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD3^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD11b^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD14^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD19^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD33^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD192^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}A^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}B^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}C^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}DR^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD11c^-$。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD34^-$。

[0087] 在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD3^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物：CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0088] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD11b^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0089] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD14^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0090] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD19^-$并且

不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0091] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD33^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0092] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD192^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0093] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}A^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0094] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}B^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0095] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}C^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0096] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$HLA\text{-}DR^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、CD11c和CD34。

[0097] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD11c^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR和CD34

[0098] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD34^-$并且不包含一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR和CD11c。

[0099] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD3^-$、$CD11b^-$、$CD14^-$、$CD19^-$、$CD33^-$、$CD192^-$、$HLA\text{-}A^-$、$HLA\text{-}B^-$、$HLA\text{-}C^-$、$HLA\text{-}DR^-$、$CD11c^-$和$CD34^-$。

[0100] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD9+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0101] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD10+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0102] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD13+并且

另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0103] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD29+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0104] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD44+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD29、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0105] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD49b+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0106] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD49c+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0107] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD55+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0108] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD59+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0109] 在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD63+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物:CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200,而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物:CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0110] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD73+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0111] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD81+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0112] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD82+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0113] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD90+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0114] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD98+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0115] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD105+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0116] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD141+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0117] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD142+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD151、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-

B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0118] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD151+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD164、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0119] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD164+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD295和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0120] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD295+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151和CD200，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0121] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为CD200+并且另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD164和CD295，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0122] 在另一个实施方案中，本文描述了含有以上提及的表面标志物的任何组合的胎盘来源的贴壁细胞外泌体群体。

[0123] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD9^+$、$CD10^+$、$CD13^+$、$CD29^+$、$CD44^+$、$CD49b^+$、$CD49c^+$、$CD55^+$、$CD59^+$、$CD63^+$、$CD73^+$、$CD81^+$、$CD82^+$、$CD90^+$、$CD98^+$、$CD105^+$、$CD141^+$、$CD142^+$、$CD151^+$、$CD164^+$、$CD295^+$和$CD200^+$，而进一步缺乏一种或多种选自下组的标志物：CD3、CD11b、CD14、CD19、CD33、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c和CD34。

[0124] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD3^-$、$CD11b^-$、$CD14^-$、$CD19^-$、$CD33^-$、$CD192^-$、$HLA\text{-}A^-$、$HLA\text{-}B^-$、$HLA\text{-}C^-$、$HLA\text{-}DR^-$、$CD11c^-$和$CD34^-$，同时另外包含一种或多种选自下组的标志物：CD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD82、CD90、CD98、CD105、CD141、CD142、CD151、CD164、CD295和CD200。

[0125] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD9^+$、$CD10^+$、$CD13^+$、$CD29^+$、$CD44^+$、$CD49b^+$、$CD49c^+$、$CD55^+$、$CD59^+$、$CD63^+$、$CD73^+$、$CD81^+$、$CD82^+$、$CD90^+$、$CD98^+$、$CD105^+$、$CD141^+$、$CD142^+$、$CD151^+$、$CD164^+$、$CD295^+$、$CD200^+$、$CD3^-$、$CD11b^-$、$CD14^-$、$CD19^-$、$CD33^-$、$CD192^-$、$HLA\text{-}A^-$、$HLA\text{-}B^-$、$HLA\text{-}C^-$、$HLA\text{-}DR^-$、$CD11c^-$和$CD34^-$。

[0126] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD16、CD24、CD25、CD26、CD27、CD32、CD35、CD37、CD39、CD45、CD46、

CD54、CD56、CD61、CD74、CD86、CD88、CD91、CD99、CD103、CD108、CD112、CD117、CD119、CD120a、CD123、CD126、CD130、CD134、CD138、CD140a、CD140b、CD144、CD146、CD147、CD152、CD163、CD183、CD184、CD186、CD191、CD194、CD196、CDw198、CD202b、CD220、CD221、CD235a、CD252、CD266、CD271、CD273、CD274、CD318、CD326、CD333、CD334、HLA-DP、HLA-DQ、HLA-G、IgD、IgM、NG2、PDGF和/或SSEA-3。

[0127] 在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体为$CD82^+$并且例如通过流式细胞术，例如通过FACS所测定，含有低水平的CD141(即，为CD141(低))。

[0128] 在某些实施方案中，通过例如FACS所测定，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比本领域已知的外泌体更高的量的表面标志物。在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比非胎盘来源的贴壁细胞外泌体中所述标志物的量更高的量的CD49c、CD82、CD90和/或CD142。在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比源自前脂肪细胞间充质干细胞或绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体中存在的所述标志物的量更高的量的CD49c、CD82、CD90和/或CD142。在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比源自前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体中存在的所述标志物的量更高的量的CD49c、CD73、CD82、CD90和/或CD142。

[0129] 在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比非胎盘来源的贴壁细胞外泌体中所述标志物的量更低的量的CD164。在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含比源自前脂肪细胞间充质干细胞或绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体中存在的所述标志物的量更低的量的CD164。在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体低两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD164，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD164含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体低两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD164，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD164含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体低两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD164，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD164含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体低两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八

倍至九倍或九倍至十倍的CD164，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD164含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。

[0130] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD49c，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD49c含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD49c，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD49c含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD49c，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD49c含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD49c，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD49c含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。

[0131] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD73，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD73含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD73，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD73含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD73，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD73含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平

比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD73,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD73含量,并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。

[0132] 在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD82,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD82含量,其中在同样条件下收获外泌体,并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD82,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD82含量,其中在同样条件下收获外泌体,并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD82,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD82含量,并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD82,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD82含量,并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。

[0133] 在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD90,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD90含量,其中在同样条件下收获外泌体,并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD90,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD90含量,其中在同样条件下收获外泌体,并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、

四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD90，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD90含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD90，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD90含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。

[0134] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD142，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD142含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD142，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD142含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD142，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD142含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD142，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD142含量，并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。

[0135] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD49c、CD90、CD142和CD82，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，例如通过FACS)测量CD49c、CD90、CD142和CD82含量，其中在同样条件下收获外泌体，并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD49c、CD90、CD142和CD82，其中在相同实验条件下(例如，通过流式细胞术，

例如通过FACS)测量CD49c、CD90、CD142和CD82含量,其中在同样条件下收获外泌体,并且其中所述源细胞在同样条件下生长。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍的CD49c、CD90、CD142和CD82,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD49c、CD90、CD142和CD82含量,并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。在另一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平比源自绒膜绒毛间充质干细胞(例如,Salomon等,2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)或前脂肪细胞间充质干细胞的外泌体高两倍至三倍、三倍至四倍、四倍至五倍、五倍至六倍、六倍至七倍、七倍至八倍、八倍至九倍或九倍至十倍的CD49c、CD90、CD142和CD82,其中在相同实验条件下(例如,通过流式细胞术,例如通过FACS)测量CD49c、CD90、CD142和CD82含量,并且其中每份样品使用相同数量和/或质量的外泌体。

[0136] 除本文描述的外泌体标志物以外,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体另外可包含某些其它外泌体标志物。例如,在具体实施方案中,除本文描述的任何标志物组合以外,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体还包含外泌体表面标志物FLOT1、ALIX、ANXA5和TSG101。在另一个实施方案中,本文公开了含有以上提及的表面标志物的任何组合的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物。

[0137] 5.1.1.2.微RNA

[0138] 在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有一种或多种核酸分子,例如一种或多种非编码RNA分子。在一个具体实施方案中,本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含微RNA(miRNA)。通常,miRNA是调节大范围的细胞功能并牵涉于疾病和代谢调控的17-22个核苷酸(nt)的非编码RNA。检测miRNA水平的方法在本领域中公知,例如实时PCR(RT-PCR),例如Taqman测定法。在其它具体实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有miRNA,当进行RT-PCR并且与对照RNA比较时,所述miRNA所含水平比绒膜绒毛间充质干细胞中相同的miRNA高1.1、2、5、10、100、500、600、700、800、900、1000、1100或1200倍,或比绒膜绒毛间充质干细胞中相同的miRNA高1.1至2、2至5、2至10、5至10、10至100、100至500、500至600、600至700、700至800、800至900、900至1000、1000至1100或1100至1200倍之间。

[0139] 在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有可检测水平的以下miRNA中的一种、两种、三种、四种或更多种:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。在一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-218-5p。在另一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-133b。在另一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-422a。在另一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-564。在另一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-16-5p。在另一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的let-7a。在另一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-92。在另一个实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴

壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-142-3p。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-451。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-124-5p。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-223-3p。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-630。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-296-5p。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的let-7b-3p。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的let-7d-3p。

[0140] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-218-5p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0141] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-133b并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0142] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-422a并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0143] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-564并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p

[0144] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-16-5p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0145] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的let-7a并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0146] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-92并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0147] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-142-3p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、

miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0148] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-451并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0149] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-124-5p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0150] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-223-3p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0151] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-630并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0152] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的miR-296-5p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0153] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的let-7b-3p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p和let-7d-3p。

[0154] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含可检测水平的let-7d-3p并且另外包含可检测水平的一种或多种选自下组的miRNA:miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p和let-7b-3p。

[0155] 在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-218-5p、miR-133b、miR-422a、miR-564、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-124-5p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p。

[0156] 在某些实施方案中，可以基于其包含的miRNA将本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体与来自其它细胞(例如绒膜绒毛间充质干细胞，例如Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体区别开。

[0157] 在一个具体实施方案中，当在同样条件下处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体比较时，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-133b。

[0158] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-422a。

[0159] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-16-5p。

[0160] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的let-7a。

[0161] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-92。

[0162] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-142-3p。

[0163] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-451。

[0164] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-124-5p。

[0165] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-223-3p。

[0166] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的miR-630。

[0167] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍

的miR-296-5p。

[0168] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的let-7b-3p。

[0169] 在另一个实施方案中，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含水平高至少两倍的let-7d-3p。

[0170] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-133b并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA：miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0171] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-422a并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA：miR-133b、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0172] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-16-5p并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA：miR-133b、miR-422a、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0173] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含let-7a并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA：miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0174] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-92并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA：miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0175] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-142-3p并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA:miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0176] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-451并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA:miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0177] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-223-3p并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA:miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0178] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-630并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA:miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0179] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-296-5p并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA:miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、let-7b-3p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0180] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含let-7b-3p并且另外包含一种或多种选自下组的miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p和let-7d-3p，当通过同样方法处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013,PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0181] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含let-7d-3p并且另外包含一种或多种选自下组的miRNA:miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p和let-7b-3p，当通过同样方法处

理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体相比，所述miRNA的水平高至少两倍。

[0182] 在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体包含miR-133b、miR-422a、miR-16-5p、let-7a、miR-92、miR-142-3p、miR-451、miR-223-3p、miR-630、miR-296-5p、let-7b-3p和let-7d-3p或前述任何一种的组合，当通过同样条件处理外泌体及其所来源的细胞时，与来自绒膜绒毛间充质干细胞(例如，Salomon等，2013，PLOS ONE，8:7，e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞)的外泌体比较时，其水平高至少两倍。

[0183] 5.1.1.3.血管生成蛋白

[0184] 在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有一种或多种促进血管生成的蛋白质。检测血管生成蛋白水平的方法在本领域中公知，例如，使用基于ELISA的方法，例如AngioSecretome Milliplex(Millipore)。在具体实施方案中，通过下文6.2.4.3部分中描述的方法测定与本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体相关的血管生成蛋白的存在和相对水平。

[0185] 在一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有一种或多种选自下组的血管生成蛋白：内皮糖蛋白、瘦素、血管生成素-2、G-CSF、卵泡抑素、FGF-2、HGF、VEGF-A、IL-8和EGF。在另一个实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有一种或多种选自下组的血管生成蛋白：内皮糖蛋白、瘦素、血管生成素-2、G-CSF、卵泡抑素、FGF-2、HGF、VEGF-A、IL-8和EGF，其水平比缺乏外泌体的培养基高。在另一个实施方案中，所述血管生成蛋白以高于10pg/ml、50pg/ml、100pg/ml、500pg/ml、1,000pg/ml、2,000pg/ml、4,000pg/ml、6,000pg/ml、8,000pg/ml、10,000pg/ml、12,000pg/ml、14,000pg/ml、16,000pg/ml、18,000pg/ml、20,000pg/ml、25,000pg/ml、30,000pg/ml、35,000pg/ml、40,000pg/ml、45,000pg/ml或50,000pg/ml或更高的浓度存在于培养基中。在另一个实施方案中，所述血管生成蛋白以10pg/ml至50pg/ml、50pg/ml至100pg/ml、100pg/ml至500pg/ml、500pg/ml至1,000pg/ml、1,000pg/ml至2,000pg/ml、2,000pg/ml至4,000pg/ml、4,000pg/ml至6,000pg/ml、6,000pg/ml至8,000pg/ml、8,000pg/ml至10,000pg/ml、10,000pg/ml12,000pg/ml、12,000pg/ml至14,000pg/ml、14,000pg/ml至16,000pg/ml、16,000pg/ml至18,000pg/ml、18,000pg/ml至20,000pg/ml、20,000pg/ml至25,000pg/ml、25,000pg/ml至30,000pg/ml、30,000pg/ml至35,000pg/ml、35,000pg/ml至40,000pg/ml、40,000pg/ml至45,000pg/ml或45,000pg/ml至50,000pg/ml的浓度存在于培养基中。

[0186] 5.1.2.外泌体尺寸和区别特征

[0187] 在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体直径为约50nm至150nm。在某些实施方案中，通过本领域中已知的方法(例如，电子显微镜术和纳米粒子跟踪测定法)测定，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体直径为约70nm至150nm，直径为约100nm至150nm，或直径为约130nm至145nm。在某些实施方案中，可基于其尺寸将本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体与细胞和/或非细胞碎片区别开。在某些实施方案中，可通过其形状区别本文描述的外泌体，例如，当通过本领域中已知的成像技术(例如，电子显微镜术)检查时，本文描述的外泌体为杯形。

[0188] 在某些实施方案中，可基于其分子组成(例如，表面标志蛋白或miRNA分子)鉴定本

文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。参见5.1.1部分。在某些实施方案中，可基于其分子图谱(例如，其包含的表面标志蛋白和/或miRNA分子)将本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体与其它外泌体(即，非胎盘来源的贴壁细胞外泌体)区别开。

[0189] 5.1.3.胎盘来源的贴壁细胞

[0190] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体源自胎盘来源的贴壁细胞(例如，美国专利第7,468,276、8,057,788和8,202,703号中公开的胎盘来源的贴壁细胞，该专利的公开内容据此通过引用整体并入)。

[0191] 在一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体源自$CD34^-$、$CD10^+$、$CD105^+$和$CD200^+$胎盘来源的贴壁细胞。

[0192] 在另一个具体实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体源自胎盘来源的贴壁细胞，其以比骨髓来源的间充质干细胞高至少两倍的水平表达一个或多个基因，其中所述基因选自ACTG2、ADARB1、AMIGO2、ARTS-1、B4GALT6、BCHE、C11orf9、CD200、COL4A1、COL4A2、CPA4、DMD、DSC3、DSG2、ELOVL2、F2RL1、FIJ10781、GATA6、GPR126、GPRC5B、HLA-G、ICAM1、IER3、IGFBP7、IL1A、IL6、IL18、KRT18、KRT8、LIPG、LRAP、MATN2、MEST、NFE2L3、NUAK1、PCDH7、PDLIM3、PJP2、RTN1、SERPINB9、ST3GAL6、ST6GALNAC5、SLC12A8、TCF21、TGFB2、VTN和ZC3H12A。在另一个实施方案中，本文描述的外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞以比骨髓来源的间充质干细胞高至少两倍的水平衍生表达一个或多个基因，其中所述一个或多个基因是LOVL2、ST3GAL6、ST6GALNAC5和/或SLC12A8中的一个或多个。在另一个实施方案中，本文提供的外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞以比骨髓来源的间充质干细胞高至少两倍的水平衍生表达一个或多个基因，其中所述一个或多个基因是CPA4、TCF21、VTN、B4GALT6、FLJ10781和/或NUAK1中的一个或多个。

[0193] 在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体获自培养生长的胎盘来源的贴壁细胞，例如已附着于组织培养基质的胎盘来源的贴壁细胞，或获自已经施用给活生物体(例如，哺乳动物，例如人)的胎盘来源的贴壁细胞。在一个具体实施方案中，细胞在血清的存在下培养。在另一个具体实施方案中，在不存在血清的情况下培养细胞。

[0194] 在一个实施方案中，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞基本上是胎儿来源的，例如，胎盘来源的贴壁细胞约或至少90％、95％、99％或100％是胎儿来源的。在另一个实施方案中，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞是混合来源的，例如胎盘来源的贴壁细胞为胎儿和母体来源两种。

[0195] 在某些实施方案中，在从胎盘来源的贴壁细胞分离外泌体之前，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞已经传代。在一个具体实施方案中，在从胎盘来源的贴壁细胞分离外泌体之前，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞已经传代约或至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18或20次。在一个具体实施方案中，本文提供的外泌体收集自已经体外培养6代的胎盘来源的贴壁细胞。在某些实施方案中，本文提供的外泌体收集自第6代平板接种的胎盘来源的贴壁细胞，和收集自第7代的培养物上清液。

[0196] 在某些实施方案中，在从胎盘来源的贴壁细胞分离外泌体之前，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞已经扩增。在一个具体实施方案中，在某些实施方案中，在从胎盘来源的贴壁细胞分离外泌体之前，本文提供的胎盘来源的贴

壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞已经扩增以进行1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38或40次群体倍增或更多。

[0197] 在一个具体实施方案中，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞不是绒膜绒毛间充质干细胞且/或不包含绒膜绒毛间充质干细胞，例如，本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体所源自的胎盘来源的贴壁细胞不是Salomon等，2013，PLOS ONE,8:7,e68451描述的绒膜绒毛间充质干细胞。在另一个实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞所源自的来源不含绒膜绒毛。

[0198] 5.2.分离胎盘来源的贴壁细胞外泌体的方法

[0199] 5.2.1.从培养基获得外泌体的方法

[0200] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体可由，例如5.1.3部分中描述的胎盘来源的贴壁细胞生成。在某些实施方案中，此类胎盘来源的贴壁细胞的培养引起外泌体向培养基中的沉积，其中可以使用本文描述的且本领域已知的技术从培养基中分离所述外泌体。本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的分离可基于与胎盘来源的贴壁细胞外泌体相关的特定表面标志分子，使用尺寸过滤，使用密度依赖性离心及通过使用本领域已知的其它方法来实现。在某些实施方案中，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的分离可结合两种或更多种技术以从培养基中存在的污染性细胞和非细胞物质中基本上纯化外泌体群体。

