牛奶外泌体的分离、修饰及其在疾病治疗中的应用进展

蒋利明[1]，钱仲仓[2*]

1 台州市动物疫病预防控制中心，浙江台州 318000
2 台州市农业科学研究院，浙江台州 317000

摘　要：外泌体是细胞起源的膜囊泡，由各种类型的细胞释放，几乎存在于所有的生理液体中，含有多种重要的生物学分子（如蛋白质、脂质、DNA、mRNA、microRNA等）。牛奶外泌体是由乳腺上皮细胞自然分泌、天然存在于牛奶中的细胞外纳米囊泡，由于其在合成分泌中形成的特殊结构以及具有低免疫原性和高生物相容性，作为多种分子（如蛋白质、脂质、mRNA和RNA）的转运体，在生理调控、诊断治疗以及药物递送载体等方面表现巨大潜力和前景。本文介绍外泌体的形成机制、分离方法、修饰技术及其在生物调控中的应用价值，介绍在癌症治疗、生理调控中的应用，以期为外泌体功能化研发和产品开发提供新思路。

关键词：牛奶；外泌体；分离；修饰；应用

文章编号：1671-4393（2025）10-0123-08　　DOI:10.12377/1671-4393.25.10.19

0 引言

外泌体是一类天然存在的、具有脂质双层纳米结构的细胞外囊泡，根据其细胞内合成过程、大小形态和功能特征，外泌体主要分为三类：外泌体、微泡和凋亡小体[1]。研究显示，多数细胞类型（包括间充质干细胞、内皮细胞、成肌细胞和脂肪细胞）都能释放不同大小、组成和功能的外泌体。作为最小的细胞外囊泡，细胞和体液来源的外泌体（直径30～150 nm）可影响正常生理代谢活动，并参与各种疾病的发展（包括肿瘤生长、神经退行性疾病和代谢综合征），在多种动植物自身代谢调节、跨物种功能调控中发挥重要作用[2]。

1 外泌体的形成机制

外泌体是由晚期内涵体产生，晚期内涵体由有限的多泡体（multi-vesicular body biogenesis，MVBs）膜向内出芽形成，晚期内体膜内陷导致

基金项目：台州市农业科技项目（2024-NY-09）
作者简介：蒋利明（1985-），男，浙江台州人，兽医师，研究方向为动物疫病防控。
*通信作者：钱仲仓（1985-），男，山东临沂人，高级畜牧师，研究方向为动物营养与饲料。

中国乳业线上阅读

MVBs内形成腔内囊泡[2]。部分蛋白质被吸入内膜中，剩余胞质成分被腔内囊泡吞噬、封闭。多数腔内囊泡在与质膜融合后被释放到细胞外空间，从而形成外泌体[3，4]。具体说来，包括3 个阶段：（1）从质膜形成内吞小泡；（2）内体小泡膜向内出芽，形成包含腔内小泡（Intraluminal Vesicles，ILVs）的MVBs；（3）多泡体与质膜融合，释放出被称为外泌体的小泡内容物。透射电子显微镜观察显示，典型外泌体呈特殊双凹状、杯状或球体[5]。

外泌体形成依赖ESCRT（Endosomal Sorting Complexes Required for Transport，ESCRT）机制及非ESCRT依赖途径（四跨膜蛋白与脂质调控），细胞类型差异显著影响机制选择。ESCRT机制通过4 个蛋白亚复合体（ESCRT-0、I、II、III）协同完成MVBs形成及腔内囊泡出芽：ESCRT-0首先通过泛素结合亚基识别并隔离泛素化蛋白，随后与ESCRT-I、II复合物相互作用，最终ESCRT-III在液泡分选蛋白4（Vps4）作用下脱离MVBs膜[6，7]。尽管ESCRT具体作用机制存疑，但外泌体中普遍检出ESCRT成分及泛素化蛋白，证实其关键作用。非ESCRT途径中，内体膜微域通过鞘磷脂酶水解产生神经酰胺，诱导负曲率膜结构促进MVB出芽[8，9]；四跨膜蛋白（如CD81）富集微域则通过分区化介导特异性cargo装载[10，11]，表明脂质重构与膜蛋白协同调控外泌体生物发生。

