特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2026-028

外泌体糖链编辑及其功能调控研究进展

李瑞莲，王倬，杜昱光
（中国科学院过程工程研究所，生物药制备与递送全国重点实验室，北京 100190）

摘要：外泌体是介导细胞间通信的关键胞外囊泡，其表面糖链构成的糖萼结构被誉为细胞间通信的“糖密码”，在靶向识别、细胞摄取、免疫调节及信号转导中发挥核心作用。然而，天然外泌体糖链的高度异质性导致其作为药物递送载体时面临靶向性不足、胞内递送效率低、体内易被清除等临床转化瓶颈。外泌体糖链编辑技术通过精准修饰或重构糖链结构，为突破上述难题提供了革命性手段，成为糖生物学与纳米医学交叉领域的研究前沿。本文系统综述了外泌体糖链的组成特征、分析技术进展与核心生物学功能，重点阐述了宿主细胞工程、体外直接修饰、合成生物学重构三大糖链编辑策略的技术原理与应用优势，深入解析了糖链编辑对外泌体靶向特异性、细胞内吞途径、免疫原性及货物装载的调控机制，总结了工程化糖链编辑外泌体在肿瘤、炎症性疾病、神经退行性疾病与代谢性疾病治疗中的应用前景。同时，本文指出该领域目前面临外泌体异质性难控、糖链编辑精度不足、规模化制备成本高、临床转化标准缺失等挑战。未来将通过基因编辑、微流控、AI辅助设计等多技术融合，发展微环境响应型智能糖链编辑，深化糖链-货物调控机制解析，加快行业标准与监管体系建设，最终推动外泌体糖链编辑技术在精准医疗、靶向药物递送与疾病诊疗中的产业化落地。

关键词：外泌体；糖基化；糖链编辑；合成生物学；细胞间通信；药物递送；代谢标记

中图分类号：Q81　　**文献标志码：**A

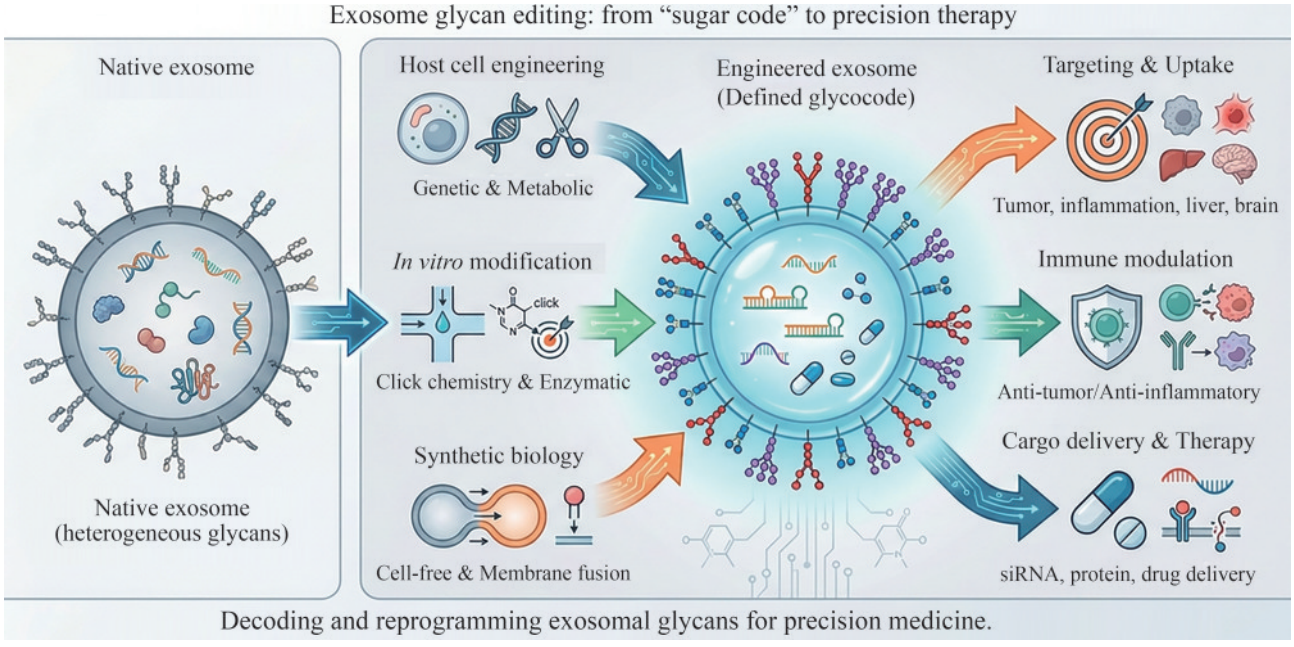
Research progress on exosome glycan editing and its functional regulation