[0201] 5.2.1.1.通过超速离心分离外泌体

[0202] 在一个具体实施方案中，使用超速离心将本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体与细胞培养基的其它组分分开。在一个具体实施方案中，分离并高速(例如，100,000xg)离心收集自胎盘来源的贴壁细胞培养物的培养基一定时间，时间足以将胎盘来源的贴壁细胞外泌体与培养基中存在的细胞和非细胞物质分开。在一个具体实施方案中，在收集培养基以分离胎盘来源的贴壁细胞外泌体之前，在血清(例如，胎牛血清)的存在下培养胎盘来源的贴壁细胞。在另一个具体实施方案中，在收集培养基以分离胎盘来源的贴壁细胞外泌体之前，在不存在血清(例如，胎牛血清)的情况下培养胎盘来源的贴壁细胞。在一个实施方案中，根据下文实施例1的方法分离并离心收集自胎盘来源的贴壁细胞培养物的培养基。

[0203] 5.2.1.2.通过荧光活化细胞分选术分离外泌体

[0204] 可以在含有一种或多种表面标志蛋白的基础上和/或在缺乏一种或多种表面标志蛋白的基础上分离和/或纯化本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。具体地，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体可基本上与非胎盘来源的贴壁细胞外泌体或不含目标表面标志物的胎盘来源的贴壁细胞外泌体分离。例如，含有表面标志物特定组合的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的一个亚群可与一个或多个另外的含独特或基本上不同的表面标志物组合的外泌体(胎盘来源的贴壁细胞外泌体)群体分离。因此，可以在本文描述的表面标志物任何组合的基础上分离和/或纯化本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。参见5.1.1部分。

[0205] 在一个实施方案中，荧光活化细胞分选术(FACS)用于使用对外泌体上存在的细胞表面标志物有特异性的抗体，分离和/或纯化本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。使用FACS分离细胞和外泌体的方法在本领域中公知。

[0206] 在一个实施方案中，纯化/分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的方法包括在足以允许在所述外泌体和所述基质之间产生复合物(例如，通过被动吸附)的条件下使本文描述的外泌体群体与固体基质(例如，乳胶珠粒)接触一段时间。在另一个具体实施方

案中,根据本文描述的方法(例如,本文描述的FACS)分离在足以允许在所述外泌体和所述基质之间产生复合物(例如,通过被动吸附)的条件下与固体基质(例如,乳胶珠粒)接触一段时间的外泌体群体。

[0207] 在另一个实施方案中,可以使用两部分“夹心”检测技术纯化和/或分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在一个特定实施方案中,部分纯化或未纯化群体中的外泌体首先与基质,例如涂布有对本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体表面上存在的蛋白质有特异性的抗体的珠粒群体(例如,乳胶珠粒群体)接触。在一个具体实施方案中,使用此类方法,将特异性识别CD63的抗体用于分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在另一个具体实施方案中,使用此类方法,将特异性识别MHC II类分子家族成员的抗体用于分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在第一个接触步骤之后,使与基质结合的外泌体与对本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体表面上存在的表面标志蛋白有特异性的第二分子接触。在一个具体实施方案中,表面分子为四跨膜蛋白(tetraspanin)并且所述抗体为荧光标记抗体。在另一个具体实施方案中,表面分子为FLOT1、ALIX、ANXA5、TSG101、Annexin V、CD3、CD9、CD10、CD11b、CD13、CD14、CD19、CD29、CD33、CD44、CD46、CD47、CD49b、CD49c、CD55、CD59、CD63、CD73、CD81、CD90、CD98、CD105、CD142、CD147、CD151、CD164、CD166、CD192、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、CD11c、CD34、CD49d或CD200中的任一种。

[0208] 5.2.1.3.使用尺寸排阻色谱法分离外泌体

[0209] 可以与培养基中存在的常见污染物,包括甲状腺球蛋白二聚体、甲状腺球蛋白单体、免疫球蛋白(例如,IgG)、牛血清白蛋白(BSA)、肌肉球蛋白和尿嘧啶(参见6.3部分)分离和/或纯化本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在一个实施方案中,当样品在HPLC上以0.5mL/min的流速运行时在分级收集开始10分钟至11分钟或11分钟至12分钟后收集的成分中,通过从尺寸排阻柱(例如,TSK Guard SWXL柱)洗脱,将所述样品中本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体与常见培养基污染物(例如,甲状腺球蛋白、IgG、BSA、肌肉球蛋白和尿嘧啶)区别开。在具体实施方案中,所述样品在HPLC上以0.5mL/min的流速运行之后,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体在从尺寸排阻柱(例如,TSK Guard SWXL柱)收集的样品的第一可检测峰洗脱。

[0210] 外泌体的分离可基于尺寸,例如约50-150nm的直径。因此,外泌体尺寸允许使用诸如高效液相色谱法(HPLC)结合尺寸排阻色谱法等技术来分离基本上纯的外泌体群体和/或测定分离的外泌体群体的纯度。具体而言,通过本文描述的方法之一纯化和/或分离的外泌体可通过HPLC后续纯化以去除污染性大分子和其它不需要的污染物。使用HPLC和尺寸排阻色谱法分离混合分子群体的方法在本领域中公知并且依赖于半多孔基质和离子/pH梯度来差异性分离混合群体的各种组分。

[0211] 在一个实施方案中,使用包括HPLC的方法(例如,使用Agilent1200系列LC系统)进一步纯化本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(例如,先前从培养基分离的外泌体)。在一个特定实施方案中,所述方法还包括使用尺寸排阻色谱柱(例如,TSK Guard SWXL和/或TSK凝胶G4000,Tosoh Corp.)和固定流速(例如,0.5ml/min)的缓冲液(例如,20mM K_2PO_4、150mM NaCl,pH 7.2)。在一个具体实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的直径为50-150nm。

[0212] 5.2.2.体内抗体捕获

[0213] 在一个特定实施方案中,在引入本文描述的胎盘来源的贴壁细胞或胎盘来源的贴壁细胞外泌体后从对象(例如,小鼠或人)分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在一个实施方案中,为对象(例如,小鼠)注射对本文描述的外泌体内部或上面所含的蛋白质有特异性的抗体,其中所述抗体与第二高亲和力分子(例如,生物素)偶联。另外为所述对象(例如,小鼠)注射(例如,静脉内、腹膜内或肌肉注射)本文描述的胎盘来源的贴壁细胞和/或分离的胎盘来源的贴壁细胞。在足以使所述胎盘来源的贴壁细胞生成外泌体的时间后,分离来自于对象(例如,小鼠)的血液,其含有包含胎盘来源的贴壁细胞外泌体和对本文描述的外泌体蛋白质有特异性的抗体的复合物。可通过接触对偶联至所述抗体的第二高亲和力分子(例如,生物素)有特异性的基质(例如,链霉亲和素)而纯化所述抗体-外泌体复合物,并且所得抗体-外泌体复合物可根据本文描述的任何方法进一步纯化。

[0214] 5.2.3.量化

[0215] 可以量化从本文描述的胎盘来源的贴壁细胞培养物分离的外泌体以测定总产量。量化外泌体产量的方法在本领域中已知并且包括Bradford测定法、BCA测定法、分光光度法(例如,使用NanoDrop分光光度计)、直接酶联免疫吸附测定法(例如CD63/CD9/CD81ExoELISA(System Biosciences))、成像技术诸如纳米粒子跟踪分析(例如,Nanosight LM10(Malvern Instruments)或诸如qNano(IZON)的基于电阻抗的测量)。根据这些方法,可按照分离的物质的总量(例如,每天每个细胞分离的外泌体物质的质量)或按照规定体积的培养基单个粒子的数量(例如,每mL培养基的外泌体粒子)测定外泌体产量。

[0216] 5.2.4.产量

[0217] 可以根据本文描述的方法分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体并且可量化其产量。在一个具体实施方案中,以约0.5-5.0mg/L培养基(例如,有或无血清的培养基)的浓度分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在另一个具体实施方案中,以约2-3mg/L培养基(例如,含血清的培养基)的浓度分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。在另一个具体实施方案中,以约0.5-1.5mg/L培养基(例如,缺乏血清的培养基)的浓度分离本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体。

[0218] 5.2.5.储存和保藏

[0219] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体可保藏,即放置在允许长期储存的条件下,或抑制外泌体降解的条件下。

[0220] 在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体在根据上述方法收集之后可在适当温度下储存在包含缓冲剂的组合物中。在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体冷冻储存,例如在约-20℃或约-80℃下。

[0221] 在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体可冷藏,例如在小容器,例如安瓿(例如,2mL的小瓶)中。在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体以约0.1mg/mL至约10mg/mL的浓度冷藏。

[0222] 在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体冷藏在约-80℃至约-180℃的温度下。解冻使用之前可以将冷藏的外泌体转移到液氮中。在一些实施方案中,例如,一旦安瓿达到约-90℃,就将其转移到液氮储存区。冷藏也可使用控速冷冻机进行。使用之前在约25℃至约40℃的温度下使冷藏的外泌体解冻。

[0223] 在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体短时间(例如,少于两

周)储存在约4℃至约20℃的温度下。

[0224] 5.3.组合物

[0225] 本文还提供了包含本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物,例如药物组合物。参见例如,5.1部分。本文描述的组合物用于治疗对象(例如,人对象)中的某些疾病和病症,其中用外泌体治疗是有益的。参见5.4.1部分。

[0226] 在某些实施方案中,除包含本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体以外,本文描述的组合物(例如,药物组合物)还包含药学上可接受的载体。如本文中所用,术语"药学上可接受的"意指经联邦监管机构或国家政府批准或列入美国药典(U.S.Pharmacopeia)或其它公认的药典中用于动物中,并且特别是用于人中。术语"载体",如本文在药学上可接受的载体的上下文中所用,是指药物组合物与之一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。盐水溶液及葡萄糖和甘油水溶液也可用作液体载体,特别是用于注射液。合适的赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、水稻、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂乳粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。合适的药物载体的实例在JP Remington和AR Gennaro的"Remington's Pharmaceutical Sciences",1990,第18版中有描述。

[0227] 在某些实施方案中,本文描述的组合物另外包含一种或多种缓冲液,例如盐水、磷酸盐缓冲盐水(PBS)、杜尔贝科PBS(DPBS)和/或蔗糖磷酸谷氨酸盐缓冲液。在其它实施方案中,本文描述的组合物不含缓冲液。在某些实施方案中,本文描述的组合物另外包含plasmalyte。

[0228] 在某些实施方案中,本文描述的组合物另外包含一种或多种盐,例如氯化钠、氯化钙、磷酸钠、谷氨酸一钠和铝盐(例如,氢氧化铝、磷酸铝、明矾(硫酸铝钾)或此类铝盐的混合物)。在其它实施方案中,本文描述的组合物不含盐。

[0229] 本文描述的组合物可随施用说明书一起包括在容器、包装或分配器中。

[0230] 本文描述的组合物在使用之前可储存,例如,该组合物可冷冻储存(例如,在约-20℃下或在约-80℃下);储存在制冷条件下(例如,在约4℃下);或储存在室温下。

[0231] 5.3.1.制剂和施用途径

[0232] 将在疾病或病状的治疗和/或预防中治疗性用途有效的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(参见5.1部分)或本文描述的组合物(参见5.3部分)的量将取决于疾病的特性,并且可通过标准临床技术测定。待向对象施用的胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物的精确剂量还将取决于施用途径和待治疗的疾病或病状的严重性,并且应该根据医师的判断和每位对象的情形来决定。例如,有效剂量可根据施用方式,靶位点,患者的生理状态(包括年龄、体重和健康状况),患者是人还是动物,施用的其它药物及治疗是预防性的还是治疗性的而改变。治疗剂量经最佳滴定以优化安全性和功效。

[0233] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(参见5.1部分)或其组合物(参见5.3部分)的施用可经由本领域已知的各种途径进行。在某些实施方案中,本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物通过局部、全身、皮下、肠胃外、静脉内、肌肉、局部性、口服、皮内、经皮或鼻内施用。在一个具体实施方案中,所述施用经由静脉内注射。在一个具体实施方案中,所述施用经由皮下注射。在一个具体实施方案中,所述施用是局部性。在另一个具体实施方案中,胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物在包含细胞外基质的制剂中施用。

在另一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物与一种或多种附加递送装置，例如支架组合施用。在另一个具体实施方案中，胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物局部施用，例如在待用所述外泌体或组合物治疗的区域部位，诸如缺氧组织(例如，在缺血性疾病的治疗中)或引流淋巴结处或周围。

[0234] 5.4.使用方法

[0235] 5.4.1.受益于血管生成的疾病的治疗

[0236] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(参见5.1部分)及其组合物(参见5.3部分)促进血管生成，并且，因此可用于治疗受益于血管生成的疾病和病症。因此，本文提供了使用本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物促进有需要的对象中的血管生成的方法。如本文中所用，术语“治疗”涵盖对象中疾病、病症或病状的治愈、矫正、改善、其严重程度的减轻或其时程或其任何参数或症状的减少。在一个具体实施方案中，根据本文提供的方法治疗的对象为哺乳动物，例如人。

[0237] 在一个实施方案中，本文提供了在对象中诱导血管化或血管生成的方法，所述方法包括向对象施用本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物。因此，本文提供的方法可用于治疗对象中受益于血管生成/血管化增加的疾病和病症。受益于血管生成增加，并且因此可用本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体和组合物治疗的此类疾病/病状的实例包括但不限于心肌梗塞、充血性心力衰竭，外周动脉疾病、严重肢体缺血、外周血管疾病、左心发育不全综合征、糖尿病足部溃疡、静脉溃疡或动脉溃疡。

[0238] 在一个实施方案中，本文提供了治疗例如在外周脉管系统中有血流中断的对象的方法，所述方法包括向对象施用本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物。在一个具体实施方案中，本文提供的方法包括用本文提供的胎盘来源的贴壁细胞外泌体或其组合物治疗有局部缺血的对象。在某些实施方案中，局部缺血是外周动脉疾病(PAD)，例如是严重肢体缺血(CLI)。在某些其它实施方案中，局部缺血是外周血管疾病(PVD)、外周动脉疾病、缺血性血管疾病、缺血性心脏病或缺血性肾病。

[0239] 5.4.2.患者群体

[0240] 在某些实施方案中，向需要治疗本文描述的任何疾病或病状(参见5.4.1部分)的对象施用本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(参见5.1部分)。在另一个实施方案中，向需要治疗本文描述的任何疾病或病状的对象施用本文描述的组合物(参见5.3部分)。在某些实施方案中，所述对象为人。

[0241] 在一个具体实施方案中，向需要治疗以增加血管生成和/或血管化的对象(例如，人)施用本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体或组合物。

[0242] 5.5.试剂盒

[0243] 本文提供了包含一个或多个容器的药物包或试剂盒，所述容器填充有本文描述的药物组合物，即包含本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物的一种或多种成分。任选与此类容器相关联的可以是由管理药物或生物制品的生产、使用或销售的政府机构规定形式的通知，其反映了该机构对生产、使用或销售供人体施用的批准。

[0244] 本文描述的试剂盒可用于上述方法(参见5.4部分)。本文描述的组合物可制备成可易于施用给个体的形式。例如，组合物可容纳在适于医用的容器内。此类容器可以是，例如无菌塑料袋、瓶或罐，或可容易地从中分配组合物的其它容器。例如，容器可以是血袋或

适于向受者静脉内施用液体的其它医学上可接受的塑料袋。

[0245] 5.6.递送系统

[0246] 本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体及其组合物可负载有外泌体外源性的试剂,例如药剂。此类外泌体及其组合物可以,例如摄取到靶细胞,例如不同于从中获得外泌体的细胞类型的细胞内,并且因此将外源剂例如药剂递送至靶细胞内。

[0247] 因此,本文提供了使胎盘来源的贴壁细胞外泌体负载外源剂例如药剂的方法。在一个实施方案中,此类方法包括孵育胎盘来源的贴壁细胞外泌体和外源剂例如药剂,例如在室温下孵育,进行或不进行皂角苷透化、冻/融循环、超声处理或挤压。参见,例如,Haney等,2015,J.Controlled Release 207:18-30,其通过引用并入本文。在某些实施方案中,通过在室温下孵育将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中,通过在10℃、15℃、18℃、20℃、22℃、25℃、28℃、30℃、35℃或40℃下孵育将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在具体实施方案中,进行孵育,例如在室温下孵育,不进行胎盘来源的贴壁细胞外泌体的皂角苷透化。在具体实施方案中,进行孵育,例如在室温下孵育,进行胎盘来源的贴壁细胞外泌体的皂角苷透化。在某些实施方案中,通过冻/融循环,例如1、2、3、4、5个或更多个冻/融循环将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中,通过超声处理将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中,通过挤压将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中,通过电穿孔将外源剂例如药剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在具体实施方案中,使外泌体负载外源剂例如药剂的方法包括以上的任何组合。

[0248] 在某些实施方案中,掺入本文描述的胎盘来源的贴壁细胞胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中,外源剂例如药剂为结合剂,例如抗体,诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中,抗体为单特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中,抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中,没有胎盘来源的贴壁细胞外泌体的帮助,抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中。

[0249] 在某些实施方案中,负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中,所述一种或多种核酸包含siRNA或miRNA。

[0250] 在某些实施方案中,负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中,所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含向导RNA。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中,所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中,所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

[0251] 在另一个实施方案中,本文提供了将外源剂例如药剂递送至靶细胞的方法,其中将所述外源剂负载到胎盘来源的贴壁细胞外泌体中。在某些实施方案中,所述靶细胞是不同于从中获得外泌体的细胞类型的细胞。在某些实施方案中,负载到本文描述的胎盘来源

的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中，外源剂例如药剂为结合剂，例如抗体，诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中，抗体为单特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中，抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中，没有胎盘来源的贴壁细胞外泌体的帮助，抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中，例如不同于从中获得外泌体的细胞类型的细胞。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中，所述一种或多种核酸包含siRNA。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

[0252] 本文提供了向个体，向对象例如人施用包含外源剂例如药剂的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的方法。在某些实施方案中，外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中，外源剂例如药剂为结合剂，例如抗体，诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中，抗体为单特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中，抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中，没有胎盘来源的贴壁细胞外泌体的帮助，抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中，所述一种或多种核酸包含siRNA或miRNA。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中，CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中，所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