2 牛奶外泌体的组成

牛奶外泌体的形成机制与其化学组成密切相关，了解其组成有助于形成机制和在疾病治疗、载体运输的作用。

2.1 蛋白质

牛奶外泌体有1 387 种蛋白质[12]，除四跨膜蛋白家族等外泌体共有成分外，其脂质膜表面标记蛋白包含ALG-2相互作用蛋白X（ALG-2 interacting protein X，Alix）、膜蛋白四跨膜家族（CD9、CD63和CD81）、整合素和细胞粘附分子等。部分蛋白质（如testilin、4 Rab-GTPase，17以及 Alix 和 Tsg101）通过调节膜融合、细胞骨架蛋白互作及内吞作用，参与牛奶外泌体形成调控[13]。另外，乳汁外泌体还表达细胞骨架蛋白（如肌动蛋白、微管蛋白、丝蛋白、热休克蛋白），主要介导细胞运动、应激响应及细胞周期调控[14]。部分蛋白质在microRNA运输包装和靶细胞高效粘附发挥关键作用[15，16]。同时，携带脂肪酸合酶、黄嘌呤脱氢酶等功能酶，其跨物种调节中的功能有待探究[17]。

2.2 核酸物质

牛奶外泌体囊括信使RNA、微小RNA、核糖体RNA、长链非编码RNA、转移RNA和可变DNA[18，19]。其微小RNA组成具有动态性，受来源[20]、外泌体分离方法[21]和牛奶收集时间[22]等因素影响。该类微小RNA不仅参与乳汁合成、脂肪代谢、蛋白代谢和免疫调控中发挥关键作用[23]，干预生物发育进程、生物抗菌免疫等过程[24]。外泌体是牛奶mRNA的主要载体，目前已检测到约19 000 个mRNA[25]。

3 牛奶外泌体的分离

鉴于牛奶外泌体的独特组成，其分离方法选择至关重要。传统方法包括差速离心法、尺寸排阻色谱法、密度梯度离心法和免疫亲和捕获法（表1），前3 种方法主要基于外泌体的大小和密度，后者依赖抗体或适体与外泌体特征蛋白的特异性结合。另外，商业化的外泌体分离试剂盒应用日益广泛，但其应用场景存在差异。

3.1 差速离心法

差速离心法（DUC）通过不同离心力分离样品组分，利用该法分离牛奶外泌体需3 次离心：低速离心去除脂肪球和大囊泡，高速离心去除酪蛋白片段并富集外泌体，最终收集外泌体颗粒，并将其悬浮于PBS中，-80 ℃保存[33]。该方法成本低、操作

中国乳业线上阅读

表 1 4 种外泌体分离方法比较

分离方法	原理	回收率	优点	缺点	参考文献
DUC	基于沉降率 XIB 细胞外囊泡分离纯化	低（ < 20%）	操作简便、成本低	样本量大、回收率低、外泌体易破裂和污染、耗时	[26]
SEC	色谱柱按大小分离外泌体	高（60% ~ 80%）	保护分离外泌体的生物学功能免受影响、纯度高	耗时 不适合规模样品加工	[27]，[28]
IAC	利用微流控芯片进行基于免疫亲和力、大小或密度的分离	高（70% ~ 90%）	高纯度、处理速度快、样品量小、效率高	需要精密的设备、成本高	[29]，[30]
DG-UC	基于大小和密度差异的外泌体分离	中等（30% ~ 50%）	高回收率、高纯度、保留外泌体结构和功能	耗时、样本量大、潜在载体损伤和外泌体聚集	[31]，[32]