LI Ruilian，WANG Zhuo，DU Yuguang
（*State Key Laboratory of Biopharmaceutical Preparation and Delivery*，*Institute of Process Engineering*，*Chinese Academy of Sciences*，*Beijing 100190*，*China*）

Abstract: Exosomes are 30-150 nm extracellular vesicles secreted by nearly all living cells, serving as essential carriers for intercellular communication. The glycocalyx on exosome surfaces, mainly composed of glycans from glycoproteins and glycolipids, acts as a critical “glycocode” that governs target recognition, cellular internalization, immune modulation, and signal transduction. However, the inherent high heterogeneity of native exosome glycans severely restricts their clinical translation, especially as drug delivery vehicles, due to insufficient targeting, low intracellular delivery efficiency, and rapid clearance by the immune system *in vivo*. Exosome glycan editing, an

收稿日期：2026-04-20 修回日期：2026-07-03
引用本文：李瑞莲，王倬，杜昱光. 外泌体糖链编辑及其功能调控研究进展[J]. 合成生物学，2026，7(4)：930-948
Citation：LI Ruilian，WANG Zhuo，DU Yuguang. Research progress on exosome glycan editing and its functional regulation[J]. Synthetic Biology Journal，2026，7(4)：930-948

emerging interdisciplinary technology integrating glycobiology, synthetic biology, chemical biology, and nanotechnology, enables precise manipulation, modification, or *de novo* reconstruction of exosome glycan structures, offering a revolutionary strategy to optimize exosome performance and expand their therapeutic applications. This review systematically summarizes the compositional characteristics, advanced analytical techniques, and core biological functions of exosome glycans. It elaborates on three major glycan editing strategies: host cell engineering (*in vivo* editing), *in vitro* direct modification, and synthetic biology reconstitution, highlighting their technical principles, advantages, and recent breakthroughs. The review further dissects the regulatory mechanisms of edited glycans on exosome biological behaviors, including targeting specificity, endocytic pathways, immunogenicity, and cargo loading (*e.g.*, miRNAs). It also comprehensively presents the application prospects of glycan-engineered exosomes in the treatment of tumors, inflammatory diseases, neurodegenerative disorders, and metabolic diseases. Nevertheless, the field still faces critical challenges, such as uncontrollable exosome heterogeneity, limited precision of glycan editing, high costs of large-scale preparation, and the lack of standardized quality control and regulatory systems for clinical translation. Future directions will focus on the integration of CRISPR gene editing, cell-free synthesis, microfluidics, and AI-assisted glycan design to develop microenvironment-responsive intelligent glycan editing, elucidate the molecular mechanisms of glycan-cargo crosstalk, establish unified industrial standards, and accelerate clinical translation. This review underscores that interdisciplinary convergence is essential for achieving precise programming of exosome glycan functions, ultimately significantly accelerating the development of exosome-based precision medicine and biotherapeutics.