[0253] 本文还提供了包含负载有一种或多种外源剂例如药剂的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的组合物。在某些实施方案中，掺入本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含多肽。在具体实施方案中，外源剂例如药剂为结合剂，例如抗体，诸如人、人源化或嵌合抗体或其抗原结合片段。在特定实施方案中，抗体为单特异性、双特异性或多特异性抗体或其抗原结合片段。还有其它特定实施方案中，抗体或其抗原结合片段为单链抗体或Fab片段。在具体实施方案中，没有外泌体的帮助，抗体或其抗原结合片段不会内化到靶细胞中。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如药剂包含一种或多种核酸。在具体实施方案中，所述一种或多种核酸包含siRNA或miRNA。在某些实施方案中，负载到本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体中的外源剂例如

药剂包含一种或多种基因修饰组分。在具体实施方案中,所述一种或多种基因修饰组分包含CRISPR-Cas系统。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含向导RNA。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含内切核酸酶。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含向导RNA和内切核酸酶。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含Cas9。在更多具体实施方案中,CRISPR-Cas系统包含Cpf1。在具体实施方案中,所述一种或多种基因修饰组分包含锌指核酸酶。在具体实施方案中,所述一种或多种基因修饰组分包含转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)系统。

6.实施例

[0254] 6.1.实施例1:分离外泌体的方法

[0255] 根据以下方法从$CD10^+$、$CD200^+$、$CD105^+$、$CD34^-$胎盘来源的贴壁细胞培养物中分离胎盘来源的贴壁细胞外泌体。

[0256] 通过在4℃下10,000xg超速离心1小时,然后100,000xg超速离心18小时为胎牛血清(FBS)排去污染的牛外泌体。在储存和使用之前通过0.2μm过滤器过滤所得上清液。排去外泌体的FBS与杜尔贝科改良伊格尔培养基(DMEM)混合24小时以产生生长培养基。使生长培养基升温至37℃并按300-1,000个细胞/cm^2的密度平板接种胎盘来源的贴壁细胞并培养3天或直至细胞培养平台装置(具有CELLBIND涂层的Corning CELLSTACK 10-培养盘)中80%汇合。在第6代时平板接种胎盘来源的贴壁细胞外泌体,并且在第7代收集培养物上清液。用于分离本文描述的外泌体的胎盘来源的贴壁细胞的胎盘来源不包括绒膜绒毛,因此用于生成胎盘来源的贴壁细胞外泌体的胎盘来源的贴壁细胞不包括绒膜绒毛间充质干细胞。

[0257] 去除培养物上清液之后,用PBS洗涤细胞培养物单层并补充无血清的培养基(DMEM和1x谷氨酰胺)。48小时后,收集无血清的培养物上清液并进行如下所述的外泌体富集和分离程序。收获所得细胞单层用于细胞计数、外泌体产量比较和比较研究。

[0258] 收集来自汇合的含血清和无血清的培养物的上清液并在500mL管中在4℃下400xg离心5-15分钟。然后将离心的上清液转移到新的500mL管中并在4℃下3000xg离心20-60分钟。然后将上清液转移到适当的超速离心管中并在4℃下100,000xg离心60分钟。保存所得的排去外泌体的上清液的一小份等分试样用于进一步分析,并丢弃剩余物。使含有外泌体的团块重新悬浮在PBS或可注射盐水中并重复超速离心。丢弃上清液并使所得团块重新悬浮在PBS或可注射盐水中,并根据下述实施例进行分析。所得团块当分离自含FBS的培养物时称为“生长外泌体”,或当分离自缺乏FBS的培养物时称为“无血清外泌体”。

[0259] 分离的外泌体组合物等分在2mL冷冻小瓶中并储存在-20至-80℃下。

[0260] 6.2.实施例2:胎盘来源的贴壁细胞外泌体的确认

[0261] 本文呈现的结果证明实施例1中分离自细胞培养物上清液的非细胞物质是外泌体。

[0262] 6.2.1.使用外泌体标志物抗体阵列检测

[0263] 如同6.1部分中那样分离胎盘来源的贴壁细胞外泌体。使用Exo-Check™外泌体抗体阵列(System Biosciences)根据生产商的方案分析400微克分离物质。在抗体阵列上孵育外泌体裂解物过夜并使用Kodak Gel-Logic系统为样品成像并且在2分钟发光暴露后显

影。如图1(下方)所示,胎盘来源的贴壁细胞外泌体物质产生四种标志物FLOT-1、ALIX、ANXA5和TSG101的可检测信号。使用作为阵列试剂盒的一部分被包括在内的阳性对照样品,也产生这些标志物的可检测信号(图1上方)。

[0264] 6.2.2.胎盘来源的贴壁细胞外泌体样品的形状和尺寸特征

[0265] 分离的外泌体经阴性染色并使用透射电子显微镜(TEM)成像(图2A)并且发现其作为离散体存在,直径为～100nm,常常呈杯状形状(箭头),两者均为外泌体的特征。通过纳米粒子跟踪分析(NTA)进一步分析纯化的外泌体以测定分离群体的尺寸分布。如图2B所示,胎盘来源的贴壁细胞外泌体平均尺寸为139nm,与分离自其它细胞类型的外泌体的已知尺寸一致。

[0266] 形态特征和鉴定的蛋白质标志物证明,使用上述方法从胎盘来源的贴壁细胞分离的物质是外泌体。

[0267] 6.3.实施例3:胎盘来源的贴壁细胞外泌体的纯化

[0268] 6.3.1.通过尺寸排阻高效液相色谱法纯化外泌体

[0269] 如同6.1部分中那样分离胎盘来源的贴壁细胞外泌体并通过尺寸排阻高效液相色谱法(SE-HPLC)进一步分析。将来自绒膜绒毛间充质干细胞(MSC)的外泌体的洗脱图谱与从含血清(“生长上清液”)和无血清(“无血清上清液”)的胎盘来源的贴壁细胞培养物获得的外泌体做比较。在与已知培养基污染物(图3A)的洗脱峰的比较中分析外泌体制剂的洗脱图谱(图3B-D,箭头)。

[0270] 绒膜绒毛MSC外泌体含有可检测水平的污染物甲状腺球蛋白和BSA(图3B)。生长上清液胎盘来源的贴壁细胞外泌体也含有可检测水平的甲状腺球蛋白和BSA(图3C),而无血清上清液胎盘来源的贴壁细胞外泌体不含可检测水平的任何此类污染物(图3D)。分离自生长上清液或无血清培养物的外泌体的洗脱图谱特征在于峰与阳性对照外泌体的峰一致。在无血清培养物外泌体的情况下,洗脱图谱在预测的外泌体洗脱级分中作为单一物质存在(图3D)。这些结果进一步证明分离的胎盘来源的贴壁细胞微泡是外泌体,并且与由在FBS的存在下生长的细胞制备的外泌体相比,分离自在无血清条件下生长的细胞的外泌体没有典型污染物。

[0271] 6.4.实施例4:胎盘来源的贴壁细胞外泌体分子标志物

[0272] 在本研究中,使用FACS检查在外泌体的表面上含有一组细胞表面标志物中的哪些,及与源自其它细胞类型的外泌体相比,哪些表面标志物是胎盘来源的贴壁细胞外泌体独有的。

[0273] 除表面标志蛋白外,已知外泌体可含小核酸,包括miRNA。外泌体中所含的miRNA的组成在外泌体所源自的细胞类型间不同,并且可通过本领域中已知的方法,包括实时PCR(RT-PCR)测定miRNA的存在和丰度。在这项研究中,检查胎盘来源的贴壁细胞外泌体的miRNA含量并与源自绒膜绒毛间充质干细胞的外泌体做比较。

[0274] 6.4.1.胎盘来源的贴壁细胞外泌体表面标志物

[0275] 通过FACS分析如同6.1部分中那样分离的胎盘来源的贴壁细胞外泌体,并且将表面标志物的组成与分离自绒膜绒毛MSC或前脂肪细胞MSC的外泌体做比较。确定来自这三种细胞类型的外泌体差异性地含有几种表面标志物(表1)。使用FACS分析,发现与来自绒膜绒毛MSC或前脂肪细胞MSC的外泌体相比,来自胎盘来源的贴壁细胞的外泌体含有许多在这些

外泌体中独有或富集的标志物。与分离自绒膜绒毛MSC或前脂肪细胞MSC的外泌体相比，胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有CD10和CD55，两者在两种间充质干细胞外泌体群体中均不存在。与两种间充质干细胞外泌体群体相比，胎盘来源的贴壁细胞外泌体还含有更高水平的CD49c、CD82、CD90和CD142，例如高0.5至1log的水平(表1)。相反，与两种间充质干细胞外泌体群体相比，胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有更低水平的CD164，例如低0.5至1log的水平(表1)。胎盘来源的间充质干细胞外泌体还含有可检测水平的CD295，其在前脂肪细胞MSC外泌体上未检测到(未示出)。如表1所示，每个条目中“+”号的数量与指定标志物的水平相关联，而“-”号表示无可检测水平的指定标志物。

[0276] 表1:与前脂肪细胞MSC外泌体和绒膜绒毛MSC外泌体相比胎盘来源的贴壁细胞外泌体的表面抗原

[0277]

抗原	胎盘来源的贴壁细胞外泌体	前脂肪细胞MSC外泌体	胎盘MSC外泌体
CD9	++	++	++
CD10	+	-	-
CD13	++	++	++

[0278]

CD29	++	++	++
CD44	+	+	++
CD49b	+	+/-	+
CD49c	++	-	+
CD55	+	-	-
CD59	++	++	++
CD63	++	++	++
CD73	++	+	++
CD81	+++	+++	+++
CD82	++	+	+
CD90	++	+	+
CD98	+	+	+
CD105	+	+/-	+
CD141	+	+	-
CD142	++	+	+
CD151	++	++	++
CD164	+	++	++
CD200	+	+	+

[0279] 6.4.2.胎盘来源的贴壁细胞外泌体miRNA标志物

[0280] 6.4.2.1.胎盘来源的贴壁细胞外泌体和绒膜绒毛间充质干细胞外泌体在其miRNA含量上不同

[0281] 使用Exoquick™沉淀法根据生产商的方案(System Biosciences)分离胎盘来源的贴壁细胞外泌体。3000xg离心培养物上清液15分钟，并丢弃所得团块。将两毫升所得上清液添加到10ml组织培养物上清液并倒置混合。在4℃下孵育所得混合物过夜。孵育后，1500xg

离心混合物30分钟，丢弃上清液并分离团块。1500xg再离心5分钟后通过抽吸去除剩余液体。使团块于200ul PBS中复水。

[0282] 裂解分离的胎盘来源的贴壁细胞外泌体和绒膜绒毛MSC外泌体(Salomon等，2013，PLOS ONE,8:7,e68451)并使用Ambion's mirVana miRNA分离试剂盒(Cat#1566)根据生产商的说明书分离RNA。简言之，在冰上用裂解/结合缓冲液(补充有miRNA均质添加剂)裂解外泌体10分钟，使用酸-苯酚:氯仿萃取法分离RNA，并且经乙醇洗涤而沉淀。50纳克的纯化RNA经逆转录并使用17种miRNA的探针集和对照RNA RNU44根据TaqMan® qPCR系统(Life Technologies)扩增样品。计算每份样品的Ct值。

[0283] 如图4A所示，与绒膜绒毛MSC相比，胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有更高水平的在三个组中的每一个中分析的所有miRNA。这些数据进一步表明，本文描述的胎盘来源的贴壁细胞外泌体在miRNA含量的基础上不同于绒膜绒毛间充质干细胞外泌体。与胎盘来源的贴壁细胞外泌体相比，对于绒膜绒毛间充质细胞外泌体而言，miRNA miR-451、miR-142-3p、miR-16-5p、miR-296-5p、miR-233-3p、miR-92、Let-7d*、miR-422a和miR-133b全部显示出大于2的Ct值差(参见表2)，表明这些miRNA在胎盘来源的贴壁细胞外泌体中显著更高的存在。所示数据来自一式三份进行的一项实验。

[0284] 表2:来自胎盘来源的贴壁细胞外泌体和绒膜绒毛间充质干细胞外泌体的miRNA的Ct值。

[0285]

miRNA 名称	胎盘来源的贴壁细胞 Ct	绒膜绒毛间充质干细胞 Ct	差异
miR-451	26.906	37.331	10.425
miR-142-3p	30.405	38.031	7.626
miR-16-5p	20.264	26.87	6.606
miR-296-5p	25.017	30.786	5.769
miR-223-3p	27.951	33.437	5.486
miR-92	19.689	24.958	5.269
Let-7d*	25.905	30.658	4.753
miR-422a	29.413	31.999	2.586
miR-133b	31.443	33.806	2.363

[0286] 6.4.3.胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有血管生成蛋白

[0287] 为了分析胎盘外泌体内容物的血管生成分泌细胞因子，使用Human Mag Bead试剂盒，HAGP1MAG-12K(Millipore)进行Angioplex。该试剂盒含有用于检测以下17种细胞因子的分析物:瘦素、内皮糖蛋白、卵泡抑素、HGF、血管生成素-2、G-CSF、FGF-1、FGF-2、VEGF-A、VEGF-C、VEGF-D、EGF、内皮素-1、BMP-9、IL-8、HB-EGF和PLGF。根据生产商推荐的方案分析外泌体。

[0288] 如实施例1中所述分离生长外泌体和无血清外泌体。使用100μg蛋白浓缩制剂于PBS中制备外泌体，将其稀释10.8x用于血管生成分析物检测分析。在水浴中超声处理外泌体以使外泌体分散用于表面标志物分析，或使用探针以裂解外泌体用于外泌体内部分析。作为比较，使用相同方法分析清除了细胞的生长培养基(“经预富集调节的”)和超速离心去

除了外泌体和其它碎片的生长培养基(“排去外泌体的”)。

[0289] 胎盘来源的贴壁细胞外泌体展示出可检测水平的几种细胞因子,包括HGF和VEGF-A(图4B)、内皮糖蛋白和瘦素(图4C)、血管生成素-2、G-CSF、卵泡抑素、FGF-2和IL-8(未示出)。在试验的所有生长培养基中这些细胞因子几乎全部以较低水平存在,表明细胞因子水平特别与外泌体相关。这些数据表明胎盘来源的贴壁细胞外泌体含有已知会促进血管生成的蛋白质因子。

[0290] 6.5.实施例5:胎盘来源的贴壁细胞外泌体标记和细胞摄取

[0291] 为确定分离的胎盘来源的贴壁细胞外泌体是否能够将其内容物递送给培养的细胞,使用在TruCulture管中获得的血液进行外泌体摄取测定。用2μM荧光团PKH26,通过将2μl PKH26添加到1ml外泌体悬浮液中来标记分离的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(参见6.1部分)并且在室温下于黑暗中孵育5分钟。使用Centricon 10kDa分子量筛截柱根据生产商的说明书回收外泌体。将标记外泌体添加到200μl TruCulture血液制剂中并且在37℃下在5% CO_2中孵育24小时。孵育后,用白细胞系特异性抗体在室温下于黑暗中为100μl血液染色15分钟。孵育后,用ACK裂解溶液裂解红血细胞并用PBS、1%FBS洗涤3X。通过FlowJo软件中的谱系特异性门控和PKH26荧光测定特定白细胞群体上的外泌体摄取。如图5所示,几个谱系类型对于PKH26而言阳性染色,表明胎盘来源的贴壁细胞外泌体可以被培养的细胞摄取。

[0292] 6.6.实施例6:胎盘来源的贴壁细胞外泌体增强人血管内皮细胞的增殖

[0293] 按14,000个细胞/孔的浓度将人血管内皮细胞(HUVEC)平板接种在基质胶(matrigel)上并且用递增量的不存在血清的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(参见6.1部分),$3x10^4$个不存在血清的胎盘来源的贴壁细胞或单独的培养基孵育。如图6所示,HUVEC的增殖与添加到培养物中的胎盘来源的贴壁细胞外泌体的浓度相关。这些数据表明胎盘来源的贴壁细胞外泌体可以增强培养的人细胞的增殖。

[0294] 6.7.实施例7:外泌体介导的对全血中的细胞因子生成的影响

[0295] 6.7.1.实验设计

[0296] 使用由于免疫原性刺激在血液中表达细胞因子的体外模型。在培养管中,用1ml人全血和递增量的胎盘来源的贴壁细胞外泌体(0、6、12、24、47和94μg/ml)或胎盘来源的贴壁细胞(2.5、5、10、20或$40x10^3$个细胞)孵育2ml的Myriad RBM TruCulture™培养基1小时,之后用10ng/ml脂多糖(LPS)刺激24小时。使用HCYTOMAG-60K|MILLIPLEX MAP人细胞因子/趋化因子磁珠组-免疫学多重测定(Millipore)来检测培养的血液中生成的细胞因子。

[0297] 6.7.2.胎盘来源的贴壁细胞和胎盘来源的贴壁细胞外泌体改变全血中的细胞因子生成

[0298] 如图7A所示,胎盘来源的贴壁细胞和胎盘来源的贴壁细胞外泌体以剂量依赖方式降低特定细胞因子的水平。当在LPS刺激的全血中用递增量的胎盘来源的贴壁细胞或胎盘来源的贴壁细胞外泌体孵育时,促炎性细胞因子TNF-α、IL-12p40、MIP1b和IL-1B全部减少。相反,在经刺激的全血中MCP1水平被胎盘来源的贴壁细胞和胎盘来源的贴壁细胞外泌体两者增加,表明胎盘来源的贴壁细胞和胎盘来源的贴壁细胞外泌体可以影响培养的细胞中的细胞因子生成。

[0299] 6.7.3.胎盘来源的贴壁细胞和胎盘来源的贴壁细胞外泌体差异性调节经刺激的

血液中细胞因子的子集

[0300] 如图7B所示,胎盘来源的贴壁细胞外泌体不提高在胎盘来源的贴壁细胞的存在下提高的特定细胞因子的水平。在经刺激的全血中在胎盘来源的贴壁细胞外泌体的存在下,IFN-γ、IL-6、IL-8和GM-CSF、与炎症相关的细胞因子未增加。这个发现表明胎盘来源的贴壁细胞外泌体对培养的血液发挥与其所源自的细胞有差异的作用。

[0301] 6.8.实施例8:胎盘来源的贴壁细胞外泌体促进体外血管生成

[0302] 按28,000个细胞/孔的密度将第3或4代的人血管内皮细胞(HUVEC)平板接种在48孔微量滴定盘中。将细胞保持在GRF-Matrigel上0.5mL的PBD或EBM-2培养基(Lonza)中3天。然后用不同浓度的从含血清("生长外泌体")或无血清("SF外泌体")的胎盘来源的贴壁细胞培养物分离的胎盘来源的贴壁细胞外泌体孵育HUVEC。每两小时监测HUVEC生长模式,包括结节形成和管区段长度(血管生成潜力的替代),总共持续18-19小时。使用IncuCyte活细胞成像系统(Essen BioScience)测定HUVEC生长参数并使用ImageJ量化。