简单，缺点是非特异性较高、采集到的外泌体易污染、重复率较差[34]。

3.2 尺寸排阻色谱法

尺寸排阻色谱法（SEC）基于固定相孔径与粒径关系分离外泌体，较大流体动力学半径成分（如外泌体）首先流出并被收集[35]。与差速离心分离相比，该方法分离的外泌体纯度更高，可清除囊泡蛋白等杂质，生物重复性好[27]和更高外泌体结构完整性[36]，适用于生物活性和功能研究。但提取时间长、大规模纯化获取技术欠缺、外泌体和数量有限等问题。因此，常与差速离心或其他方法配合使用，以提高富集浓缩效率和纯度，用于后续治疗目的[12]。

3.3 免疫亲和捕获法

免疫亲和捕获法（IAC）利用抗外泌体抗原单克隆抗体吸附磁珠捕获外泌体，特异性高[37]。但该方法易富集细胞碎片，且成本高、产量低，故常与差速离心或其他方法结合使用，以增强富集效果。

3.4 密度梯度离心法

密度梯度离心法（DG-UC）通过不同浓度的蔗糖、碘海醇、碘克沙醇溶液的浮力密度不同，将外泌体富集至特定密度层[38]。该方法通过将不同密度大小的亚细胞成分（氧化物酶体、线粒体和内体等）在密度梯度溶液中分离成不同的层，施加逐步变化的离心力，使样品中的外泌体在1.13～1.19 g/mL的密度范围内富集，这种方法的优势是所获得的外泌体纯度较高，但步骤复杂、耗时[39]。

4 牛奶外泌体的靶向修饰

牛奶外泌体的特殊性质使得它们在生理调控、疾病诊断、治疗方面具有巨大的应用潜力。大量研究以脂质体靶向修饰为基础，尝试用抗体等对牛奶外泌体表面进行修饰，旨在实现其与靶器官或肿瘤的特异性结合。

4.1 牛奶外泌体靶向修饰方式

由于牛奶外泌体膜来源于细胞膜，其修饰策略与脂质体相似，常见方法包括外泌体表面交联叶酸和透明质酸及多肽/蛋白质适配体。叶酸受体在多种肿瘤细胞表面高表达，常用于外泌体的靶向修饰[40]。研究显示，叶酸修饰的外泌体可用于靶向药物递送[41]。抗体修饰则基于抗原-抗体反应，实现药物精准递送至肿瘤细胞[42, 43]。此外，多肽或蛋白质适配体可通过靶向代谢细胞表面配体，进一步拓展外泌体的靶向范围[44, 45]。

链接化学为外泌体修饰提供新技术路径，原理是通过1-乙基-3-（3-二甲基氨基丙基）碳二亚胺N-羟基琥珀酰亚胺[1-ethyl-3-

中国乳业线上阅读

（3-dimethylaminopropyl） carbodiimide N-hydroxysuccinimide，EDC-NHS]缩合反应将炔基连接到分离的外泌体上，再通过铜催化或无铜点击化学反应（如张力促进的叠氮炔环加成反应、反电子需求的狄尔斯阿尔德反应）实现配体共价偶联。该方法反应效率高、环境适应性强，且偶联过程不影响外泌体大小及靶细胞摄取[46]。例如，通过链接化学将神经调节蛋白-1靶向肽结合至外泌体表面，可获得兼具成像与治疗功能的胶质瘤靶向外泌体；负载姜黄素的外泌体经该技术修饰后，对胶质瘤小鼠模型显示有显著治疗效果[47，48]。

非共价修饰是另一种修饰方式，包括多价静电相互作用、疏水相互作用、锚定细胞穿透肽等[49]。一些研究发现，CP05肽可靶向或治疗CD63蛋白的细胞，通过融合技术将治疗药物与CP05肽结合，可实现外泌体的靶向递送[50]。此外，通过引入pH值、温度等环境条件，外泌体可实现条件特异性释放。融合或冻融方法被用于装载功能分子至外泌体膜，以实现膜的功能化[51，52]。

