

蜂王浆中细胞外囊泡的生物学作用及分离鉴定

贾玲玉 郗学鹏 胥保华

(山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018)

摘要: 蜂王浆作为富含生物活性成分的功能食品, 在蜜蜂的生长发育和人类生理健康中展现出“天然药物+生物递送系统”双重潜力, 但其作用机制目前尚不完全清晰; 细胞外囊泡是一种由细胞分泌, 携带有核酸、蛋白、脂质等多种活性物质的信号传递分子, 在细胞间通讯等方面发挥着重要的作用。目前, 针对各种动植物来源细胞外囊泡的研究成为热点, 已有研究证明蜂王浆中含有丰富的细胞外囊泡, 但蜂王浆细胞外囊泡的功能尚不明确。本文系统综述蜂王浆与细胞外囊泡的功能关联性, 并对蜂王浆中细胞外囊泡的应用进行了展望, 旨在为蜂王浆发挥生理作用的机制研究起到抛砖引玉的作用。

关键词: 蜂王浆; 细胞外囊泡; 功能

The biological functions and isolation identification of extracellular vesicle in royal jelly

Jia Lingyu Chi Xuepeng Xu Baohua

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: Royal jelly, a functional food rich in bioactive components, has demonstrated dual potential as a “natural drug+biological delivery system” in bee development and human physiological health. However, its mechanisms of action remain incompletely understood. Extracellular vesicle, as signaling molecules secreted by cells, carry various bioactive substances, including nucleic acids, proteins, and lipids, playing a crucial role in intercellular communication. Research on extracellular vesicle derived from various animal and plant sources has become a focal point, and studies have confirmed the presence of abundant extracellular vesicle in royal jelly. Nevertheless, the functions of royal jelly-derived extracellular vesicle remain unclear. This review systematically examines the functional relationship between royal jelly and extracellular vesicle, while also provides an outlook on the potential applications of royal jelly-derived extracellular vesicle. The aim is to serve as theoretical support for further research into the physiological mechanisms of royal jelly.

Key words: royal jelly; extracellular vesicle; functions

蜂王浆是6~12日龄工蜂咽下腺和上颚腺分泌的一种乳白色或淡黄色浆状物质, 成分包括水分(50%~70%)、碳水化合物(7%~21%)、蛋白质(9%~18%)、脂类(3%~8%)、矿物质(1.5%)以及少量的黄酮类、酚类和维生素^[1-3], 主要用于饲喂蜂王和工蜂小幼虫, 在蜜蜂的生长发育中发挥着重要作用。研究表明, 蜂王浆具备抗氧化、抑菌、抗炎、抗衰老及抗肿瘤等多种药理活性^[4-6]。细胞外囊泡(Extracellular vesicle)是大多数细胞通过内吞作用

产生并且分泌的直径约为30~150 nm、由脂质双分子层包裹的微囊泡结构^[7], 普遍存在于各种动植物与微生物中。2013年, 科学家Ames E. Rothman, Randy W. Schekman和Thomas C. Südhof因发现细胞内囊泡(包括细胞外囊泡)的转运调控机制而获得诺贝尔生理学或医学奖。研究证明蜂王浆中含有丰富的细胞外囊泡^[8], 但其作用机制以及与蜂王浆功能的联系却鲜有研究。本文综述了细胞外囊泡生物学作用, 并对其分离与鉴定方法、食物中细胞外囊泡的作用以及蜂王浆

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-44); 国家自然科学基金(32272937); 山东省自然科学基金(ZR2022QC071)