[0303] 6.8.1.生长外泌体和无血清外泌体促进HUVEC管形成

[0304] 如图8A所示,生长外泌体以剂量依赖方式增加培养的HUVEC中的管区段长度和分支点频率。与用PBS孵育的HUVEC相比,分离纯化的浓度范围为5μg/孔至100μg/孔的外泌体增加区段长度(8A,左侧)。类似地,用生长外泌体处理的HUVEC与用PBS处理的HUVEC相比具有更高数量的结节(8A,右侧)。

[0305] 与用生长外泌体所观察到的结果相似,分离自无血清培养物的胎盘来源的贴壁细胞外泌体增加HUVEC管区段长度和分支点频率。如图8B所示,与在PBS的存在下培养的HUVEC相比,在5μg/孔至100μg/孔的浓度范围内的外泌体的存在下培养的HUVEC增加管区段长度(8B,左侧)和分支点频率(8B,右侧)。这些结果表明,分离的胎盘来源的贴壁细胞外泌体可以促进体外血管细胞增殖和血管分支频率,表明了胎盘来源的贴壁细胞外泌体作为促血管生成因子的作用。

[0306] 6.8.2.胎盘来源的贴壁细胞外泌体改变HUVEC细胞中的基因表达

[0307] 第3代HUVEC细胞(Lonza批次8F3265;032514AR)在完全EGM-2培养基中扩增到第4代。收获细胞,高密度接种在纤连蛋白涂层板上,并允许附着3小时直至～100％汇合。在EBM-2培养基中在不存在血清的情况下培养细胞～2小时。用胎盘来源的贴壁细胞培养物上清液、50μg胎盘来源的贴壁细胞外泌体或作为对照的培养基孵育培养的HUVEC。在4、24和48小时收集HUVEC上清液和细胞裂解物,并且在这些早期、中期和晚期时间点分析基因表达。

[0308] 使用Qiagen's Rneasy Mini试剂盒(Cat#74134)按照生产商推荐的方案分离RNA。使用VILO RT MM使3.5ug的RNA逆转录并使用Taqman快速通用PCR主混合液(Taqman Fast Universal PCR Master Mix)和Taqman人VEGF通路阵列96孔固定板(Taqman Human VEGF Pathway Array 96-well Fast Plate)通过RT-PCR分析40ng的cDNA。

[0309] VEGF通路阵列的结果示于图8C(阴影越深指示表达水平越高)。值得注意的是,HUVEC在任何条件下都不能表达ACTA1、BAD、CASP9、MAP2K1、PLCG1和SHC1,但是在用胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或胎盘来源的贴壁细胞培养物上清液处理的HUVEC中26/44VEGF通路基因上调(图8C)。重要的是,已知这些基因中的许多在血管生成中起重要作用。

[0310] 与对照处理的HUVEC相比,胎盘来源的贴壁细胞外泌体和/或胎盘来源的贴壁细胞培养物上清液改变了几个基因表达子类,包括与以下有关的基因:(i)细胞运动性(图8D),

(ii)细胞增殖(图8E-F),和(iii)一氧化氮生成、细胞透性和细胞存活率(图8G)。这些结果表明,胎盘来源的贴壁细胞外泌体能够改变血管细胞的基因表达程序,例如朝增殖状态改变。这些结果还证明外泌体的作用可不同于由胎盘来源的贴壁细胞培养物上清液所诱导的那些作用。

[0311] 6.8.3.实施例9:胎盘来源的贴壁细胞外泌体改变巨噬细胞中的细胞因子生成

[0312] 在GM-CSF的存在下培养分离的单核细胞7-10天,直至分化为巨噬细胞。将$5x10^4$个巨噬细胞与胎盘来源的贴壁细胞外泌体或胎盘来源的贴壁细胞和100ng/mL LPS共同培养22-24小时。使用人免疫学多重组(Millipore,HCYTO-MAG-60K)分析分泌的细胞因子。根据生产商的方案使用Luminex FlexMAP-3D系统进行测定。

[0313] 如图9A所示,胎盘来源的贴壁细胞和胎盘来源的贴壁细胞外泌体以剂量依赖方式改变由单核细胞来源的巨噬细胞所生成的特定细胞因子的水平。具体地,当用递增量的胎盘来源的贴壁细胞外泌体在经LPS刺激的巨噬细胞的存在下孵育时,TNF-α和MCP-1均减少。胎盘来源的贴壁细胞未降低巨噬细胞培养物中MCP-1的水平。

[0314] 如图9B所示(左侧、中央),胎盘来源的贴壁细胞外泌体和胎盘来源的贴壁细胞均阻抑培养的巨噬细胞中的TNF-α分泌,同时胎盘来源的贴壁细胞外泌体而非胎盘来源的贴壁细胞广泛地阻抑培养的巨噬细胞中的细胞因子分泌(例如,IL-8分泌)。值得注意的是,这与在全血中所观察到的细胞因子表达相反,(参见实施例7)。这些结果表明胎盘来源的贴壁细胞外泌体可以按不同于外泌体所源自的细胞的方式改变培养的免疫细胞中的细胞因子表达。当用裂解的胎盘来源的贴壁细胞外泌体孵育单核细胞来源的巨噬细胞时,IL-8阻抑在与用完整的胎盘来源的贴壁细胞外泌体孵育的培养物相比时减弱(图9B,右侧)。这些结果表明观察到的外泌体作用是由于外泌体自身的存在所引起的,不仅仅是由于构成外泌体的组分的混合物所引起的。

[0315] 等效方案:

[0316] 本公开在范围上不受本文描述的具体实施方案的限制。实际上,除描述的那些以外,对本文提供的主题的各种修改从前面的描述和附图看将对本领域的技术人员变得显而易见。此类修改旨在落入所附权利要求书的范围内。

[0317] 本文引用了各种出版物、专利和专利申请,其公开内容通过引用整体并入。

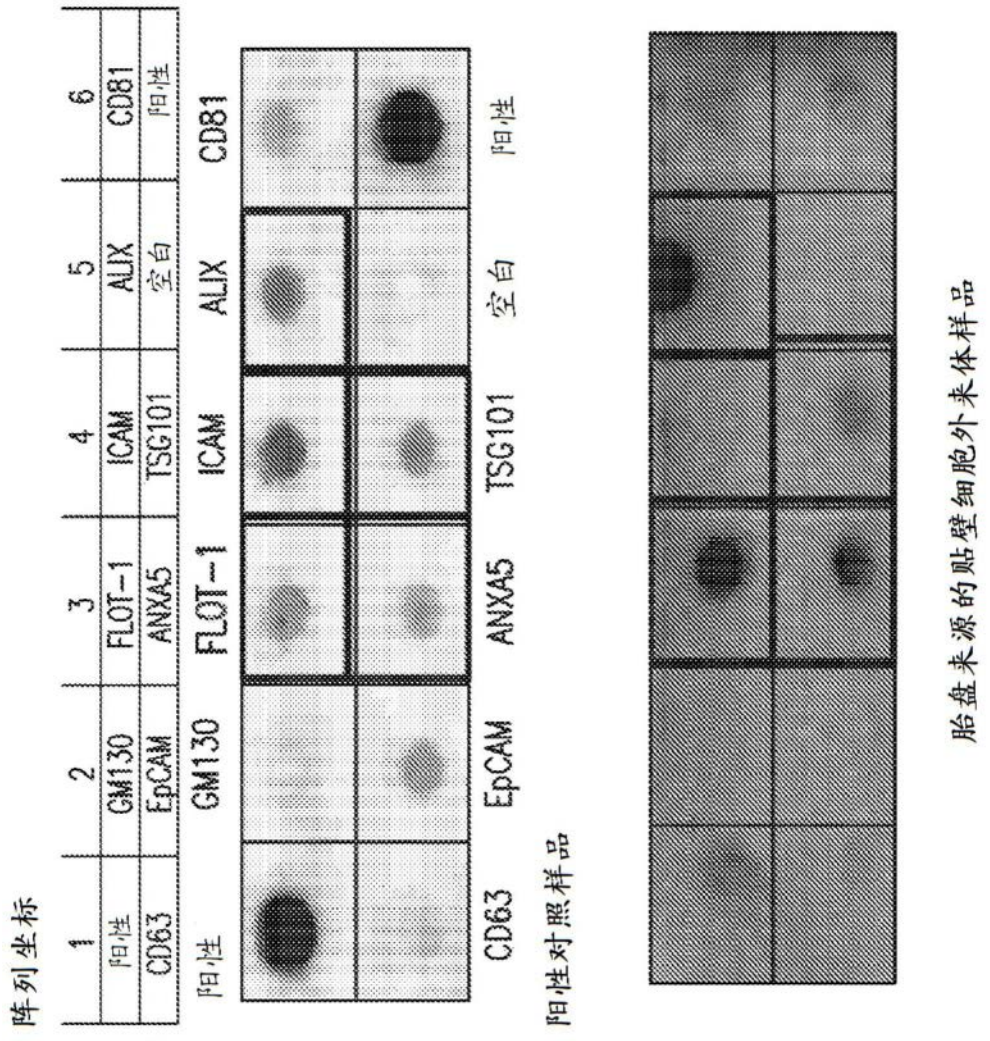

阵列坐标
1
2
3
4
5
6
A
阳性
GM130
FLOT-1
ICAM
ALIX
CD81
B
CD63
EpCAM
ANXA5
TSG101
空白
阳性
阳性
GM130
FLOT-1
ICAM
ALIX
CD81
CD63
EpCAM
ANXA5
TSG101
空白
阳性
阳性对照样品
胎盘来源的贴壁细胞外来体样品

图1

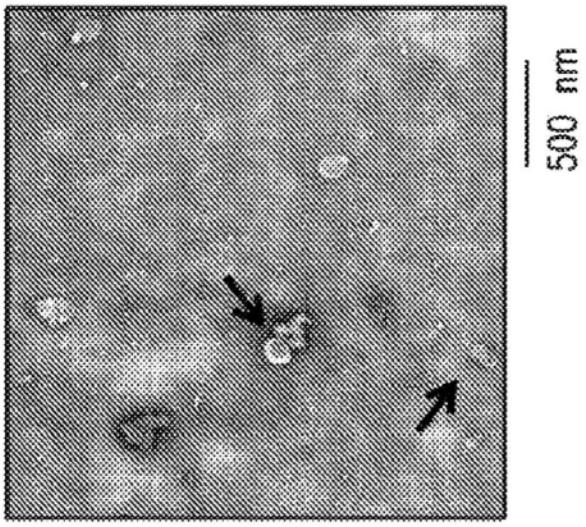


图2A

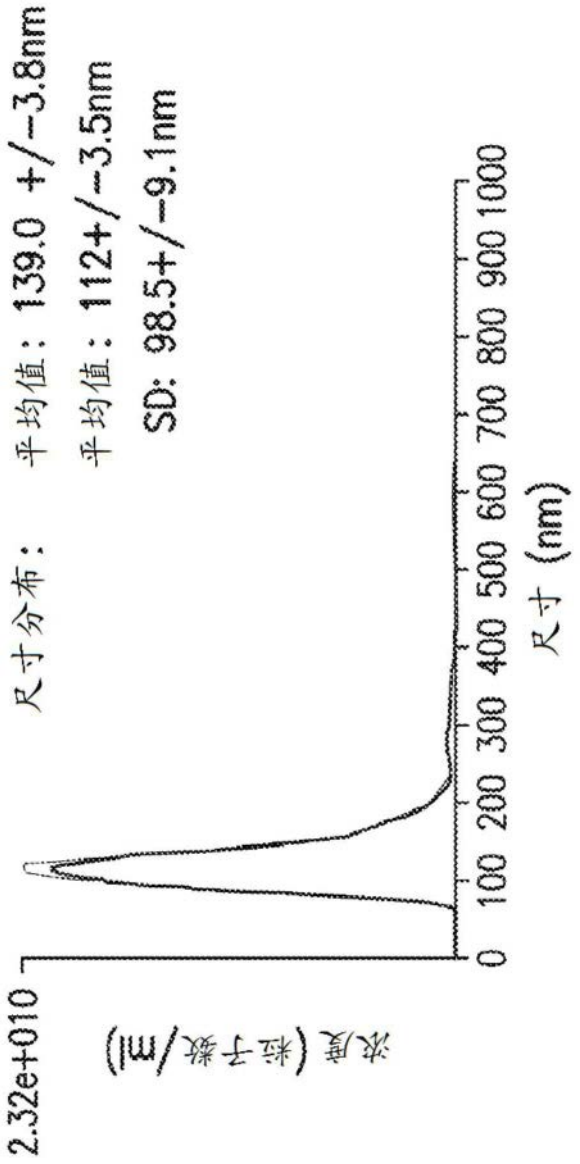

尺寸分布：
平均值：139.0 +/-3.8nm
平均值：112+/-3.5nm
SD: 98.5+/-9.1nm
浓度 (粒子数/ml)
2.32e+010
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
尺寸 (nm)

图2B

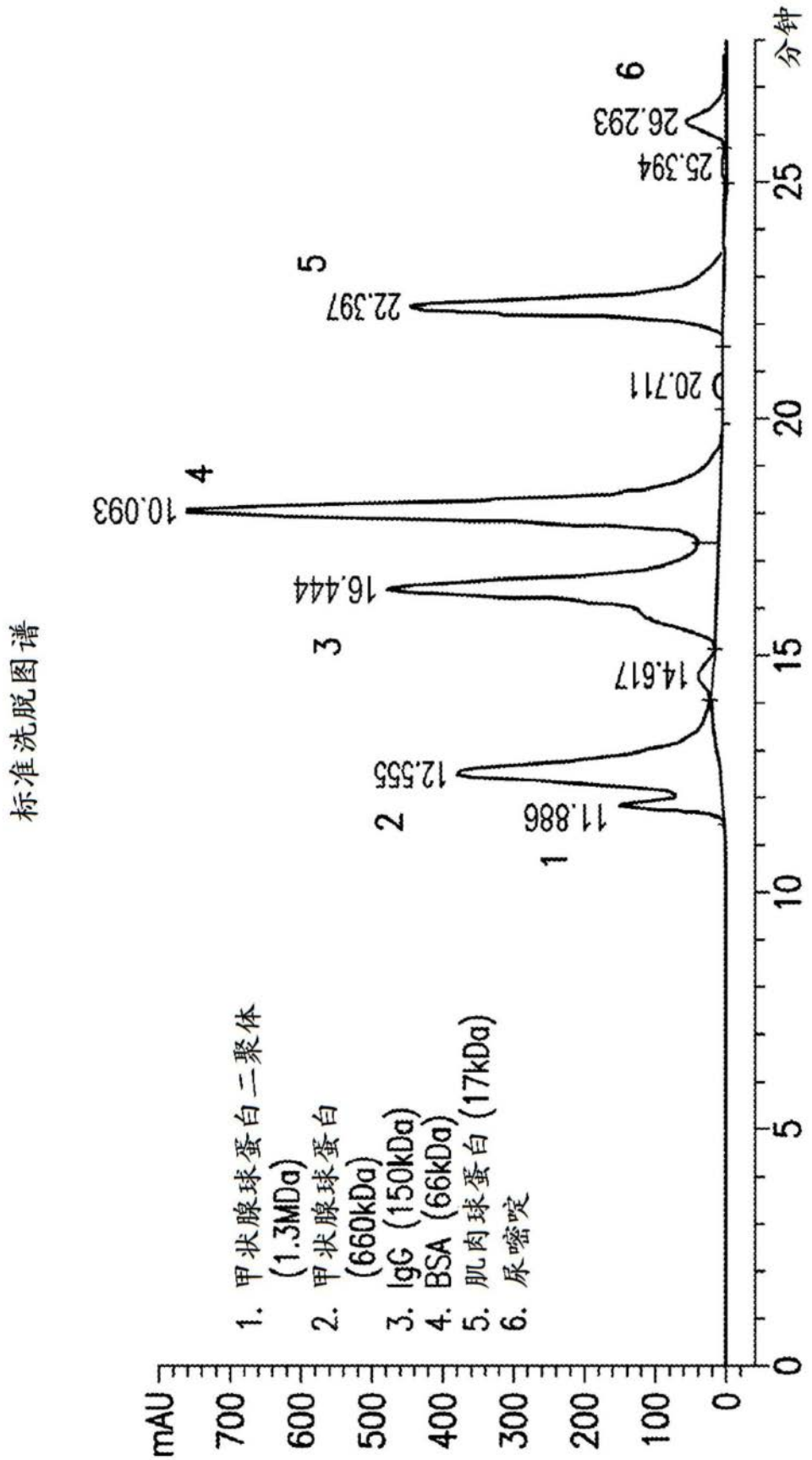

标准洗脱图谱
mAU
700
600
500
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
分钟
1. 甲状腺球蛋白二聚体 (1.3MDa)
2. 甲状腺球蛋白 (660kDa)
3. IgG (150kDa)
4. BSA (66kDa)
5. 肌肉球蛋白 (17kDa)
6. 尿嘧啶
1
11.886
2
12.555
14.617
3
16.444
4
10.093
20.711
5
22.397
6
25.394
26.293