4.2 牛奶外泌体靶向修饰的应用

叶酸修饰可显著提升牛奶外泌体在肿瘤组织中的积累。研究显示，叶酸修饰的外泌体在肿瘤模型中的摄取量显著高于未修饰组[36]。研究人员发现载有醉茄素A修饰的牛奶外泌体经口服后，可有效增加药物生物利用度，并显著抑制肿瘤生长[37]。Kandimalla等[53]发现，紫杉醇和叶酸联合修饰的牛奶外泌体可对异种皮下肿瘤具有显著抑制作用，且口服的疗效显著优于静脉注射。透明质酸是CD44的特异性配体，被用于修饰装载阿奇霉素和阿霉素的外泌体，可选择性递送药物至CD44过表达细胞（如乳腺癌和肺癌细胞），显著提高癌细胞杀伤效果[54]。另一项研究发现，使用HA包被的乳外泌体（Hyaluronic Acid Modified Milk Exosomes，HA-mExo）来制备肿瘤特异性的microRNA-204-5p类似物（miR-204），先显著提高HA-mExo-miR204 对CD44阳性细胞的靶向调控效果，可增强CD44阳性细胞对miR-204的摄取，从而提升抗肿瘤效果[55]。

研究人员使用含有半乳糖和N-乙酰半乳糖的修饰乳外泌体，发现上述修饰大大减少乳外泌体在肝脏和胰腺中的积累，实现全身广泛分布[56]，并通过亚胺键连接药物，在酸性肿瘤环境中实现药物在肿瘤部位特定释放[47]。然而，牛奶外泌体的靶向修饰仍面临挑战。如修饰剂的负载量对靶向效果的影响，长期使用单克隆抗体可能导致耐药性，以及抗体修饰对所有肿瘤细胞的普适性等问题需进一步探索[57]。

5 牛奶外泌体的应用

5.1 癌症治疗

牛奶外泌体作为药物载体在癌症治疗中展现显著优势。雷公藤红素因毒性和生物利用度低，临床应用受到较大限制。研究发现，雷公藤红素被封装在外泌体中时，其抗肺癌增殖作用增强、毒性降低，口服制剂可提升临床疗效[54，58]。姜黄素经外泌体共孵育载药后稳定性提高，体内降解减少，Caco-2单层细胞模型显示转运量增加3 倍[59]。浆果花青素口服生物利用度低，但外泌体包裹可促进体内摄取，显著抑制卵巢癌肿瘤生长[60]。紫杉醇外泌体口服制剂有良好的生物利用度[60]。显著降低紫杉醇的全身和免疫毒性，同时该类复合结构对口腔鳞状细胞癌有良好的抗肿瘤活性[47]。研究发现，通过牛奶外泌体递送siRNA可有效沉默癌细胞中的VEGF、EGFR、AKT、MAPK和KRAS特定致癌基因[61]，siKRAS 外显子在A549细胞和H1299非小细胞肺癌细胞中显示较优良内吞作用。同时，siKRAS对A549细胞（KRASG12S突变体）抑制作用呈剂量依赖性（0～100 pmol/mL），但对A1299细胞（KRAS野生型）作用不明显，表明外泌体递送系统有靶标选择性[47，62]。

5.2 生理调控

除癌症治疗外，牛奶外泌体在生理调控方面亦

中国乳业线上阅读

具潜力。负载表儿茶素没食子酸酯可通过抗凋亡和抗吞噬，增强针对帕金森病的神经保护作用。研究发现，负载胰岛素的牛奶外泌体（EXO@INS）对I型糖尿病大鼠有较强的降血糖作用，效果优于皮下注射胰岛素[61]。由于缺乏有效的递送系统，miRNA疗法的应用受限制，将抗糖尿病药物利拉鲁肽加载到牛奶来源的外泌体中，舌下给药可降低血糖水平[2]。此外，通过电穿孔封装miR-31-5p模拟物的牛奶外泌体改善糖尿病内皮细胞功能，还促进体内糖尿病伤口愈合和血管生成。上述研究结果证明用蛋白质药物或miRNA 药物作为乳源口服治疗递送系统的可行性。