作者简介: 贾玲玉, 女, 硕士研究生, E-mail: lngyujai@163.com

通讯作者: 胥保华, 男, 博士, 教授, E-mail: bhxu@sdau.edu.cn

细胞外囊泡的应用展望进行简明介绍。

1 细胞外囊泡产生和分泌

早在1983年Harding和Pan等^[9]利用抗转铁蛋白受体抗体可视化的方法,分别在大鼠和绵羊网织红细胞中,观察到这种经由多囊泡内体(也称多囊泡体)与质膜融合而释放的小囊泡。1987年,Johnstone等^[7]在研究网织红细胞的多泡体时,首次定义了细胞外囊泡这一术语。每种细胞类型都会根据其生理状态调整细胞外囊泡生物发生,并释放具有特定脂质、蛋白质和核酸组成的细胞外囊泡。此外,细胞外囊泡的组成也会因来源细胞的类型和生理状态的不同而不同。对于细胞外囊泡产生和分泌的机制, van Niel等^[10]进行了系统的总结。本质上是细胞外囊泡与细胞膜融合,释放细胞外囊泡到细胞外环境的过程,随后细胞外囊泡利用膜融合、内吞,以及识别和结合细胞表面特异性受体,将内容物递送至靶细胞^[11]。研究发现在细胞外囊泡转运的过程中,外周膜蛋白RAB11和RAB35能够促进细胞外囊泡与细胞质膜融合^[12-14]。也有研究证明RAB27A和RAB27B能够促进包含CD63、TSG101和ALIX蛋白的细胞外囊泡的释放^[15,16]。

2 细胞外囊泡的分离与鉴定

2.1 细胞外囊泡的分离

细胞外囊泡广泛存在于细胞和体液中,获取高质量的细胞外囊泡是开展研究的前提条件。目前,细胞外囊泡的分离纯化方法主要有差速超速离心法、聚合物沉淀法、超滤法、尺寸排阻色谱法和免疫亲和性捕获法^[17]。

细胞外囊泡分离技术中,目前应用最广泛的方法是差速超速离心法(Differential Ultracentrifugation),通过梯度离心($300 \times g$ 至 $100,000 \times g$)逐步分离细胞碎片、凋亡小体与细胞外囊泡。其优势在于操作标准化程度高且无需额外试剂,但耗时较长(通常 >5 小时)且可能混杂其他细胞外囊泡(如微泡)等。聚合物沉淀法(如PEG-based法)通过高分子聚合物竞争性结合水分子降低细胞外囊泡溶解度,借助低速离心($10,000 \times g$)沉降分离细胞外囊泡。该方法操作简易且已商业化(如ExoQuick™试剂盒),但会共沉淀杂蛋白(如白蛋白、免疫球蛋白),导致产物纯度(典型值 $<70\%$)和粒径均一性显著低于超速离心法。超滤法(Ultrafiltration, UF)利用分子截留量(MWCO 100–200 kDa)膜分离技术富集细胞外囊泡,具有耗时短的优势,然而超滤压力易导致细胞外

囊泡膜结构损伤,且膜孔堵塞现象频发。免疫亲和性捕获法(Immunoaffinity capture technology)利用细胞外囊泡膜表面CD9、CD63、CD81、CD82等蛋白与抗体的特异性结合实现对细胞外囊泡的特异性富集。尺寸排阻色谱法(Size Exclusion Chromatography, SEC)是基于细胞外囊泡与其他生物分子粒径差异的分离技术,可以通过分子排阻原理分离细胞外囊泡,避免离心过程中的剪切力损伤,从而保证细胞外囊泡结构和生物活性,可有效去除小分子污染物,保证分离出细胞外囊泡的纯度,但此种方法样本处理量有限,且耗时较长,不适合大体积样本的直接处理。随着纳米技术和微流体技术的突破性进展,Naquin等^[18]人开发的ASCENDx平台整合声流控和SERS技术,实现细胞外囊泡高效分离和miRNA检测(选择性95.8%,特异性100%),克服了传统方法样本需求大、检测灵敏度低的技术瓶颈。L Meng等^[19]开发了一种仿生3D DNA纳米平台,通过光控多价适配体高效捕获并释放细胞外囊泡,相比超速离心法更高效,分离的细胞外囊泡纯度较高。