图3A

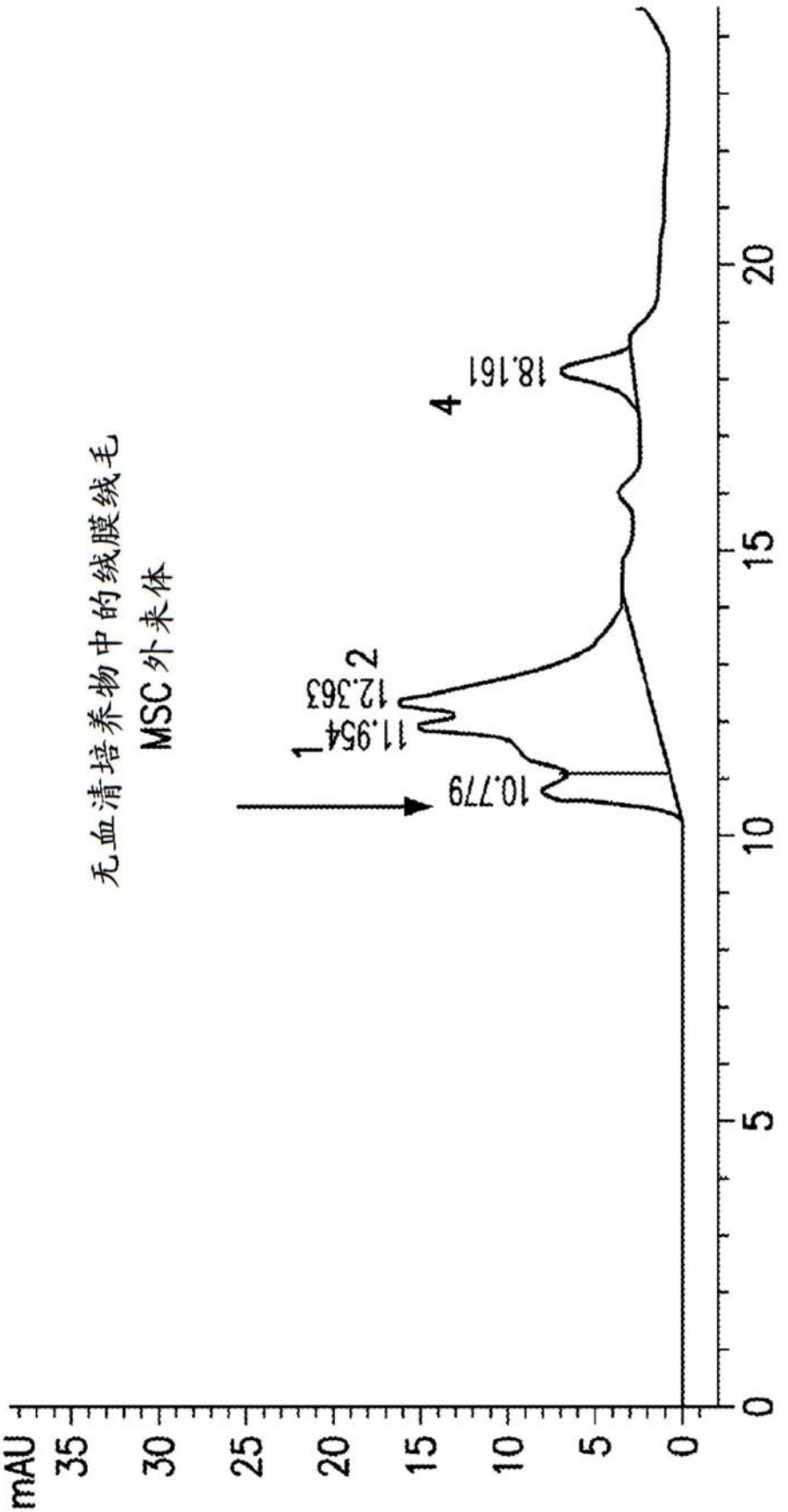

无血清培养物中的绒膜绒毛
MSC外来体
mAU
35
30
25
20
15
10
5
0
0
5
10
15
20
10.779
1
11.954
12.363
2
18.161
4

图3B

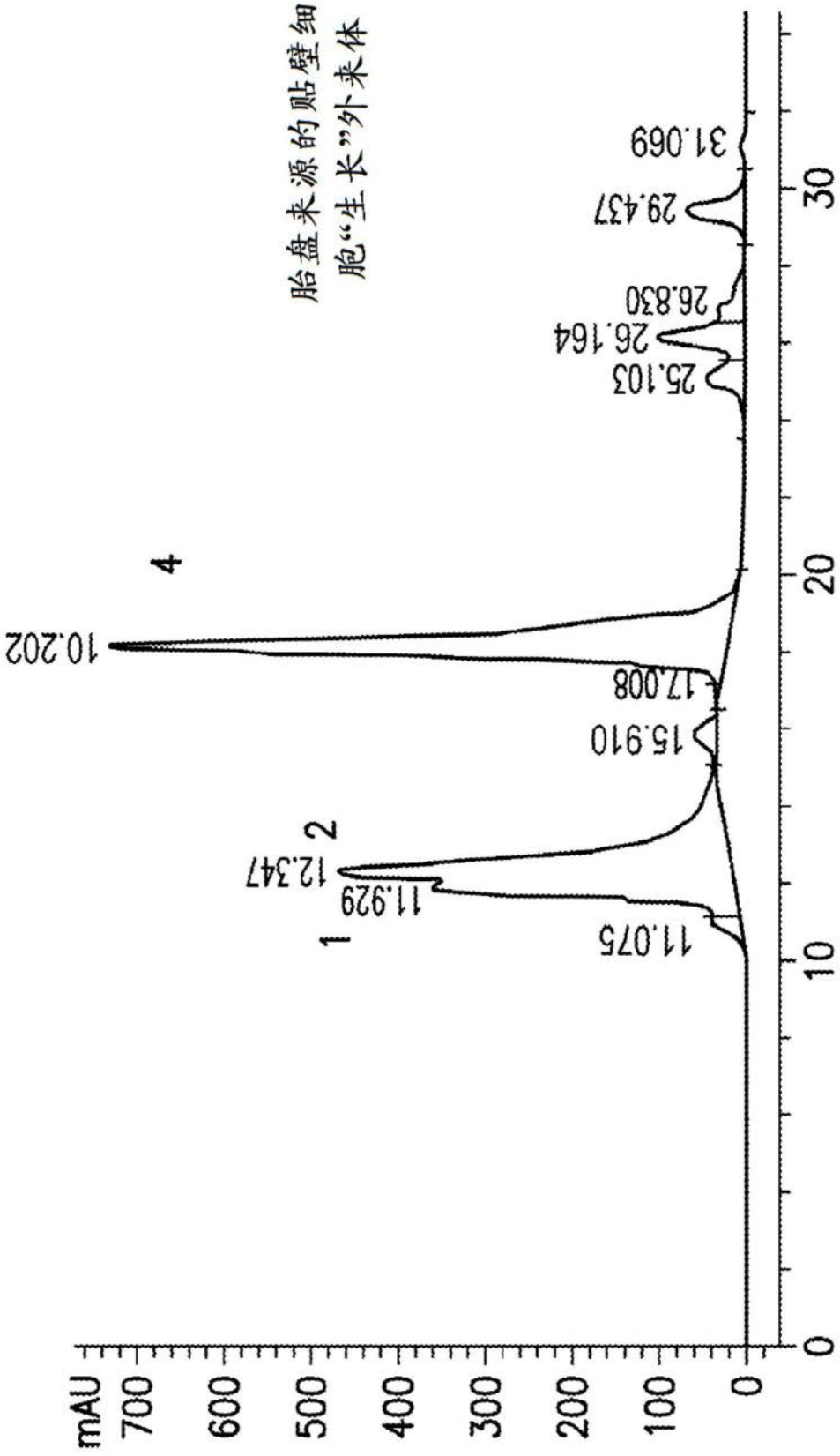

胎盘来源的贴壁细胞“生长”外来体
mAU
700
600
500
400
300
200
100
0
0
10
20
30
11.075
11.929
12.347
15.910
17.008
10.202
25.103
26.164
26.830
29.437
31.069
1
2
4

图3C

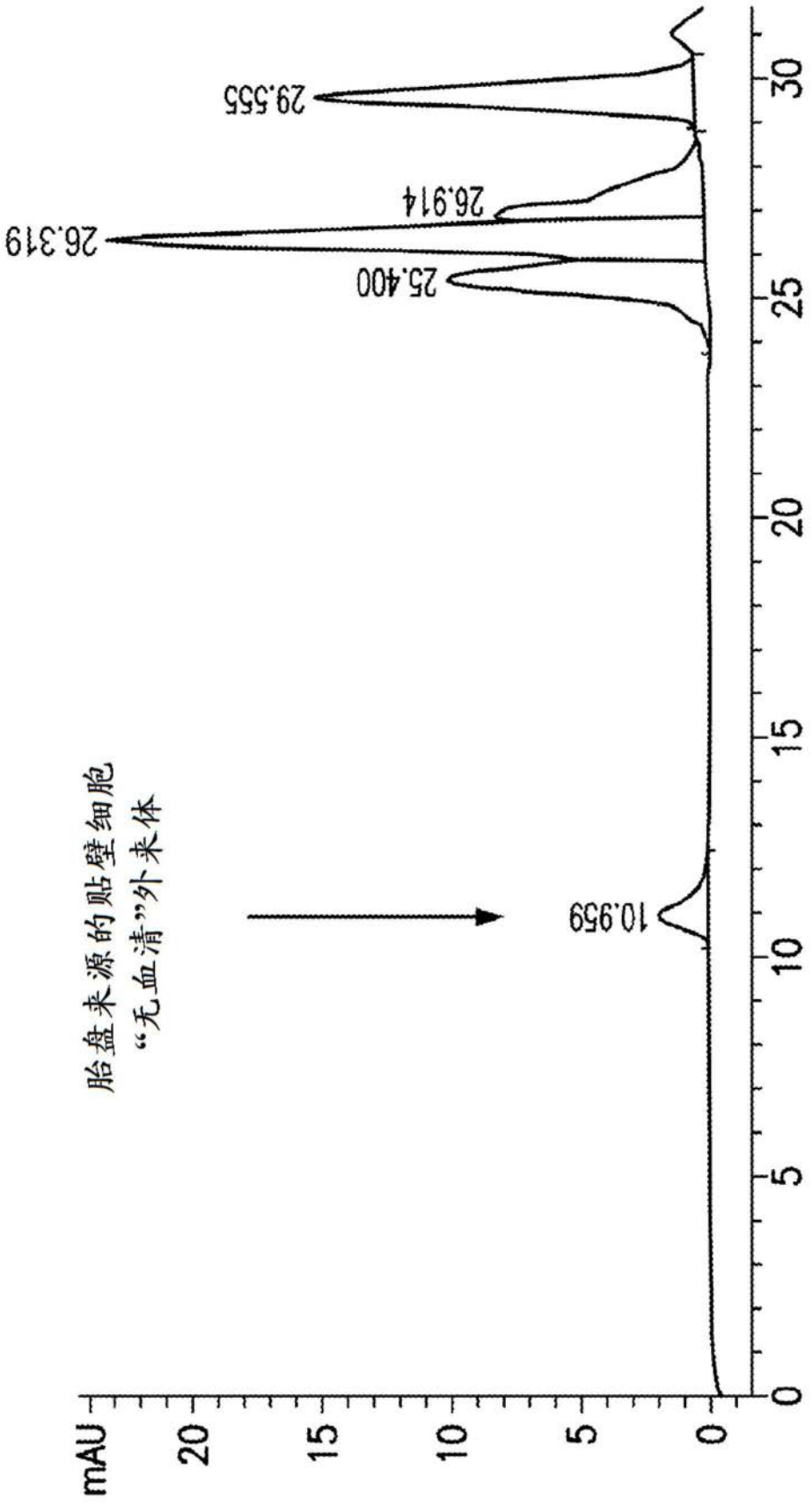

胎盘来源的贴壁细胞
“无血清”外来体
mAU
0
5
10
15
20
0
5
10
15
20
25
30
10.959
25.400
26.319
26.914
29.555

图3D

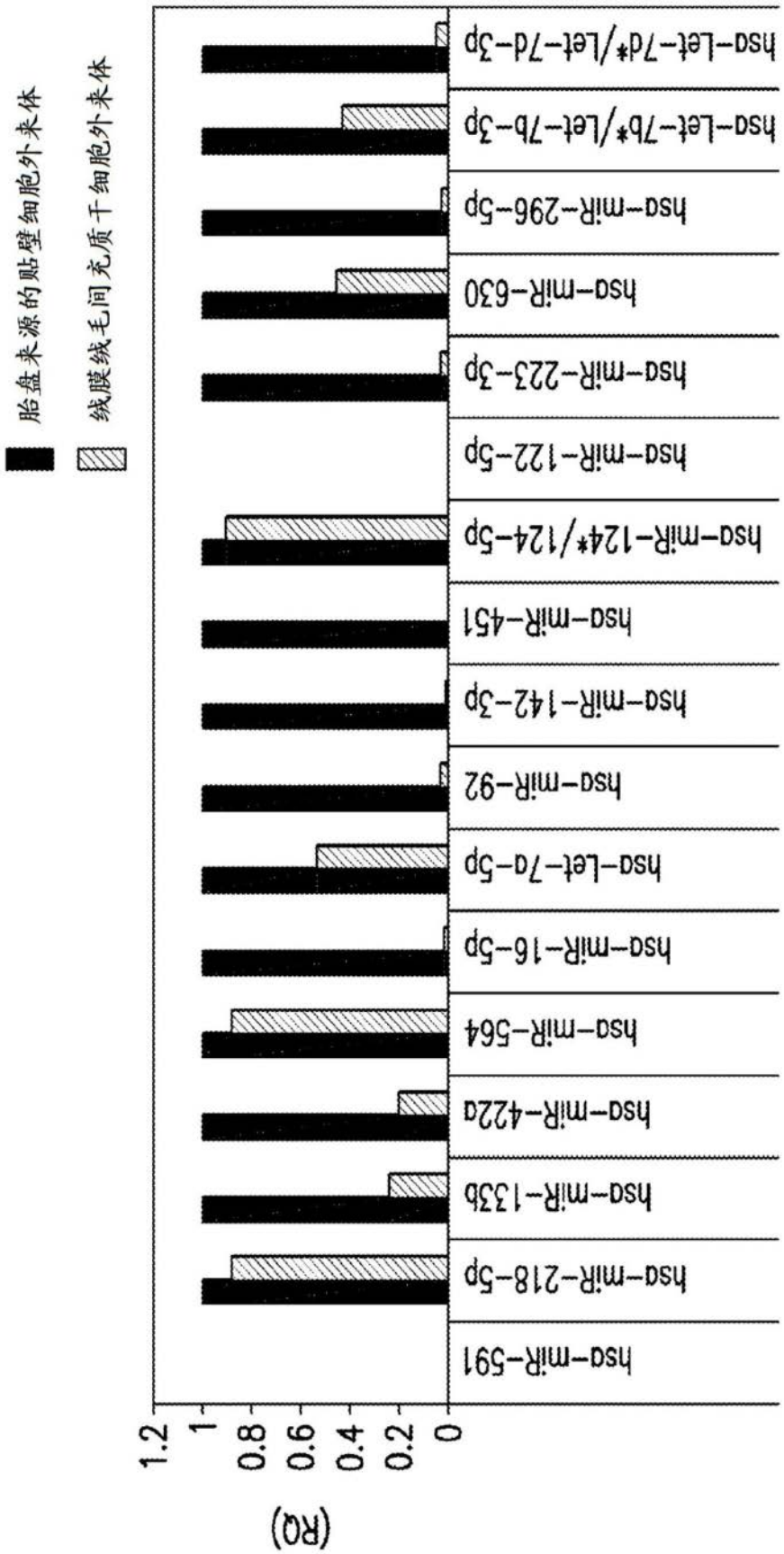

胎盘来源的贴壁细胞外来体
绒膜绒毛间充质干细胞外来体
(RQ)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
hsa-miR-591
hsa-miR-218-5p
hsa-miR-133b
hsa-miR-422a
hsa-miR-564
hsa-miR-16-5p
hsa-Let-7a-5p
hsa-miR-92
hsa-miR-142-3p
hsa-miR-451
hsa-miR-124*/124-5p
hsa-miR-122-5p
hsa-miR-223-3p
hsa-miR-630
hsa-miR-296-5p
hsa-Let-7b*/Let-7b-3p
hsa-Let-7d*/Let-7d-3p

图4A

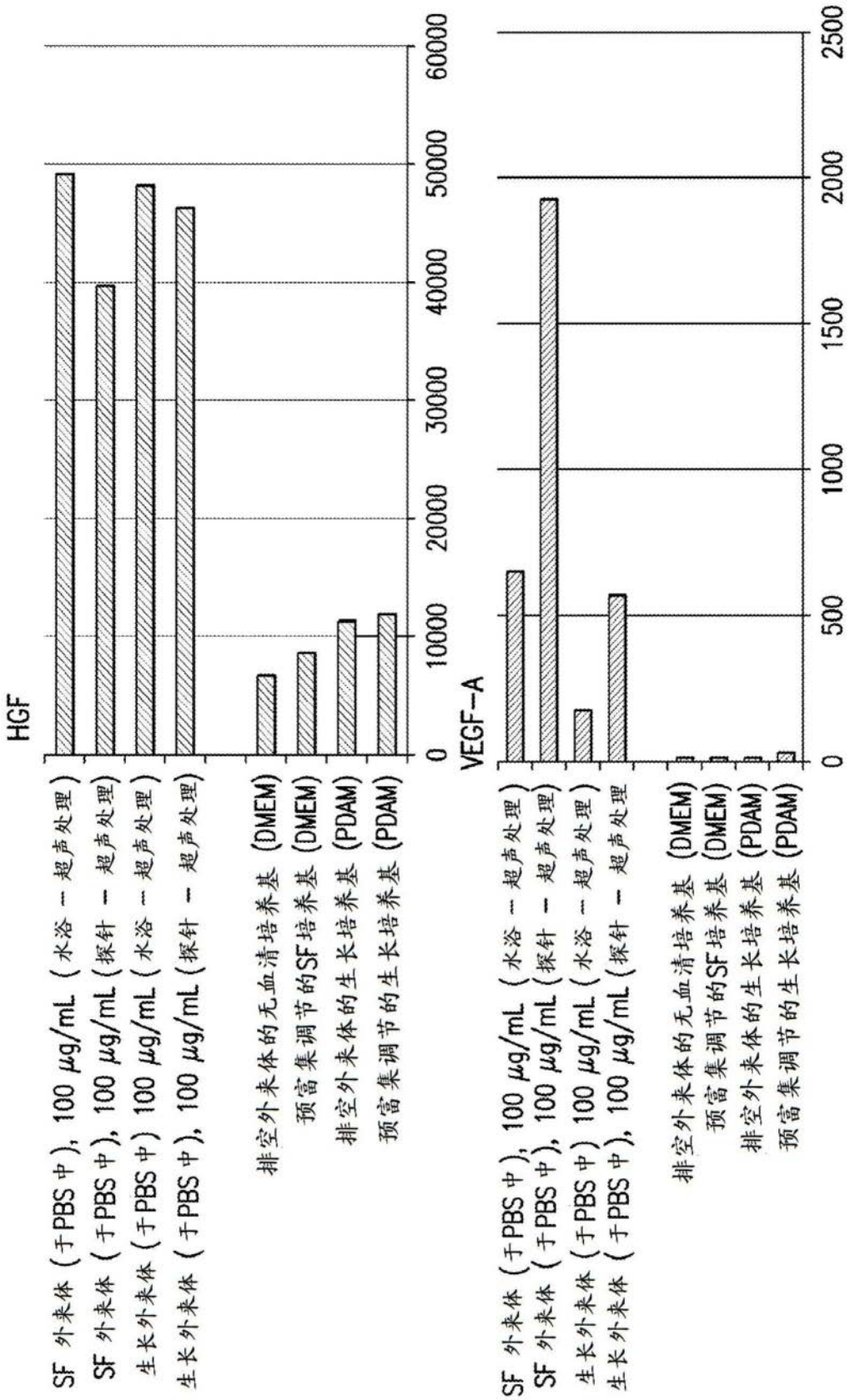

HGF
0
10000
20000
30000
40000
50000
60000
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（水浴－超声处理）
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针－超声处理）
生长外来体（于PBS中）100 μg/mL（水浴－超声处理）
生长外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针－超声处理）
排空外来体的无血清培养基（DMEM）
预富集调节的SF培养基（DMEM）
排空外来体的生长培养基（PDAM）
预富集调节的生长培养基（PDAM）
VEGF-A
0
500
1000
1500
2000
2500
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（水浴－超声处理）
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针－超声处理）
生长外来体（于PBS中）100 μg/mL（水浴－超声处理）
生长外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针－超声处理）
排空外来体的无血清培养基（DMEM）
预富集调节的SF培养基（DMEM）
排空外来体的生长培养基（PDAM）
预富集调节的生长培养基（PDAM）