6 结论与展望

牛奶外泌体作为生物标志物及药物载体，在癌症防治中展现巨大潜力。其优势包括：提升药物安全性、生物利用度及靶向效率，可将高毒性非口服药物转化为稳定安全的口服制剂；携带肿瘤靶向配体可增强抗肿瘤效果。然而，其应用仍面临挑战：（1）分离纯化技术尚不成熟，纯度与产量受限，难以满足大规模应用需求。（2）生物学功能机制（尤其是疾病状态下的作用机制）尚不明确。（3）临床转化需突破安全性、有效性及规模化生产瓶颈。（4）缺乏统一的分离、鉴定及定量标准，影响研究可重复性[34~40]。未来研究需结合多组学技术（如单细胞转录组测序）深化溯源与功能解析，通过工程化改造优化靶向递送效率，探索神经退行性疾病、心血管疾病等新领域应用，并建立标准化流程以推动产业化发展。

参考文献

[1] Batrakova E V，Kim M S. Using exosomes，naturally equipped nanocarriers，for drug delivery[J].Journal of Controlled Release，2015，219：396–405.

[2] Minciacchi V R，Freeman M R，Di Vizio D. Extracellular vesicles in cancer：Exosomes，microvesicles and the emerging role of large oncosomes[J]. Seminars in Cell & Developmental Biology，2015，40：41–51.

[3] Sahu R，Kaushik S，Clement C C，et al. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes[J]. Developmental Cell，2011，20（1）：131–139.

[4] Record M. Intercellular communication by exosomes in placenta：A possible role in cell fusion?[J]. Placenta，2014，35（5）：297–302.

[5] Yellon D M，Davidson S M. Exosomes：Nanoparticles involved in cardioprotection?[J]. Circulation Research，2014，114（2）：325–332.

[6] Henne W M，Buchkovich N J，Emr S D. The ESCRT pathway[J]. Developmental Cell，2011，21（1）：77–91.

[7] Hurley J H. ESCRTs are everywhere[J].The EMBO Journal，2015，34（19）：2398–2407.

[8] Airola M V，Hannun Y A. Sphingolipid metabolism and neutral sphingomyelinases[J]. Handbook of Experimental Pharmacology，2013，215：57–76.

[9] Castro B M，Prieto M，Silva L C. Ceramide：A simple sphingolipid with unique biophysical properties[J].Progress in Lipid Research，2014，54：53–67.

[10] Perez-Hernandez D，Gutierrez-Vazquez C，Jorge I，et al. The intracellular interactome of tetraspanin-enriched microdomains reveals their function as sorting machineries toward exosomes[J]. Journal of Biological Chemistry，2013，288（17）：11649–11661.

[11] Van den Boorn J G，Dassler J，Coch C，et al. Exosomes as nucleic acid nanocarriers[J].Advanced Drug Delivery Reviews，2013，65（3）：331–335.

[12] Maity S，Bhat A H，Giri K，et al. BoMiProt：A database of bovine milk proteins[J]. ournal of Proteomics，2020，215：103648.

[13] Hurley J H，Odorizzi G. Get on the exosome bus with ALIX[J]. Nature Cell Biology，2012，14：654–655.

[14] Gross J C，Chaudhary V，Bartscherer K，et al. Active Wnt proteins are secreted on exosomes[J].Nature Cell Biology，2012，14：1036–1045.

[15] Lässer C，Alikhani V S，Ekström K，et al.Human saliva，plasma and breast milk exosomes contain RNA：Uptake by macrophages[J]. Journal of Translational Medicine，2011，9：9.

[16] Pols M S，Klumperman J. Trafficking and function of the tetraspanin CD63[J]. Experimental Cell Research，2009，315：1584–1592.