2.2 细胞外囊泡的鉴定

在收集到细胞外囊泡后,还需要进一步去分析所收集的细胞外囊泡样品的浓度和细胞外囊泡形态结构。细胞外囊泡的鉴定主要是依赖其形态学特征、粒径大小和标志性蛋白来进行。最常用方法包括蛋白免疫印迹(Western blot)分析、透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)、纳米颗粒示踪(nanoparticle tracking analysis, NTA)和流式细胞术,也可以通过蛋白质组学、脂质组学以及RNA或DNA测序来完成。

免疫蛋白印迹分析通过TSG101、Alix等细胞外囊泡标志蛋白鉴定细胞外囊泡。透射电镜可观察细胞外囊泡形态特征,细胞外囊泡在电镜之下有明显的膜边界,为直径30~150 nm的杯状结构。纳米颗粒示踪分析是检测细胞外囊泡粒径与浓度的有效手段,相比TEM, NTA样本处理更简便且能保证细胞外囊泡的原始状态。

细胞外囊泡作为直径30~150 nm的纳米级细胞外囊泡,其分离策略需根据样本特性(如黏度、蛋白浓度及脂质组成)进行方法学优化。比如蜂王浆与血液、血浆样品,其蛋白含量、流体性质差异显著,这就需要对分离方法做出调整和改进;细胞外囊泡鉴定需通过多模态技术验证,包括但不限于:纳米颗粒追

踪分析 (NTA)、Western blot检测标志蛋白 (CD63/TSG101) 及透射电镜形态学观察, 单一检测方法存在特异性局限, 需要多种方法来互补验证。

3 细胞外囊泡的生物学功能

细胞外囊泡富含蛋白质、脂类、糖类及核酸等组分, 这些成分在脂质双分子层的保护作用下, 可以通过体液进入靶细胞而发挥细胞间通讯的作用。细胞外囊泡还参与免疫功能、干细胞的发育和分化、神经功能、细胞信号传导、组织再生和病毒复制等过程^[20, 21]。

研究表明, 细胞外囊泡的释放是维持B淋巴细胞与滤泡树突细胞紧密结合并向T淋巴细胞呈递抗体-MHC-II复合物的必要条件^[22]。除此之外, 细胞外囊泡可以通过促进造血干细胞的增殖和存活以及激活自然杀伤细胞来调节机体的免疫激活^[23]。在抗炎方面, 过表达IL-4或IL-10的小鼠模型可以通过树突细胞释放细胞外囊泡, 以MHC-II依赖的方式来抑制迟发型过敏反应^[24]。在神经系统中, 除了经典的突触神经传递外, 神经元也可以通过释放细胞外囊泡或细胞外囊泡样囊泡来执行突触可塑性等一系列的神经生物学功能。蜂王浆是由蜜蜂的咽下腺与上颚腺分泌, 且在维持蜂群正常繁殖以及人体健康方面都发挥着重要的作用, 但其细胞外囊泡的研究较少, 其功能是否依赖细胞外囊泡尚待阐明。

4 食品中细胞外囊泡研究现状

研究表明乳源细胞外囊泡与肠道发育、肠道稳态、炎症控制与代谢等有着密切的联系^[25-29], 细胞外囊泡的结构特点使其能够提高药物的稳定性, 避免代谢消除, 延长药物在体内的循环时间^[30]。基于细胞外囊泡的结构特点, 作为药物传递载体的动物源细胞外囊泡具有抗降解与效率高的优点, 能够提高miRNA的生物利用度和功效。Baier等^[31]的研究显示在人饮用牛奶后, 其血浆和肝脏中检测到了牛奶细胞外囊泡中特异性的miRNA。Yan等^[32]使用牛奶来源的细胞外囊泡作为miR-31-5p递送的新型系统, miRNA-细胞外囊泡制剂在体外试验中显著改善内皮细胞功能, 同时促进血管生成和增强体内糖尿病伤口愈合; Zhuo等^[33]利用高胆固醇的牛奶源细胞外囊泡递送siRNA进行抗肿瘤测定, 结果表明高胆固醇牛奶源细胞外囊泡显著提高siRNA基因沉默效果, 口服与静脉注射给药至皮下肿瘤小鼠时, 牛奶源细胞外囊泡-siRNA在抗肿瘤活性方面的表现优于脂质纳米颗粒。