Keywords: exosomes; glycosylation; glycan editing; synthetic biology; intercellular communication; drug delivery; metabolic labeling

外泌体是几乎所有活细胞均可分泌的一类直径约30～150 nm的细胞外囊泡，其内部包裹蛋白质、核酸、脂质及代谢物等多种生物活性分子，构成了复杂精密的细胞间信息通信网络[1]。近年研究不仅明确了外泌体在生理稳态维持与病理进程调控中的核心作用，也推动其成为疾病诊断标

志物与新型治疗载体领域的研究热点。然而，外泌体的临床转化应用，尤其是作为药物递送载体时，仍受限于靶向性不足、胞内递送效率低下及体内易被免疫系统清除等关键瓶颈。

外泌体的生物学活性高度依赖于其膜表面分子特征，其中糖基化修饰是不可或缺的核心调控维度。与宿主细胞膜类似，外泌体表面覆盖着密集的糖萼结构，这些糖链并非单纯的“保护糖衣”，而是承载着丰富的生物学信息，被广泛誉为细胞间通信的“糖密码”[2]。它们直接参与配体-受体的特异性识别过程，精准调控外泌体与靶细胞的初始接触、胞内内化及后续命运决定，是外泌体发挥生物学功能的关键分子基础[3]。然而，天然外泌体的糖链组成具有高度异质性，其结构与丰度受细胞来源、生理病理状态及培养条件等多种因素影响，这种不确定性不仅阻碍了对糖链生物学功能的深入解析，更严重制约了外泌体应用的标准化与规范化发展。

“糖链编辑”概念的提出与发展，为破解上述瓶颈提供了革命性技术手段。该技术融合糖生物学、合成生物学、化学生物学及纳米技术的核心理念，旨在通过精准的分子操作，对外泌体表面糖链结构进行定向增添、删除、修饰或从头重塑。其价值不仅在于成为解析糖链功能的基础研究工具，更能通过主动“编程”外泌体的生物学特性，定向优化其靶向性、递送效率及免疫相容性，从而为外泌体的临床转化与功能升级开辟全新路径。

1 外泌体糖链的组成、分析技术与生物学功能

1.1 组成特征

外泌体糖链具有显著的特异性与复杂性，其分布、类型及表达模式与功能密切相关。糖链主要分布于膜表面及腔内：膜表面糖链锚定在跨膜蛋白（经典四次跨膜蛋白CD9、CD63、CD81、PD-L1、E-钙黏蛋白等）和糖脂（神经节苷脂GM1、GM3，鞘糖脂等）上，可调控载体蛋白构象、膜流动性及信号传递[4]；腔内新发现的糖基化RNA（glycoRNA，＜200 nt）主要携带唾液酸等糖型，对RNase具有抗性，可参与细胞间RNA通信，其分选与蛋白质糖基化存在协同调控关系[5]。

外泌体糖基化谱与亲本细胞既有相似性，也有特异性。例如，PDX类器官与亲本肿瘤细胞外泌体66%的*N*-糖链类型共享，但丰度和修饰模式存在差异[6]。肿瘤来源外泌体常富含唾液酸（α-2，6-唾液酸）、岩藻糖及β-1，6分支*N*-糖链，参与肿瘤免疫逃逸与转移[7]；三阴性乳腺癌患者血浆外泌体的岩藻糖化、唾液酸化糖链丰度显著升高，可作为精准诊断标志物，准确率达91%[8]。

外泌体糖链组成受细胞糖基化机制精密调控，具有时空特异性，其糖基化模式可作为细胞来源与生理病理状态的“分子指纹”[9]。调控核心依赖糖基化相关酶的动态平衡：ST6-β-半乳糖苷α-2，6-唾液酸转移酶1（ST6Gal1）、岩藻糖基转移酶8（FUT8）分别调控唾液酸化、岩藻糖化糖链合成，与肿瘤外泌体功能密切相关[4]；研究发现，UDP-半乳糖-4-表异构酶（UDP-galactose-4-epimerase，GALE）参与调控糖基化RNA（glycoRNA）的形成，而抑制寡糖转移酶（oligosaccharyltransferase，OST）可同时降低glycoRNA与糖蛋白的糖基化水平，提示蛋白质糖基化与RNA糖基化之间存在协同调控关系[5]。此外，内体分选转运复合体（endosomal sorting complexes required for transport，ESCRT）依赖性与非依赖性通路共同参与外泌体糖链的分选，通路功能异常会导致glycoRNA在外泌体中异常积累[5]。这些研究不断丰富和完善了外泌体糖链的调控网络，为糖链编辑策略的设计与优化提供了重要的理论支撑。