[17] Sedykh S，Kuleshova A，Nevinsky G.Milk exosomes：Perspective agents for anticancer drug delivery[J].International Journal of Molecular Sciences，2020，21：6646.

[18] Th é ry C，Boussac M，V é ron P，et al.Proteomic analysis

中国乳业线上阅读

of dendritic cell-derived exosomes: A secreted subcellular compartment distinct from apoptotic vesicles[J].Journal of Immunology, 2001, 166: 7309-7318.

[19] Zeng B, Chen T, Luo J, et al. Exploration of long non-coding RNAs and circular RNAs in porcine milk exosomes[J].Frontiers in Genetics, 2020, 11: 652.

[20] Zeng B, Chen T, Luo J Y, et al.Biological characteristics and roles of noncoding RNAs in milk-derived extracellular vesicles[J]. Advances in Nutrition, 2021, 12: 1006-1019.

[21] Benmoussa A, Laugier J, Beauparlant C J, et al. Complexity of the microRNA transcriptome of cow milk and milk-derived extracellular vesicles isolated via differential ultracentrifugation[J].Journal of Dairy Science, 2020, 103: 16-29.

[22] Yun B, Kim Y, Park D J, et al.Comparative analysis of dietary exosome-derived microRNAs from human, bovine and caprine colostrum and mature milk[J].Journal of Animal Science and Technology, 2021, 63: 593-602.

[23] Cintio M, Polacchini G, Scarsella E, et al.MicroRNA milk exosomes: From cellular regulator to genomic marker[J]. Animals, 2020, 10: 1126.

[24] Benmoussa A, Provost P. Milk MicroRNAs in health and disease[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18: 703-722.

[25] Izumi H, Tsuda M, Sato Y, et al. Bovine milk exosomes contain microRNA and mRNA and are taken up by human macrophages[J].Journal of Dairy Science, 2015, 98: 2920-2933.

[26] Livshits M A, Khomyakova E, Evtushenko E G, et al. Isolation of exosomes by differential centrifugation: Theoretical analysis of a commonly used protocol[J]. Scientific Reports, 2015, 5.

[27] Mongui ó -Tortajada M, G á lvez-Mont ó n C, Bayes-Genis A, et al. Extracellular vesicle isolation methods: Rising impact of size-exclusion chromatography[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2019, 76: 2369-2382.

[28] Lane R E, Korbie D, Trau M, et al. Optimizing size exclusion chromatography for extracellular vesicle enrichment and proteomic analysis from clinically relevant samples[J]. Proteomics, 2019, 19.

[29] Yang D, Zhang W, Zhang H, et al. Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation-efforts for efficient exosome-based theranostics[J]. Theranostics, 2020, 10: 3684-3707.

[30] Raju D, Bathini S, Badilescu S, et al. Microfluidic platforms for the isolation and detection of exosomes: A brief review[J]. Micromachines, 2022, 13: 730.

[31] Wijenayake S, Eisha S, Tawhidi Z, et al. Comparison of methods for pre-processing, exosome isolation, and RNA extraction in unpasteurized bovine and human milk[J]. PLoS One, 2021, 16.

[32] Xu W M, Li A, Chen J J, et al. Research development on exosome separation technology[J]. The Journal of Membrane Biology, 2023, 256: 25-34.

[33] Th é ry C, Amigorena S, Raposo G, et al. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids[A]. in: Current Protocols in Cell Biology[C]. 2006, ch.3, unit 3.22.

[34] Simpson R, Mathivanan S. Extracellular microvesicles: The need for internationally recognised nomenclature and stringent purification criteria[J]. Journal of Proteomics & Bioinformatics, 2012, 5: 1.

[35] Li S, Tang Y, Dou Y. The potential of milk-derived exosomes for drug delivery[J]. Current Drug Delivery, 2021, 18: 688-699.