Mu等^[34]通过分离葡萄与柚子中的细胞外囊泡并对小鼠进行饲喂, 证明了植物通过细胞外囊泡与小鼠的肠道细胞进行通讯。Hwang等^[35]研究表明, 源自山药的纳米囊泡细胞外囊泡在-80℃条件下可有效维持碱性磷酸酶活性, 通过促进骨质疏松模型小鼠的成骨细胞分化与矿化作用增强骨再生能力, 该研究同时证实, 经口服途径摄入后, 该纳米囊泡可通过胃肠道转运被小肠吸收, 并最终递送至肝脏。Teng等^[36]研究证明, 生姜细胞外囊泡通过靶向肠道微生物组诱导IL-22产生进而增强宿主肠道屏障功能以减轻疾病危害。

5 蜂王浆中细胞外囊泡的应用展望

基于目前各种来源细胞外囊泡的研究进展以及对蜂王浆细胞外囊泡的研究, 蜂王浆细胞外囊泡可能对蜜蜂营养生理和功能发挥具有重要作用。

5.1 细胞外囊泡在蜜蜂生物学功能中的应用展望

蜂王幼虫与工蜂幼虫采食蜂王浆的质量和数量差异是蜜蜂产生级型分化导致在形态、生理机能、发育状态、社会分工及行为方面存在明显差异的重要营养因素之一^[37]。Zhu等^[38]研究表明, 幼虫食物中植物来源的miRNA可以调节蜜蜂级型分化; Ashby等^[39]通过研究幼虫时期工蜂、蜂王与雄蜂的miRNA水平, 证明miRNA在蜜蜂级型分化中发挥着重要的作用。而核酸是细胞外囊泡内含物的一种重要组成成分, 乳源细胞外囊泡中miRNA占平均RNA含量的13%^[40]。脂质双分子层为细胞外囊泡内含物提供了保护, 能够免受酶类降解, 进入靶细胞发挥作用。基于此, 我们推测蜂王浆中的细胞外囊泡在蜜蜂级型分化的发生以及蜂王的长寿命方面发挥着重要的作用, 或直接作用靶细胞, 或作为细胞间通讯的桥梁。这对解释蜜蜂级型分化以及蜂王的产卵和长寿机制提供了新的视角。

5.2 细胞外囊泡在营养保健作用中的应用展望

尽管蜂王浆细胞外囊泡的功能研究尚处初期, 但食品源细胞外囊泡的跨界、跨物种调控机制已获突破性进展。Lu等^[41]从蜂王浆中成功分离细胞外囊泡, 并将其作为新型食品源纳米载体, 用于装载褐藻多酚, 超声辅助装载实现了高达85.73%的包封率。在 α -MSH诱导的B16F10黑色素瘤细胞模型中, 装载褐藻多酚的蜂王浆细胞外囊泡有效抑制了酪氨酸酶活性、减少了黑色素合成, 并显著抑制了细胞迁移, 该研究为开发基于天然细胞外囊泡的功能性食品及靶向递送系统提供了新思路。Álvarez等^[42]研究了蜂王浆来