1.2 分析技术进展

近年来，外泌体糖链分析技术的发展已形成传统技术优化与新型技术革新并行的格局，在分辨率、灵敏度及时空分辨率上持续突破。传统凝集素芯片/印迹技术操作简便、成本较低，适合糖链结合模式的高通量初筛，但分辨率有限[10]；通过优化凝集素阵列并联合荧光信号放大技术，其检测灵敏度提升10～100倍，可实现低丰度外泌体糖链初筛；与质谱联用更可弥补分辨率不足的缺

陷，实现目标糖链结构鉴定[3, 10]。

质谱技术的革新是糖链深度解析的关键。液相色谱-串联质谱（liquid chromatography-tandem mass spectrometry，LC-MS/MS）已成为核心手段，可精准解析完整糖肽和游离糖链，揭示特定位点糖基化微观不均一性。2024年研究通过亲水相互作用色谱（hydrophilic interaction liquid chromatography，HILIC）与TiO_2联用优化糖肽富集策略，可鉴定低至fmol级糖肽[12]；高分辨质谱（如Orbitrap Fusion）可区分同分异构糖链，提升结构解析准确性[11]。

原子力显微镜（atomic force microscopy，AFM）识别成像技术可在纳米尺度（＜2 nm）原位可视化单个外泌体糖链的分布、密度及构象，为功能研究提供空间信息[11, 13]。该技术通过凝集素修饰探针实现糖链精准识别，可观察不同来源外泌体糖链差异[14]；2025年AFM与红外光谱联用（AFM-IR）可同步解析糖链分布与化学组成，还能检测外泌体机械性能，为糖链功能调控研究提供新视角[3]。

Kundu等[14]开发的酶法糖工程功能化策略，实现了糖链编辑与分析的协同。利用唾液酸转移酶、叠氮修饰唾液酸及点击化学，可高灵敏度检测外泌体糖基化模式，检测限达单个外泌体水平。近年优化后采用无铜点击化学降低毒性，引入近红外荧光探针实现体内糖链实时成像，与流式联用可实现单外泌体糖链分型定量，助力临床标志物筛选[15-16]。

此外，微流控芯片实现外泌体捕获、纯化与糖链分析一体化，适用于微量临床样本[17]；空间分辨糖组学技术可在组织切片中原位分析外泌体糖链[18]；AI辅助糖链解析通过构建预测模型，可快速解析糖链结构，缩短分析周期[19]。

总体而言，外泌体糖链分析技术正朝着高灵敏度、高分辨率、高通量、原位化方向快速发展，为糖链编辑及临床转化提供坚实技术保障。

1.3 核心生物学功能

1.3.1 靶向与摄取调控

糖链作为外泌体精准靶向的“邮政编码”，通过与靶细胞表面特异性受体的识别结合，直接决定外泌体的体内分布、胞内摄取效率及循环命运。其靶向特异性与糖链类型、修饰模式密切相关。外泌体表面高表达的甘露糖、*N*-乙酰葡萄糖胺（*N*-acetylglucosamine，GlcNAc）可被抗原呈递细胞表面C型凝集素受体识别，快速启动胞内摄取，促进抗原呈递与免疫激活[15]；而唾液酸化修饰（尤其是α-2,6-唾液酸）则可通过屏蔽正电荷或与唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素（sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin，Siglec）受体结合，影响肝脏清除，显著延长外泌体体内循环半衰期，同时降低非特异性摄取[20]。半乳糖修饰的外泌体可通过与肝细胞表面去唾液酸糖蛋白受体（asialoglycoprotein receptor，ASGPR）结合，实现肝脏特异性靶向，为肝脏疾病的靶向治疗提供了新载体[21]；外泌体腔内glycoRNA携带的唾液酸、半乳糖等糖型也可参与靶向调控，其糖链部分可增强外泌体与免疫细胞的结合能力[5]。临床研究显示，双重糖链修饰（甘露糖+岩藻糖）可使外泌体在小鼠肺癌模型中的肿瘤部位富集效率提升6.2倍，显著优于单一糖链修饰，印证了糖链组合修饰在靶向调控中的优势[14]。