图4B

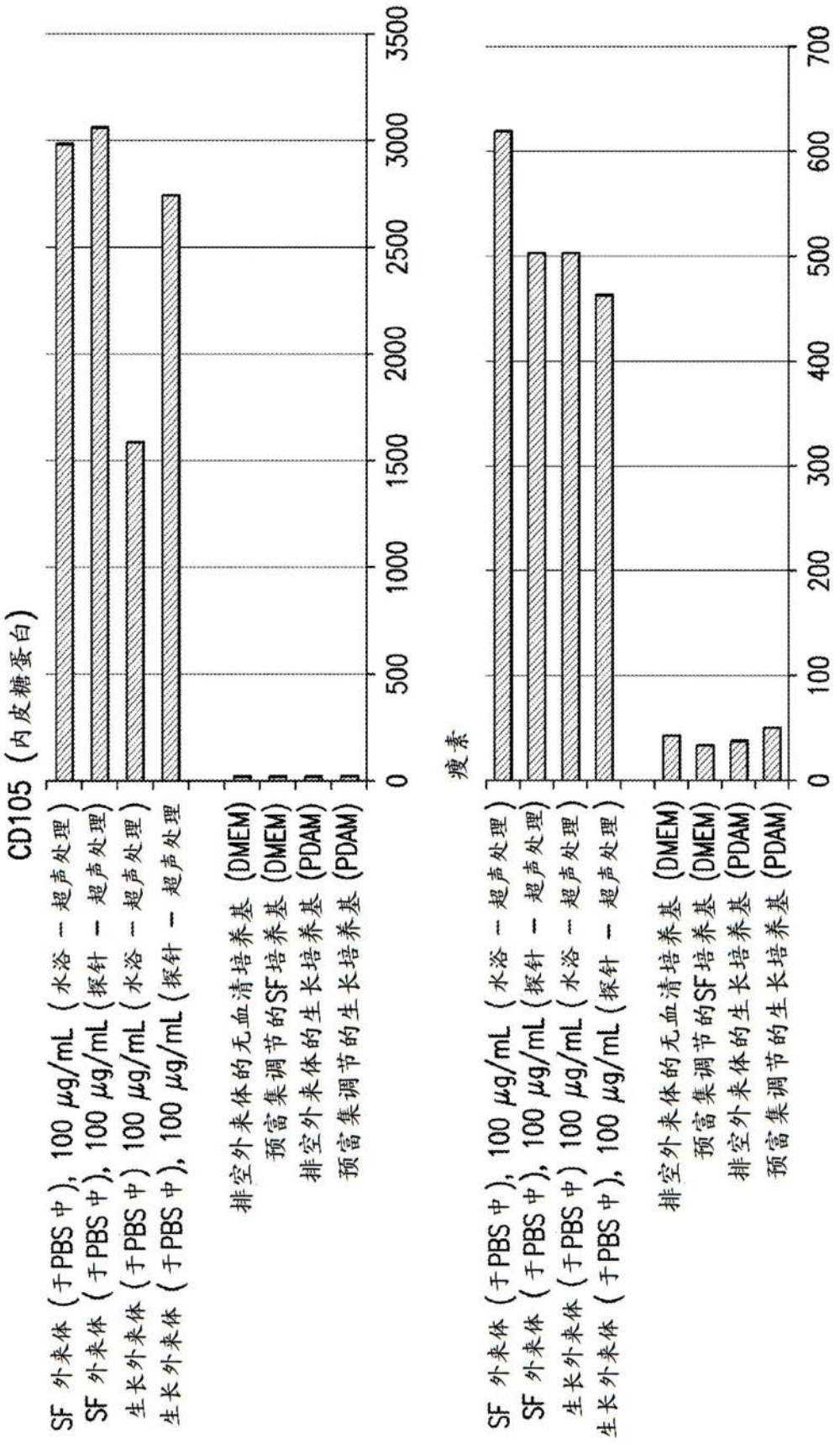

CD105（内皮糖蛋白）
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（水浴 – 超声处理）
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针 – 超声处理）
生长外来体（于PBS中）100 μg/mL（水浴 – 超声处理）
生长外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针 – 超声处理
排空外来体的无血清培养基（DMEM）
预富集调节的SF培养基（DMEM）
排空外来体的生长培养基（PDAM）
预富集调节的生长培养基（PDAM）
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
3500
瘦素
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（水浴 – 超声处理）
SF 外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针 – 超声处理）
生长外来体（于PBS中）100 μg/mL（水浴 – 超声处理）
生长外来体（于PBS中），100 μg/mL（探针 – 超声处理）
排空外来体的无血清培养基（DMEM）
预富集调节的SF培养基（DMEM）
排空外来体的生长培养基（PDAM）
预富集调节的生长培养基（PDAM）
0
100
200
300
400
500
600
700

图4C

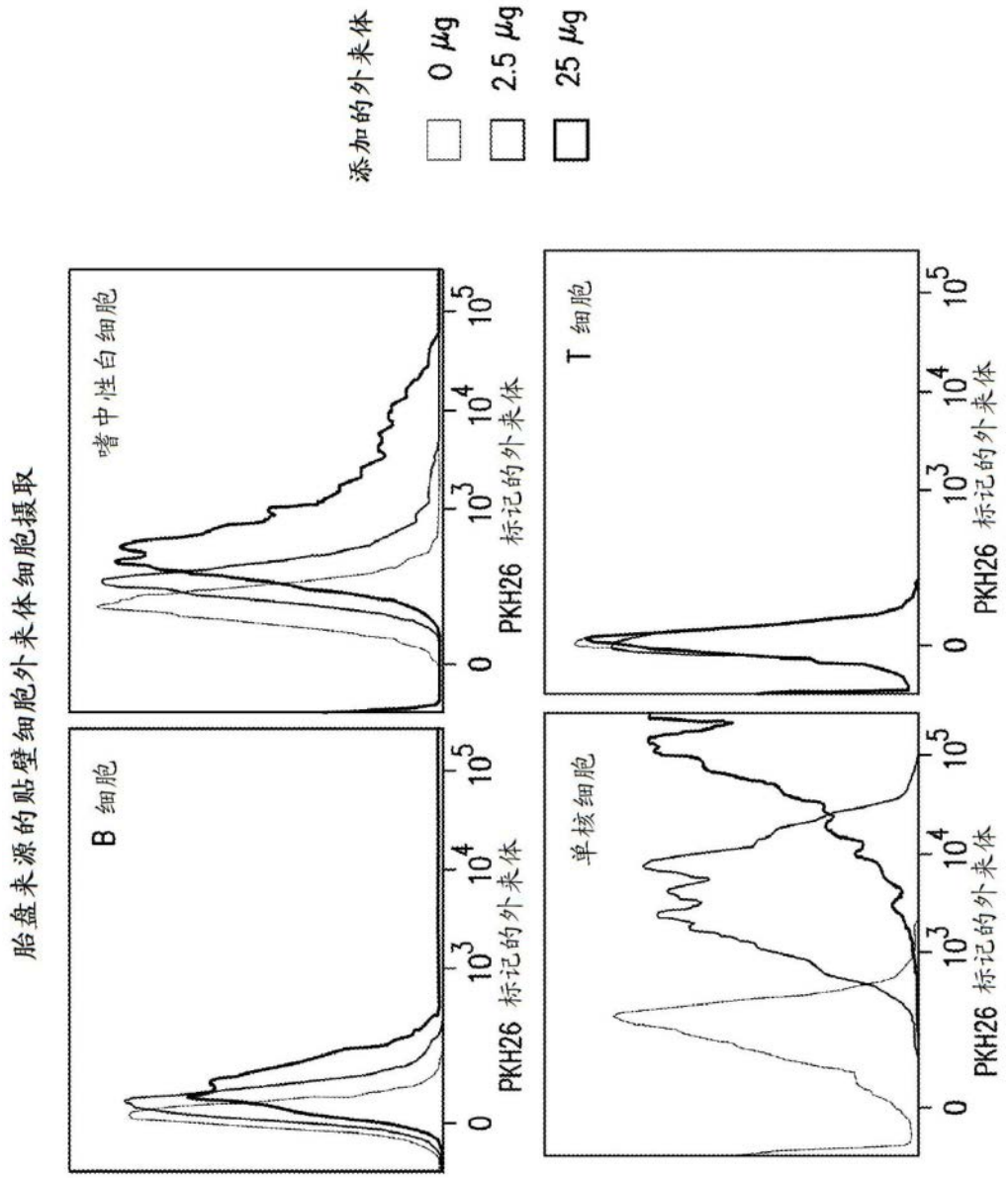

胎盘来源的贴壁细胞外来体细胞摄取
添加的外来体
0 μg
2.5 μg
25 μg
B 细胞
嗜中性白细胞
单核细胞
T 细胞
PKH26 标记的外来体
0
10^3
10^4
10^5

图5

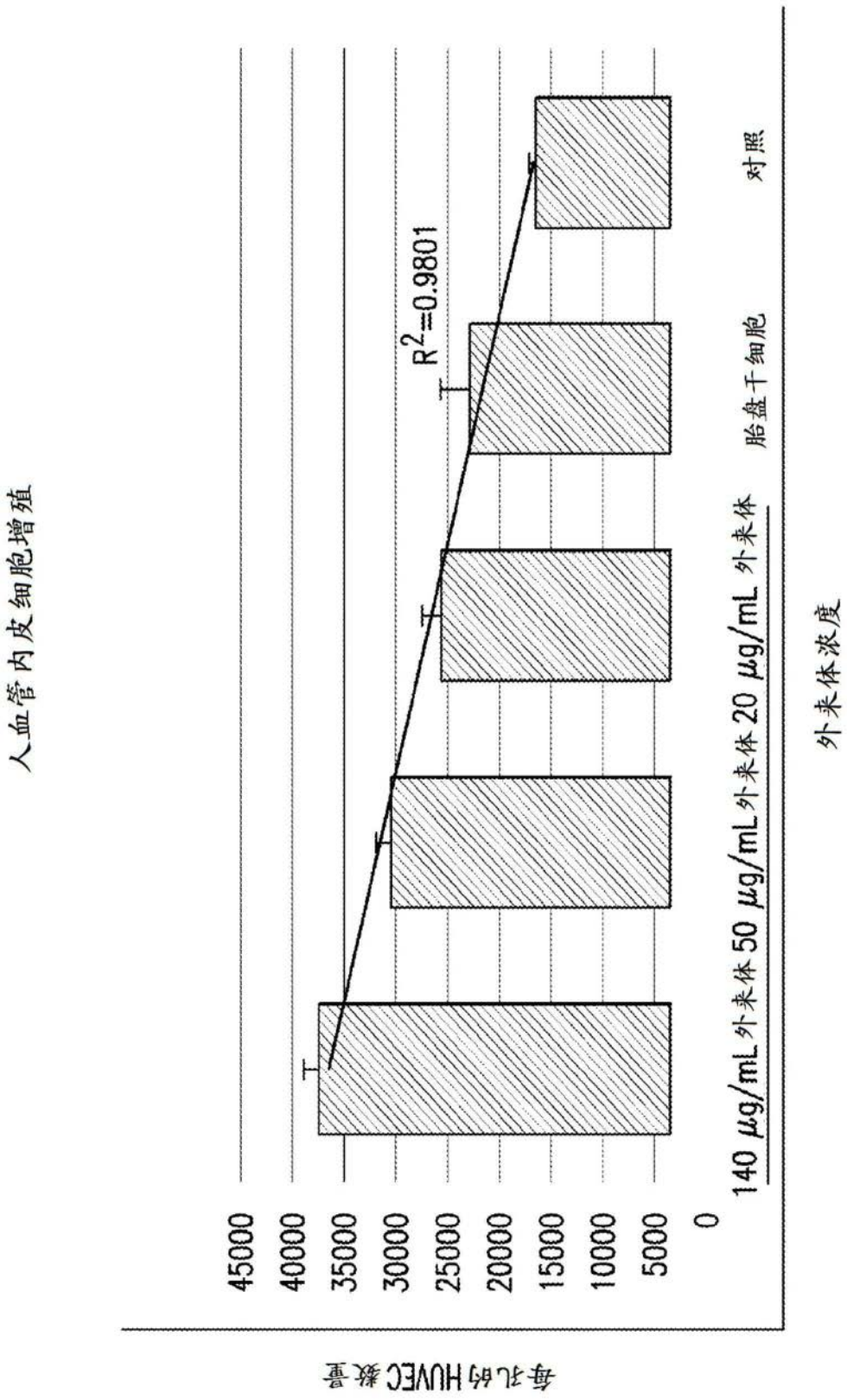

人血管内皮细胞增殖
每孔的HUVEC数量
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
R^2=0.9801
140 μg/mL外来体
50 μg/mL外来体
20 μg/mL 外来体
胎盘干细胞
对照
外来体浓度