源的细胞外囊泡在伤口愈合中的多重调控作用,体外实验表明,蜂王浆来源的细胞外囊泡可调节间充质干细胞的分化与分泌谱,显著提升胰岛素样生长因子、肝细胞生长因子及血管内皮生长因子的分泌。同时,蜂王浆来源的细胞外囊泡通过抑制MAPK通路减轻脂多糖诱导的巨噬细胞炎症反应。体内实验进一步验证了其抗菌活性及其在胶原水凝胶递送下对小鼠全层皮肤伤口愈合的显著促进作用。Cui等^[43]讨论了乳源细胞外囊泡通过调节肠道来治疗肠道疾病(如炎症性肠病、坏死性小肠结肠炎、结直肠癌、肠缺血和再灌注损伤)的作用。同样是食物来源的细胞外囊泡,Teng等^[36]发现生姜细胞外囊泡中的miRNA可以调节小鼠和人的肠道菌群。Zou等^[44]利用新鲜陈皮中提取的细胞外囊泡处理雄性二型糖尿病模型小鼠与肥胖高血糖模型小鼠得出:陈皮中细胞外囊泡可有效缓解胰岛素抵抗,减少肝脏脂质沉积,并促进肠道黏膜修复,还能调节肠道菌群结构,恢复结肠短链脂肪酸和肝脏胆汁酸代谢的平衡,证明陈皮中提取的细胞外囊泡可以通过激活脂肪酸 β 氧化和糖酵解相关基因的表达来显著改善糖脂代谢。这些研究表明食物来源的细胞外囊泡可以通过肠道上皮组织进入人体循环,这对人类的营养和健康具有极其重要的意义,也从侧面证实了蜂王浆在机体内发挥作用一定程度上是依赖于细胞外囊泡。

细胞外囊泡在临床上还被用作药物的载体以及癌症诊断^[45],结合纳米技术和细胞递送药物的优势,在早期无创诊断与疾病检测方面显著优于传统组织活检。首先,细胞外囊泡递送药物不会在体内产生排斥反应,蜂王浆本身作为一种食品,在体内转运与免疫排斥方面具有先天的优势;其次,细胞外囊泡的脂质双分子层的保护作用,可以提高药物的稳定性,避免代谢消除,延长药物在体内的循环时间;再者,细胞外囊泡为纳米级分子,且具有细胞表面物质,可以穿透各种生物屏障^[46]。蜂王浆作为一种营养保健品,其对人体的健康是毋庸置疑的,将蜂王浆中分离出的细胞外囊泡作为药物载体具有广阔的应用前景,可为靶向治疗提供新策略。

6 总结

细胞外囊泡是介导细胞间通讯的多功能纳米载体,其研究主要聚焦于疾病诊断标志物开发及靶向递药系统构建两大领域。相较于模式生物来源的细胞外囊泡,蜂王浆作为高度复杂的生物活性复合体系,其分子作用网络的关键机制仍尚未阐明,尤其在跨物种

生理调控及药理活性物质递送方面仍存在空间。蜂王浆细胞外囊泡的分离鉴定为研究蜜蜂级型分化提供了新途径,这些纳米级囊泡可能通过携带特异性miRNA或信号蛋白,调控蜂群社会行为的表现遗传机制。更值得关注的是,蜂王浆细胞外囊泡具有独特的跨物种稳定性,在功能成分递送中应用价值显著,为解析蜂王浆的多效性功能开辟机制研究新维度。