[36] Li P, Kaslan M, Lee S H, et al. Progress in exosome isolation techniques[J]. Theranostics, 2017, 7: 789-804.

[37] Greening D W, Xu R, Ji H, et al. A protocol for exosome isolation and characterization: Evaluation of ultracentrifugation, density-gradient separation, and immunoaffinity capture methods[J]. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 2015, 1295: 179-209.

[38] Hata T, Murakami K, Nakatani H, et al. Isolation of bovine milk-derived microvesicles carrying mRNAs and microRNAs[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2010, 396: 528-533.

[39] Bess J W Jr, Gorelick R J, Bosche W J, et al. Microvesicles are a source of contaminating cellular proteins found in purified HIV-1 preparations[J]. Virology, 1997, 230: 134-144.

[40] Yu W, Shevtsov M, Chen X, et al. Advances in aggregatable nanoparticles for tumor-targeted drug delivery[J]. Chinese Chemical Letters, 2020, 31(6): 1366-1374.

[41] Munagala R, Aqil F, Jeyabalan J, et al. Bovine milk-derived exosomes for drug delivery[J]. Cancer Letters, 2016, 371: 48-61.

[42] Cheng Q, Shi X, Han M, et al. Reprogramming exosomes as nanoscale controllers of cellular immunity[J]. Journal of the American Chemical Society, 2018, 140: 16413-16417.

[43] Si Y, Kim S, Zhang E, et al. Targeted exosomes for drug delivery: Biomanufacturing, surface tagging, and validation[J]. Biotechnology Journal, 2020, 15: e1900163.

[44] Limoni S K, Moghadam M F, Moazzeni S M, et al. Engineered exosomes for targeted transfer of siRNA to HER2 positive breast cancer cells[J]. Applied Biochemistry and

中国乳业线上阅读

Biotechnology，2019，187：352–364.

[45] Liang G，Kan S，Zhu Y，et al. Engineered exosome–mediated delivery of functionally active miR–26a and its enhanced suppression effect in HepG2 cells[J]. International Journal of Nanomedicine，2018，13：585–599.

[46] Salunkhe S，Dheeraj S，Basak M，et al. Surface functionalization of exosomes for target–specific delivery and in vivo imaging & tracking：Strategies and significance[J]. Journal of Controlled Release，2020，326：599–614.

[47] Jia G，Han Y，An Y，et al. NRP–1 targeted and cargo–loaded exosomes facilitate simultaneous imaging and therapy of glioma in vitro and in vivo[J]. Biomaterials，2018，178：302–316.

[48] Tian T，Zhang H X，He C P，et al. Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy[J]. Biomaterials，2018，150：137–149.

[49] Xu H，Liao C，Liang S，et al. A novel peptide–equipped exosomes platform for delivery of antisense oligonucleotides[J]. ACS Applied Materials & Interfaces，2021，13：10760–10767.

[50] Gao X，Ran N，Dong X，et al. Anchor peptide captures，targets，and loads exosomes of diverse origins for diagnostics and therapy[J]. Science Translational Medicine，2018，10：eaat0195.

[51] Zhang Q，Xiao Q，Yin H，et al. Milk–exosome based pH/light sensitive drug system to enhance anticancer activity against oral squamous cell carcinoma[J]. RSC Advances，2020，10：28314–28323.

[52] You B，Xu W，Zhang B. Engineering exosomes：A new direction for anticancer treatment[J]. American Journal of Cancer Research，2018，8：1332–1342.

[53] Kandimalla R，Aqil F，Alhakeem S S，et al. Targeted oral delivery of paclitaxel using colostrum–derived exosomes[J]. Cancers，2021，13：3700.

[54] Li D，Yao S，Zhou Z，et al. Hyaluronan decoration of milk exosomes directs tumor specific delivery of doxorubicin[J]. Carbohydrate Research，2020，493：108032.

[55] Li D，Gong L，Lin H，et al. Hyaluronic acid–coated bovine milk exosomes for achieving tumor–specific intracellular delivery of miRNA–204[J]. Cells，2022，11：3065.