图6

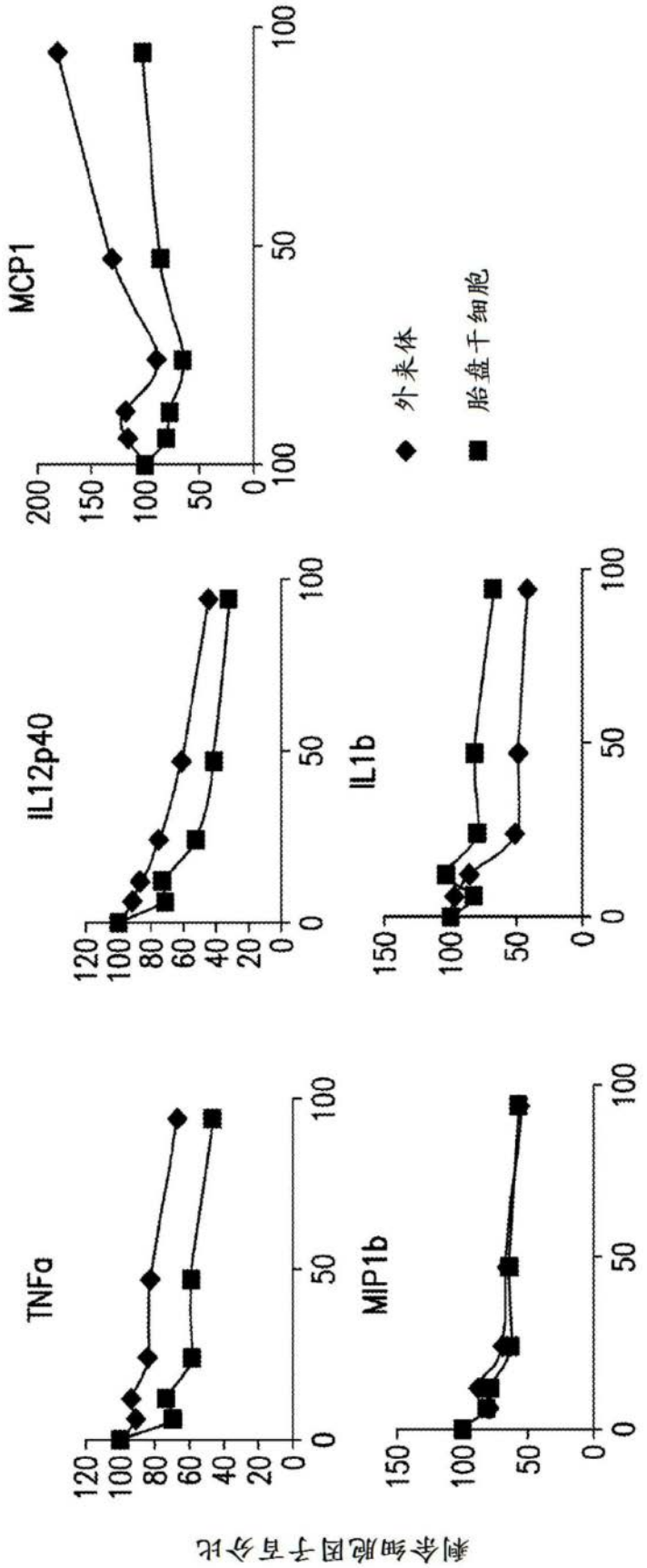


图7A

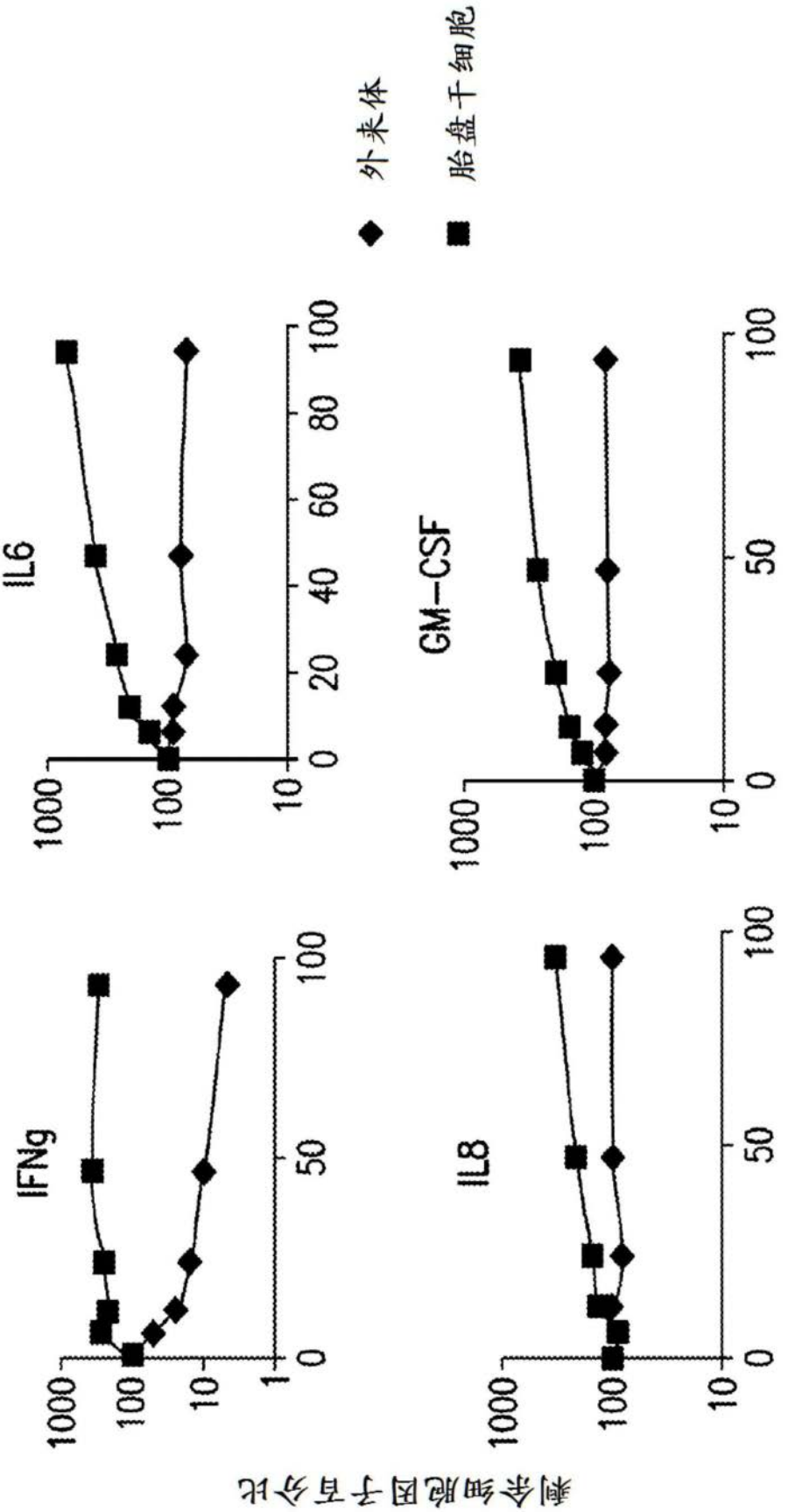

外来体
胎盘干细胞
IL6
GM-CSF
IFNg
IL8
1000
100
10
1
0
20
40
60
80
100
50
剩余细胞因子百分比

图7B

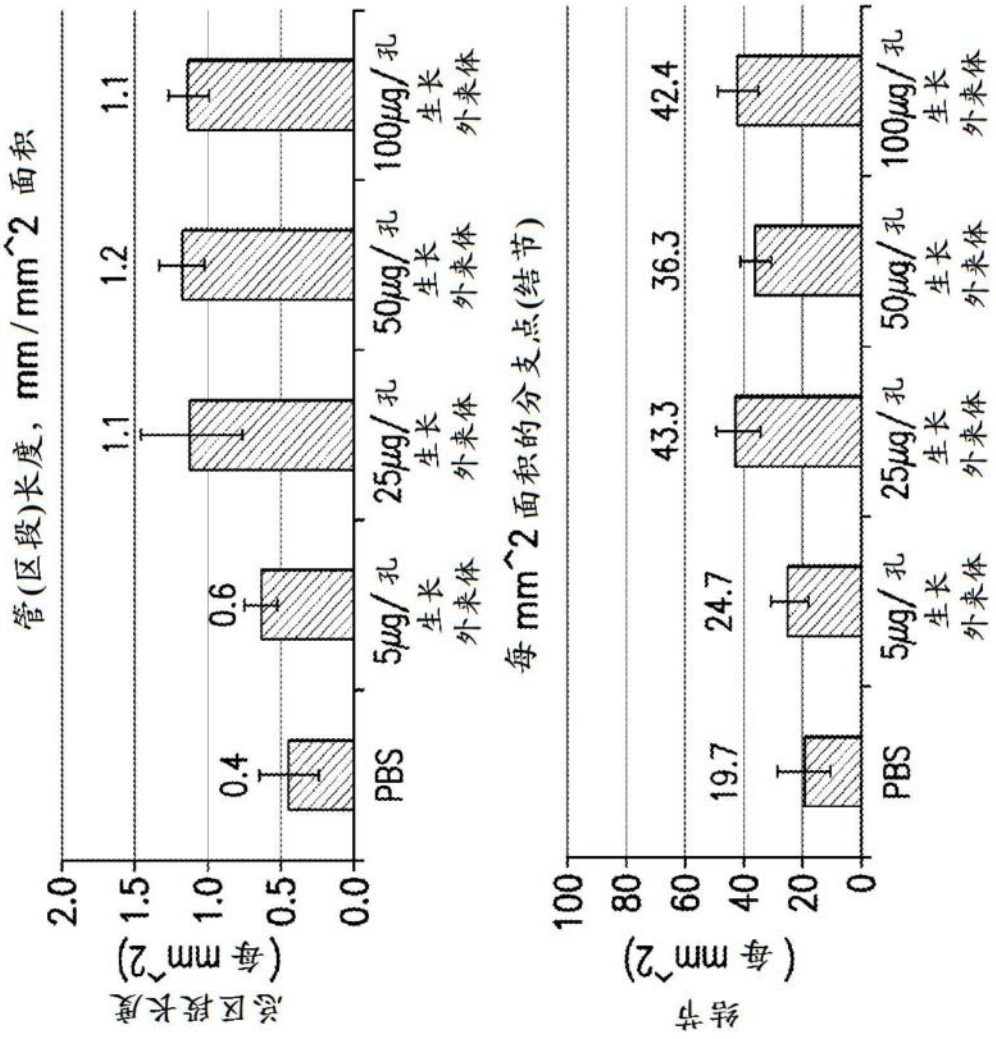

管(区段)长度，mm/mm^2 面积
总区段长度 (每 mm^2)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.4
0.6
1.1
1.1
1.2
1.1
PBS
5μg/孔 生长 外来体
25μg/孔 生长 外来体
50μg/孔 生长 外来体
100μg/孔 生长 外来体
每 mm^2 面积的分支点(结节)
结节 (每 mm^2)
100
80
60
40
20
0
19.7
24.7
43.3
36.3
42.4
PBS
5μg/孔 生长 外来体
25μg/孔 生长 外来体
50μg/孔 生长 外来体
100μg/孔 生长 外来体

图8A

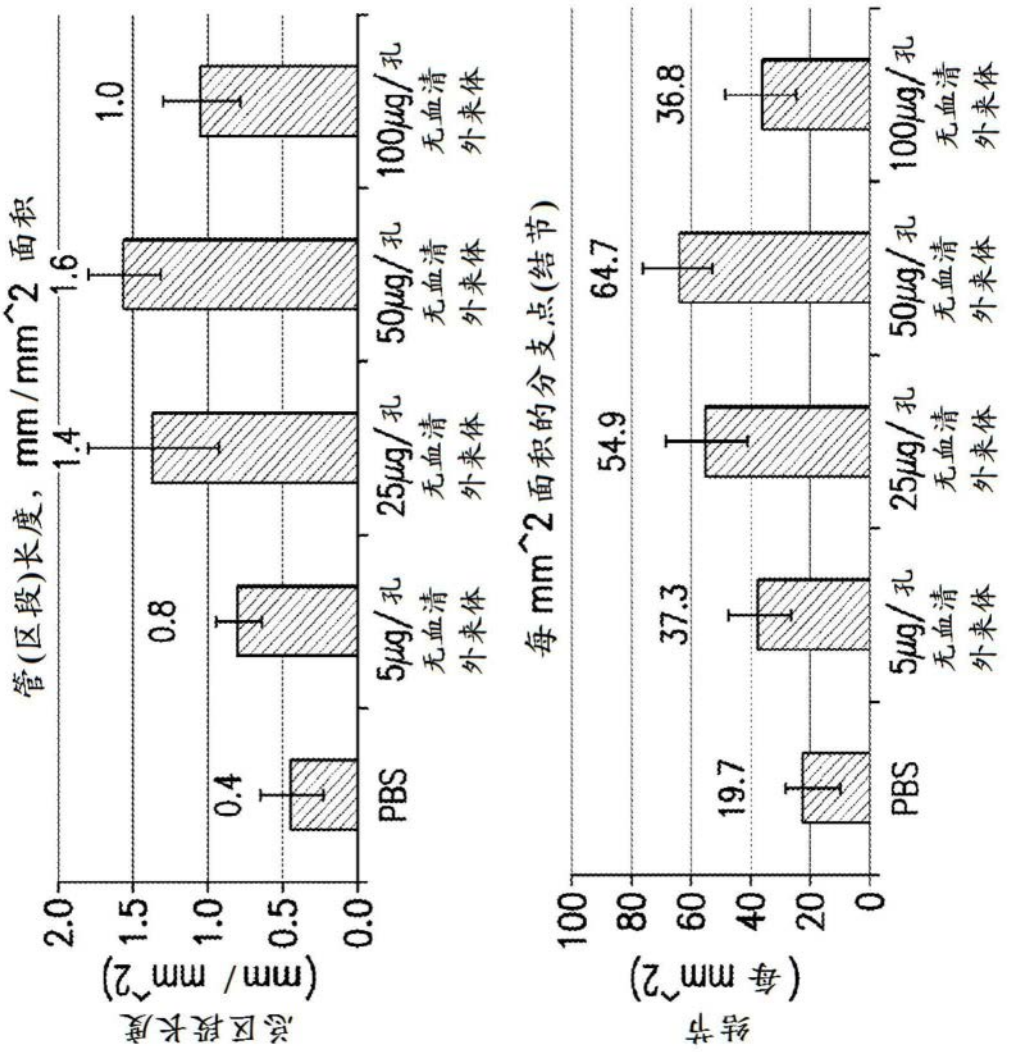

管(区段)长度，mm/mm^2 面积
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.4
0.8
1.4
1.6
1.0
PBS
5μg/孔
无血清
外来体
25μg/孔
无血清
外来体
50μg/孔
无血清
外来体
100μg/孔
无血清
外来体
每mm^2面积的分支点(结节)
100
80
60
40
20
0
19.7
37.3
54.9
64.7
36.8

图8B

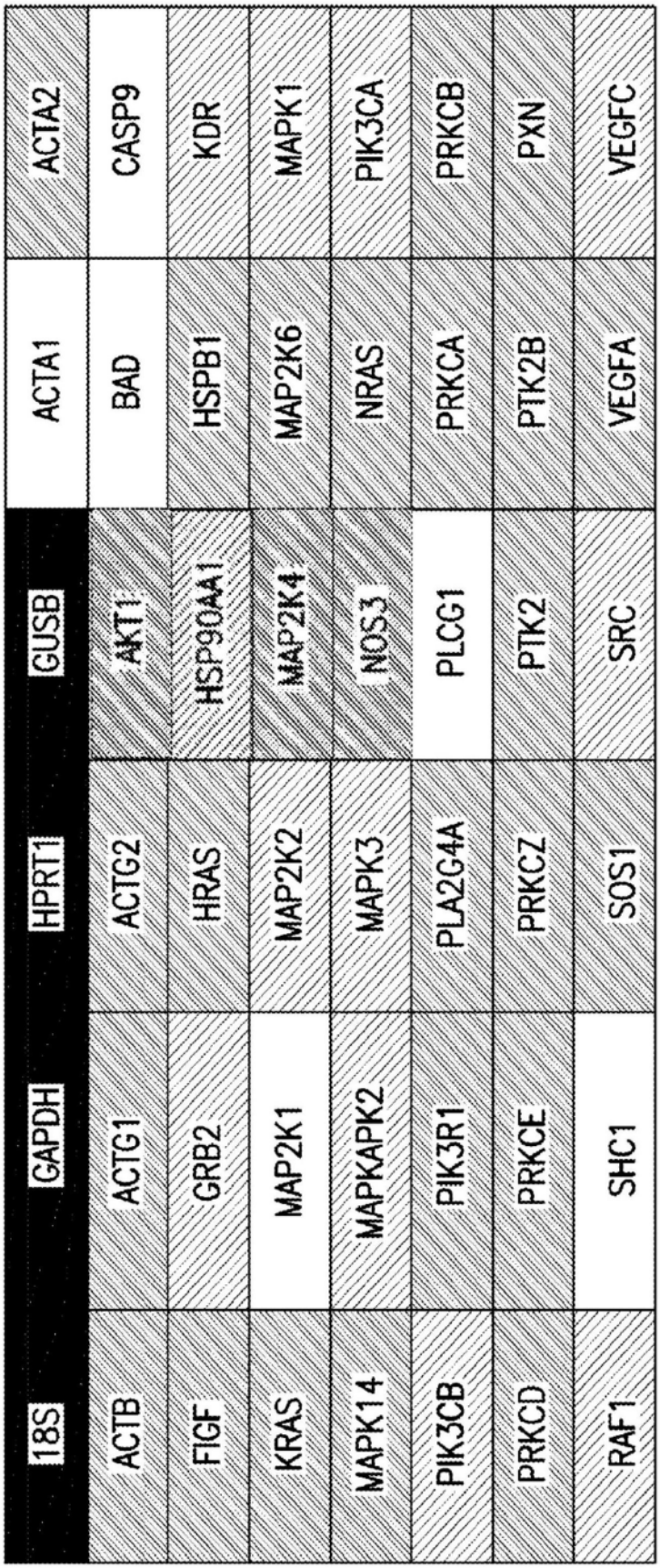

18S
GAPDH
HPRT1
GUSB
ACTA1
ACTB
ACTG1
ACTG2
AKT1
BAD
ACTA2
CASP9
FIGF
GRB2
HRAS
HSP90AA1
HSPB1
KDR
KRAS
MAP2K1
MAP2K2
MAP2K4
MAP2K6
MAPK1
MAPK14
MAPKAPK2
MAPK3
NOS3
NRAS
PIK3CA
PIK3CB
PIK3R1
PLA2G4A
PLCG1
PRKCA
PRKCB
PRKCD
PRKCE
PRKCZ
PTK2
PTK2B
PXN
RAF1
SHC1
SOS1
SRC
VEGFA
VEGFC

图8C

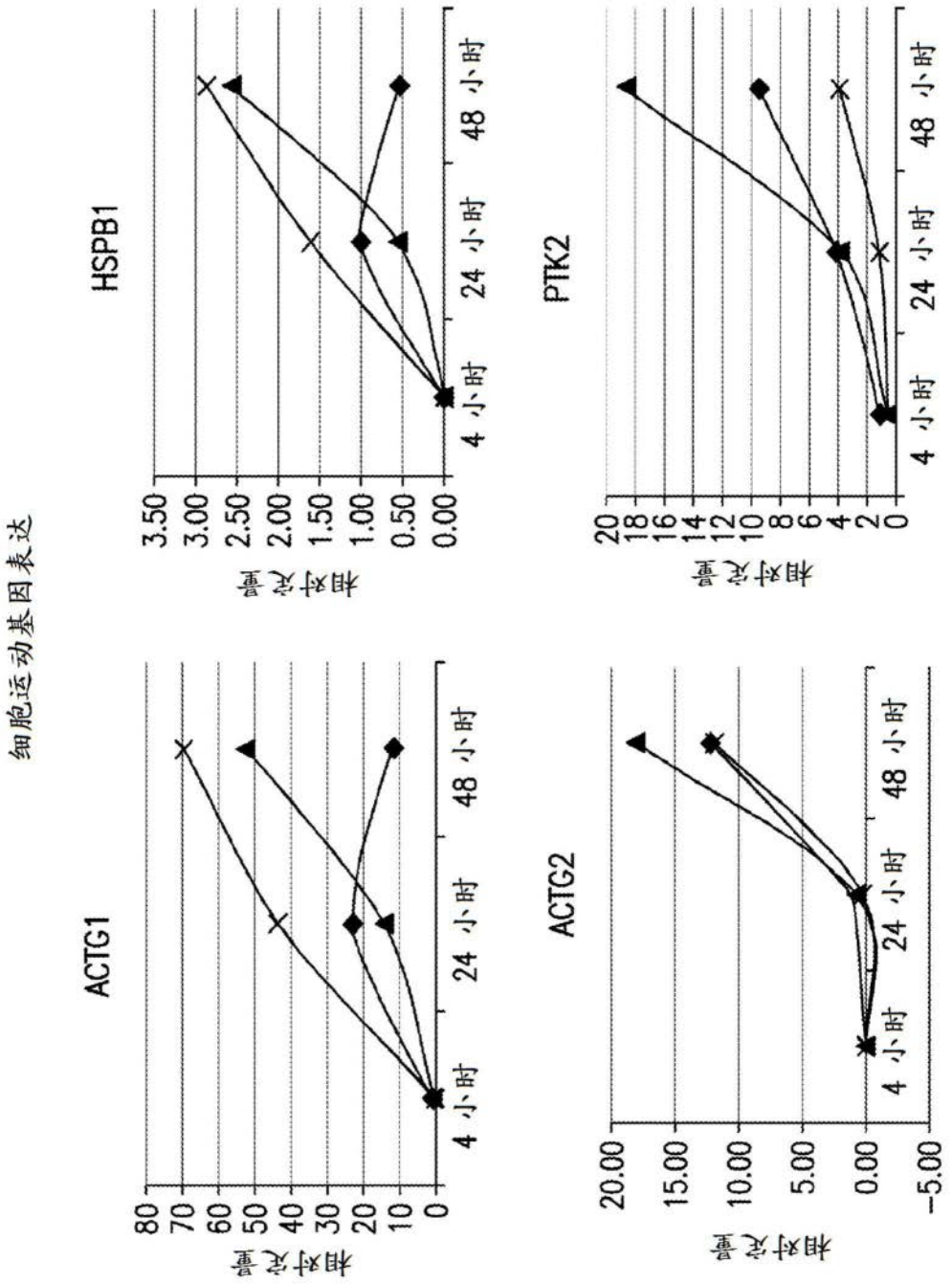

细胞运动基因表达
HSPB1
PTK2
ACTG1
ACTG2
相对定量
4 小时
24 小时
48 小时
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
80
70
60
50
40
30
20
10
0
20.00
15.00
10.00
5.00
0.00
−5.00