参考文献

- [1] Adaškeviči ū tē V, Kaškonienė V, Kaškonas P, et al. Comparison of physicochemical properties of bee pollen with other bee products[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(12): 819.
- [2] 尹欣, 乔栋, 黎洪霞, 等. 不同花期蜂王浆主要成分和抗氧化活性分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(17): 291–297.
- [3] Melliou E, Chinou I. Chemistry and bioactivities of royal jelly[J]. *Studies in Natural Products Chemistry*, 2014, 43: 261–290.
- [4] Liu J R, Yang Y C, Shi L S, et al. Antioxidant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(23): 11447–11452.
- [5] 陈伊凡. 蜂王浆脂肪酸的抗炎活性及其机制研究[D]. 浙江大学, 2019.
- [6] 季文静, 张翠平, 魏文挺, 等. 蜂王浆酶解产物对d-半乳糖模型小鼠体内抗衰老的作用[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(1): 18–25.
- [7] Johnstone R M, Adam M, Hammond J R, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes)[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262(19): 9412–9420.
- [8] Schuh C M A P, Aguayo S, Zavala G, et al. Exosome-like vesicles in *Apis mellifera* bee pollen, honey and royal jelly contribute to their antibacterial and pro-regenerative activity[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2019, 222(Pt 20).
- [9] Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes[J]. *Journal of Cell Biology*, 1983, 97(2): 329–339.
- [10] van Niel G, D' Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles[J]. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 2018, 19(4): 213–228.
- [11] Vlassov A V, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: Current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–General Subjects*, 2012, 1820(7): 940–948.
- [12] Yeung V, Webber J P, Dunlop E A, et al. Rab35-dependent extracellular nanovesicles are required for induction of tumour supporting stroma[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(18): 8547–8559.
- [13] Hsu C, Morohashi Y, Yoshimura S I, et al. Regulation of exosome secretion by Rab35 and its GTPase-activating proteins TBC1D10A–C[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2010, 189(2): 223–232.
- [14] Savina A, Furl ū n M, Vidal M, et al. Exosome release is regulated by a calcium-dependent mechanism in K562 cells[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(22): 20083–20090.
- [15] Abels E R, Breakefield X O. Introduction to extracellular vesicles:

- Biogenesis, RNA cargo selection, content, release, and uptake[J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2016, 36(3): 301–312.
- [16] Bobrie A, Colombo M, Krumeich S, et al. Diverse subpopulations of vesicles secreted by different intracellular mechanisms are present in exosome preparations obtained by differential ultracentrifugation[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2012, 1(1): n/a.
- [17] Wei H, Chen Q, Lin L, et al. Regulation of exosome production and cargo sorting[J]. International Journal of Biological Sciences, 2021, 17(1): 163–177.
- [18] Naquin T D, Canning A J, Gu Y, et al. Acoustic separation and concentration of exosomes for nucleotide detection: ASCENDx[J]. Science Advances, 2024, 10(10): eadm8597.
- [19] Meng L, Zhao T, Wang S, et al. A biomimetic 3D DNA nanoplatform for enhanced capture and high-purity isolation of stem cell exosomes[J]. Analytical Methods, 2025, 17(2): 388–394.
- [20] Cao M, Diao N, Cai X, et al. Plant exosome nanovesicles (PENs): Green delivery platforms[J]. Materials Horizons, 2023, 10(10): 3879–3894.
- [21] Zhao B, Lin H, Jiang X, et al. Exosome-like nanoparticles derived from fruits, vegetables, and herbs: Innovative strategies of therapeutic and drug delivery[J]. Theranostics, 2024, 14(12): 4598–4621.
- [22] Raposo G, Nijman H W, Stoorvogel W, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles[J]. Journal of Experimental Medicine, 1996, 183(3): 1161–1172.
- [23] Pitt J M, Charrier M, Viaud S, et al. Dendritic cell-derived exosomes as immunotherapies in the fight against cancer[J]. Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 2014, 193(3): 1006–1011.
- [24] H Rashed M, Bayraktar E, K Helal G, et al. Exosomes: From garbage bins to promising therapeutic targets[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(3): 538.
- [25] Ma X, Xia J, Gong D, et al. Cow's milk allergy may induce lipid metabolism disorder in BALB/c mice via exosomes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(5): 2612–2623.
- [26] Lu X, Ren K, Pan L, et al. Sheep (ovis aries) milk exosomal miRNAs attenuate dextran sulfate sodium-induced colitis in mice via TLR4 and TRAF-1 inhibition[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(38): 21030–21040.
- [27] Xie M Y, Chen T, Xi Q Y, et al. Porcine milk exosome miRNAs protect intestinal epithelial cells against deoxynivalenol-induced damage[J]. Biochemical Pharmacology, 2020, 175: 113898.
- [28] Zhou X, Li Z, Qi M, et al. Brown adipose tissue-derived exosomes mitigate the metabolic syndrome in high fat diet mice[J]. Theranostics, 2020, 10(18): 8197–8210.
- [29] Chen T, Xie M Y, Sun J J, et al. Porcine milk-derived exosomes promote proliferation of intestinal epithelial cells[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 33862.
- [30] El Andaloussi S, Lakkhal S, Mäger I, et al. Exosomes for targeted siRNA delivery across biological barriers[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2013, 65(3): 391–397.
- [31] Sr B, C N, F X, et al. MicroRNAs are absorbed in biologically meaningful amounts from nutritionally relevant doses of cow milk and affect gene expression in peripheral blood mononuclear cells, HEK-293 kidney cell cultures, and mouse livers[J]. The Journal of Nutrition, 2014, 144(10).
- [32] Yan C, Chen J, Wang C, et al. Milk exosomes-mediated miR-31-5p delivery accelerates diabetic wound healing through promoting angiogenesis[J]. Drug Delivery, 2022, 29(1): 214–228.
- [33] Zhuo Y, Luo Z, Zhu Z, et al. Direct cytosolic delivery of siRNA via cell membrane fusion using cholesterol-enriched exosomes[J]. Nature Nanotechnology, 2024, 19(12): 1858–1868.
- [34] Mu J, Zhuang X, Wang Q, et al. Interspecies communication between plant and mouse gut host cells through edible plant derived exosome-like nanoparticles[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2014, 58(7): 1561–1573.
- [35] Hwang J H, Park Y S, Kim H S, et al. Yam-derived exosome-like nanovesicles stimulate osteoblast formation and prevent osteoporosis in mice[J]. Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society, 2023, 355: 184–198.
- [36] Teng Y, Ren Y, Sayed M, et al. Plant-derived exosomal MicroRNAs shape the gut microbiota[J]. Cell Host & Microbe, 2018, 24(5): 637–652. e8.
- [37] 王颖. 营养和空间因素对蜜蜂级型分化的影响[D]. 山东农业大学, 2016.
- [38] Zhu K, Liu M, Fu Z, et al. Plant microRNAs in larval food regulate honeybee caste development[J]. PLoS Genetics, 2017, 13(8): e1006946.
- [39] Ashby R, Forêt S, Searle I, et al. MicroRNAs in honey bee caste determination[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 18794.
- [40] Sun J, Aswath K, Schroeder S G, et al. MicroRNA expression profiles of bovine milk exosomes in response to staphylococcus aureus infection[J]. BMC genomics, 2015, 16: 806.
- [41] Lu Y, Guo Y, Wang L, et al. Royal jelly exosome-based nanocarriers enhance the stability and bioactivity of polyphenols from *ascophyllum nodosum* for melanin regulation[J]. Food Research International, 2025, 221: 117495.
- [42] Álvarez S, Contreras-Kallens P, Aguayo S, et al. Royal jelly extracellular vesicles promote wound healing by modulating underlying cellular responses[J]. Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2023, 31: 541–552.
- [43] Cui Z, Amevor F K, Zhao X, et al. Potential therapeutic effects of milk-derived exosomes on intestinal diseases[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2023, 21(1): 496.
- [44] Zou J, Song Q, Shaw P C, et al. Tangerine peel-derived exosome-like nanovesicles alleviate hepatic steatosis induced by type 2 diabetes: Evidenced by regulating lipid metabolism and intestinal microflora[J]. International Journal of Nanomedicine, 2024, 19: 10023–10043.
- [45] Setterquist R A, Rai A J, Zeringer E, et al. Abstract 1870: Development of a standard operating procedure for exosome isolation and analysis using clinical samples: application to cancer biomarker discovery[J]. Cancer Research, 2014, 74(19_Supplement): 1870.
- [46] Chaput N, Théry C. Exosomes: Immune properties and potential clinical implementations[J]. Seminars in Immunopathology, 2011, 33(5): 419–440. 