[56] Sukreet S，Silva B V R E，Adamec J，et al. Galactose and sialo–galactose modifications in glycoproteins on the surface of bovine milk exosome are essential for exosome uptake in non–bovine species （OR34–07–19）[J]. Current Developments in Nutrition，2019，3（S1）：506–509.

[57] Samaranayake H，Wirth T，Schenkwein D，et al. Challenges in monoclonal antibody based therapies[J]. Annals of Medicine，2009，41：322–331.

[58] Kashyap D，Sharma A，Tuli H S，et al. Molecular targets of celastrol in cancer：Recent trends and advancements[J]. Critical Reviews in Oncology/Hematology，2018，128：70–81.

[59] Aqil F，Kausar H，Agrawal A K，et al.Exosomal formulation enhances therapeutic response of celastrol against lung cancer[J]. Experimental and Molecular Pathology，2016，101：12–21.

[60] Aqil F，Munagala R，Jeyabalan J，et al. Exosomes for the enhanced tissue bioavailability and efficacy of curcumin[J].The AAPS Journal，2017，19：1691–1702.

[61] Aqil F，Jeyabalan J，Agrawal A K，et al. Exosomal delivery of berry anthocyanidins for the management of ovarian cancer[J].Food & Function，2017，8：4100–4107.

[62] Agrawal A K，Aqil F，Jeyabalan J，et al. Milk–derived exosomes for oral delivery of paclitaxel[J].Nanomedicine （London，England），2017，13：1627–1636.

Research Advances in Isolation，Engineering，and Modification Applications of Milk Exosomes

JIANG Liming[1]，QIAN Zhongcang[2*]

[1]Taizhou Animal Disease Prevention and Control Center，Taizhou Zhejiang 318000

[2]Taizhou Academy of Agricultural Sciences，Taizhou Zhejiang 317000

Abstract：Exosomes are cell-derived membrane vesicles released by various types of cells and exist in almost all physiological fluids.Theycontain a variety of important biological molecules，such as proteins，lipids，DNA，mRNA，and microRNA.Milk exosomes are extracellular nanovesicles naturally secreted by mammary

中国乳业线上阅读

epithelial cells and naturally present in milk.Due to their special structure formed in synthetic secretion and low immunogenicity and high biocompatibility，milk exosomes have shown great potential and prospects in physiological regulation，diagnosis and treatment，and as drug delivery carriers as transporters of various molecules（such as proteins，lipids，mRNA and RNA）.This paper introduced the formation mechanism，separation method，modification and application value of exosomes in biological regulation，and introduced the application in cancer treatment and physiological regulation，in order to provide new ideas for the functional development and product development of exosomes.

Keywords：milk；exosome；separation；modification；application

▲上接115页

of equipment data collection in smart laboratories for milk and dairy products，and elaborated in detail on the construction process of the data collection system，including the selection of sensors，the establishment of a data transmission network. At the same time，this study focused on the management and analysis of data collection，as well as how to apply the data to actual production and quality control. Through the analysis of relevant technologies and cases，this paper aimed to provide a reference for the construction of smart laboratories in the milk and dairy products industry，and to promote the digital transformation and upgrading of the entire industry.

Keywords：milk and dairy products；smart laboratory；equipment data collection；data management and application

▲上接122页

based young children formula showed distinct typical flavors of goat/sheep milk.[Conclusion]During the accelerated test period，the nutrientional components in different milk-based young children formula powders were stable. However，the differences in fatty acid content in different have certain impacts on the flavor and solubility of the products. To ensure the good sensory experience of young children formula during its shelf life，measures should be taken to reduce and control fatty acid oxidation and optimize the surface composition of young children formula，thereby enhancing the stability of the particles.

Keywords：cow's milk；goat's milk；sheep's milk；young children formula；stability；dispersibility；flavor

中国乳业线上阅读