图8D

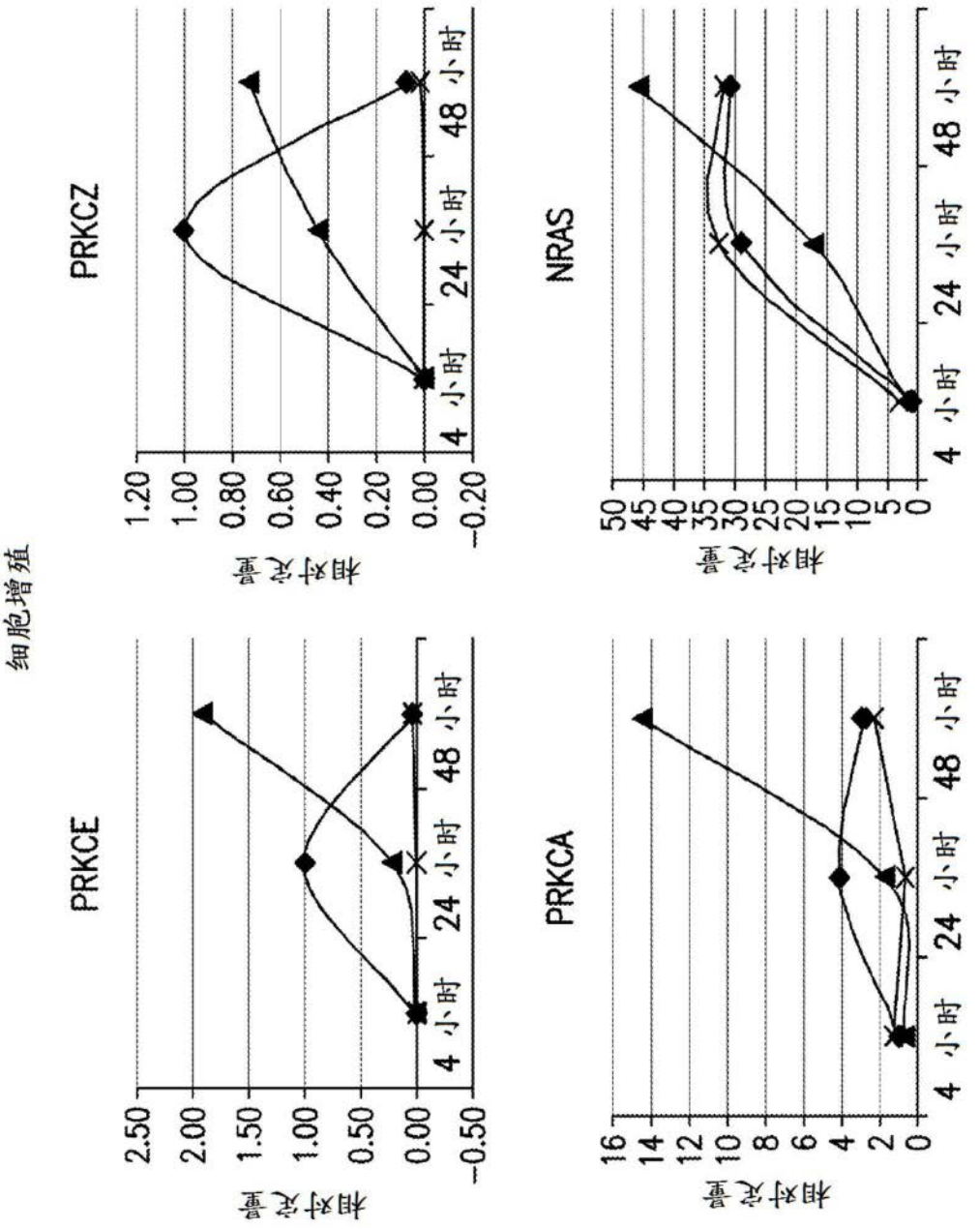

细胞增殖
PRKCZ
PRKCE
NRAS
PRKCA
相对定量
4 小时
24 小时
48 小时
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
-0.20
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
-0.50
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
16
14
12
10
8
6
4
2
0

图8E

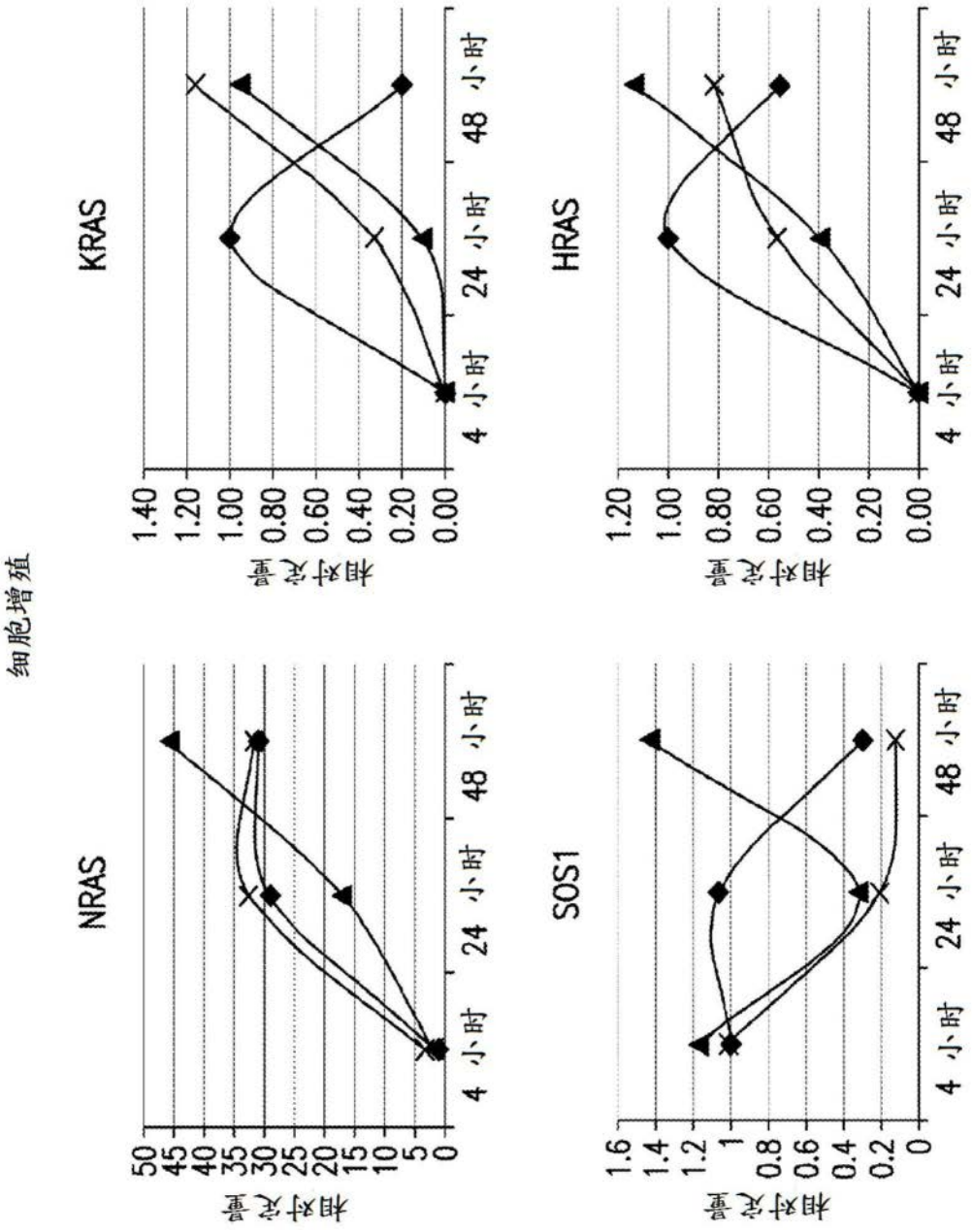

细胞增殖
KRAS
HRAS
NRAS
SOS1
相对定量
4 小时
24 小时
48 小时
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2

图8F

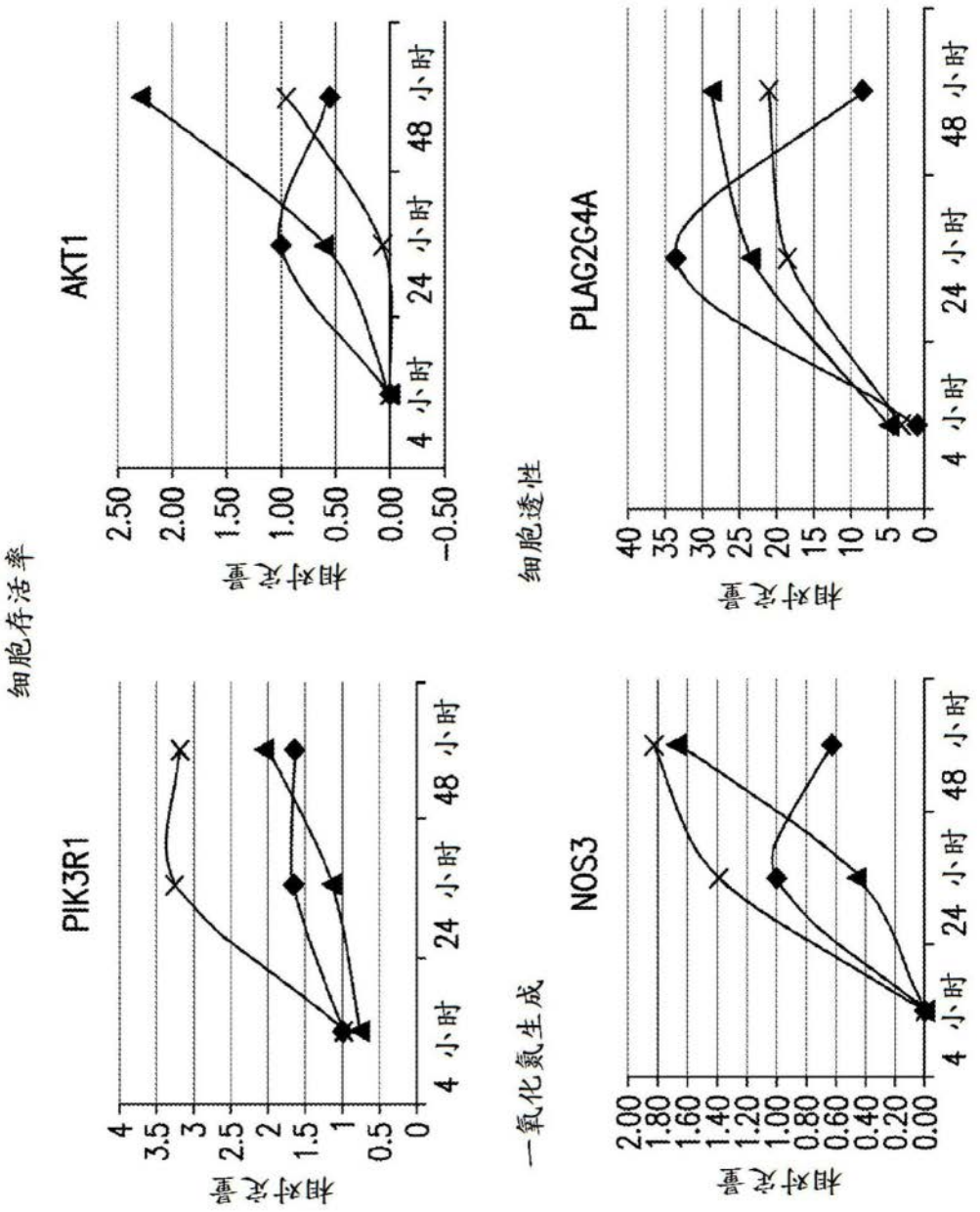

细胞存活率
AKT1
相对定量
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
−0.50
4 小时
24 小时
48 小时
细胞透性
PLAG2G4A
相对定量
40
35
30
25
20
15
10
5
0
4 小时
24 小时
48 小时
PIK3R1
相对定量
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
4 小时
24 小时
48 小时
一氧化氮生成
NOS3
相对定量
2.00
1.80
1.60
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
4 小时
24 小时
48 小时

图8G

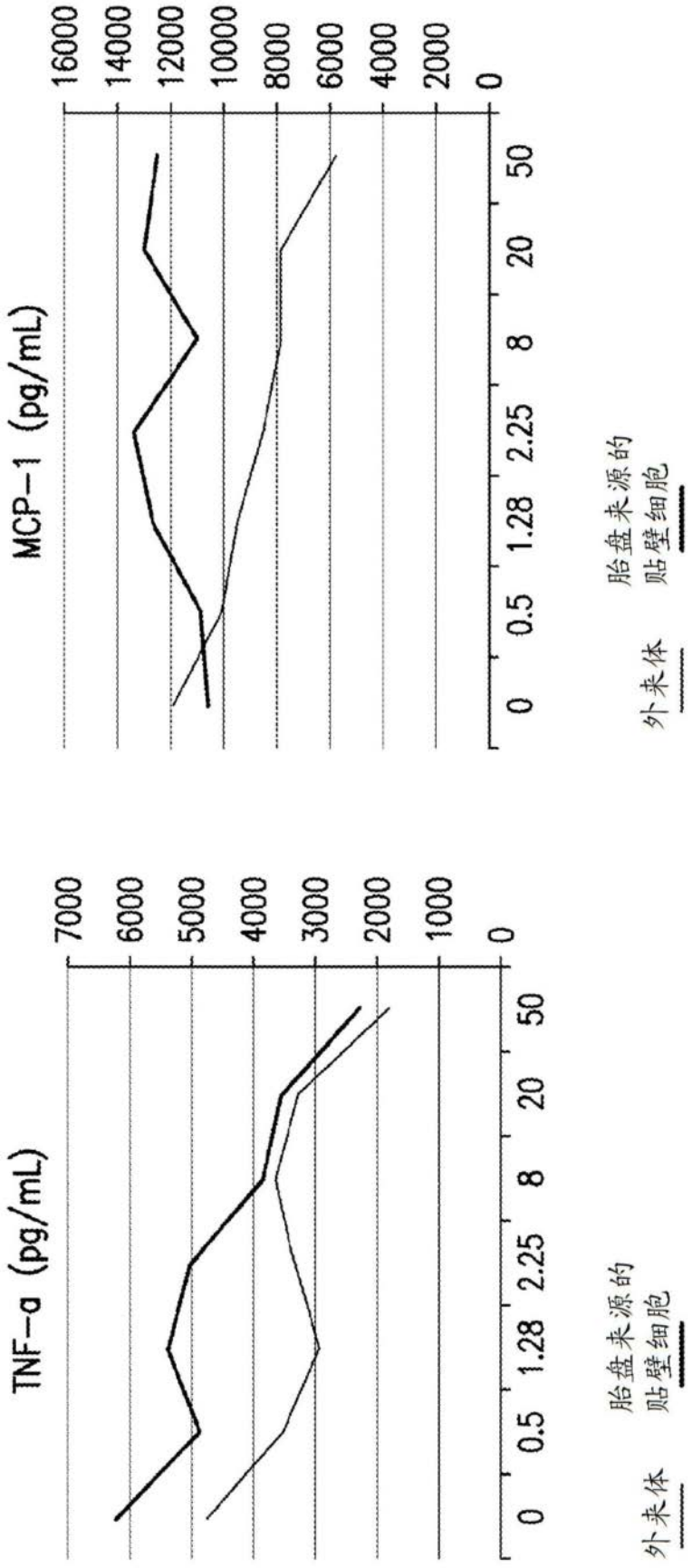

MCP-1 (pg/mL)
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
0.5
1.28
2.25
8
20
50
外来体
胎盘来源的
贴壁细胞
TNF-α (pg/mL)
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
0.5
1.28
2.25
8
20
50
外来体
胎盘来源的
贴壁细胞

图9A

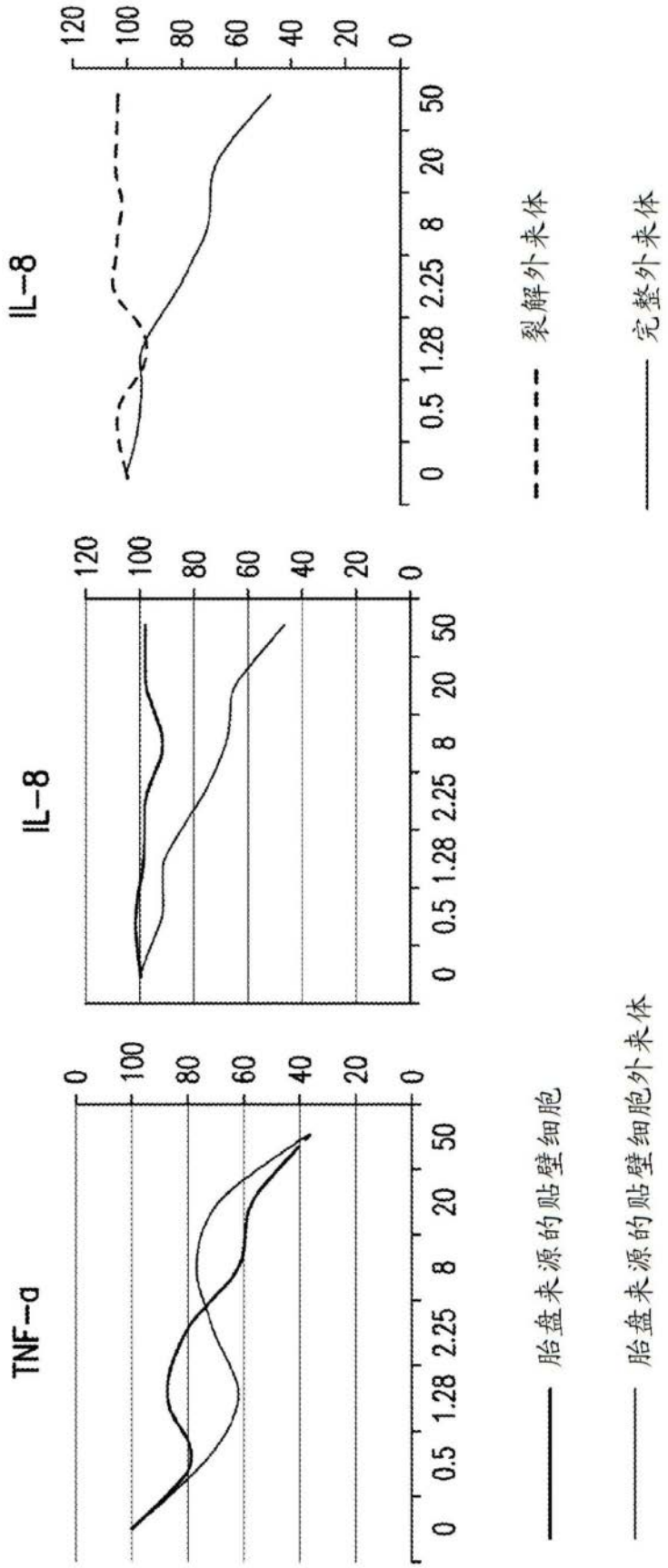

IL-8
IL-8
TNF-α
0 20 40 60 80 100 120
0 0.5 1.28 2.25 8 20 50
裂解外来体
完整外来体
胎盘来源的贴壁细胞
胎盘来源的贴壁细胞外来体

图9B