1.3.2 免疫调节

外泌体糖链是调控机体免疫稳态的核心分子，可介导免疫激活或免疫逃逸，其功能呈现显著的糖型特异性与细胞来源依赖性。肿瘤外泌体糖链介导的免疫逃逸是当前研究热点。肿瘤外泌体可通过多条糖链相关通路实现免疫抑制：其表面唾液酸-Siglec轴是介导免疫逃逸的关键通路[22]；表面岩藻糖化抗原可与树突状细胞表面特异性细胞间黏附分子-3结合非整合素分子（dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin，DC-SIGN）结合，直接诱导免疫耐受[23]；高表达的β-1,6分支*N*-糖链则可与巨噬细胞表面CD206结合，促使巨噬细胞向M2型极化，并分泌IL-10、TGF-β等抗炎因子，进一步抑制抗肿瘤免疫应答[7]。与之相反，间充质干细胞（mesenchymal stem cell，MSC）等正常细胞来源的外泌体，其表面甘露糖修饰可有效促进树突状细胞成熟、激活T细胞增殖，并上调IFN-γ、IL-2等促炎细胞因子分泌，从而增强机体抗肿瘤与抗炎

能力[14]。

除调控免疫细胞功能外，外泌体糖链还参与补体系统调控。研究证明，唾液酸化修饰可抑制补体经典途径激活，减少补体介导的外泌体清除，同时减轻炎症损伤[22]。在靶向免疫干预方面，通过工程化改造外泌体表面糖蛋白，可显著提升B细胞靶向效率，为自身免疫性疾病治疗提供新策略[24]。而岩藻糖基化外泌体可结合T细胞表面CD45，抑制T细胞活化并诱导凋亡，强化免疫耐受，为器官移植排斥反应的干预提供了新方向[24]。

1.3.3 信号转导

外泌体糖链可通过直接作为功能配体、调控载体蛋白活性或介导货物递送参与信号转导，调控靶细胞的生理病理状态，其信号调控功能具有多通路、多靶点特征。外泌体表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖糖链可特异性结合生长因子（如VEGF、FGF），激活PI3K/AKT等通路，调控细胞增殖、迁移及血管生成[25]；外泌体表面的*O*-糖链修饰可增强表皮生长因子受体（EGFR）的磷酸化水平，激活MAPK/ERK通路，促进肿瘤细胞增殖与迁移，而糖链编辑去除*O*-糖链可显著抑制该通路激活，抑制肿瘤进展[4]。

此外，外泌体糖链还可通过调控货物递送间接参与信号转导。最新研究表明，脂肪组织来源外泌体中的miR-141-3p可通过靶向PTEN调控PI3K/AKT信号通路，进而影响肝脏糖异生和糖原合成，在肥胖诱导的胰岛素抵抗中发挥关键调节作用[26]。进一步研究证明，脂肪组织来源外泌体的岩藻糖化糖链可通过调控miR-27a-3p/PPARγ信号通路，参与肥胖相关代谢紊乱的调控，促进脂肪细胞分化与脂质积累[27-28]。值得注意的是，外泌体腔内glycoRNA的糖链部分也可结合靶细胞表面的凝集素受体，激活JAK/STAT3通路，调控靶细胞炎症反应，为细胞间RNA通信提供了新的调控维度[5]。这些研究表明，外泌体糖链通过直接或间接方式，构建了复杂的信号调控网络，参与多种生理病理过程。

综上所述，外泌体糖链通过靶向识别与摄取、免疫调节、信号转导三大核心途径介导细胞间通信（图1）。

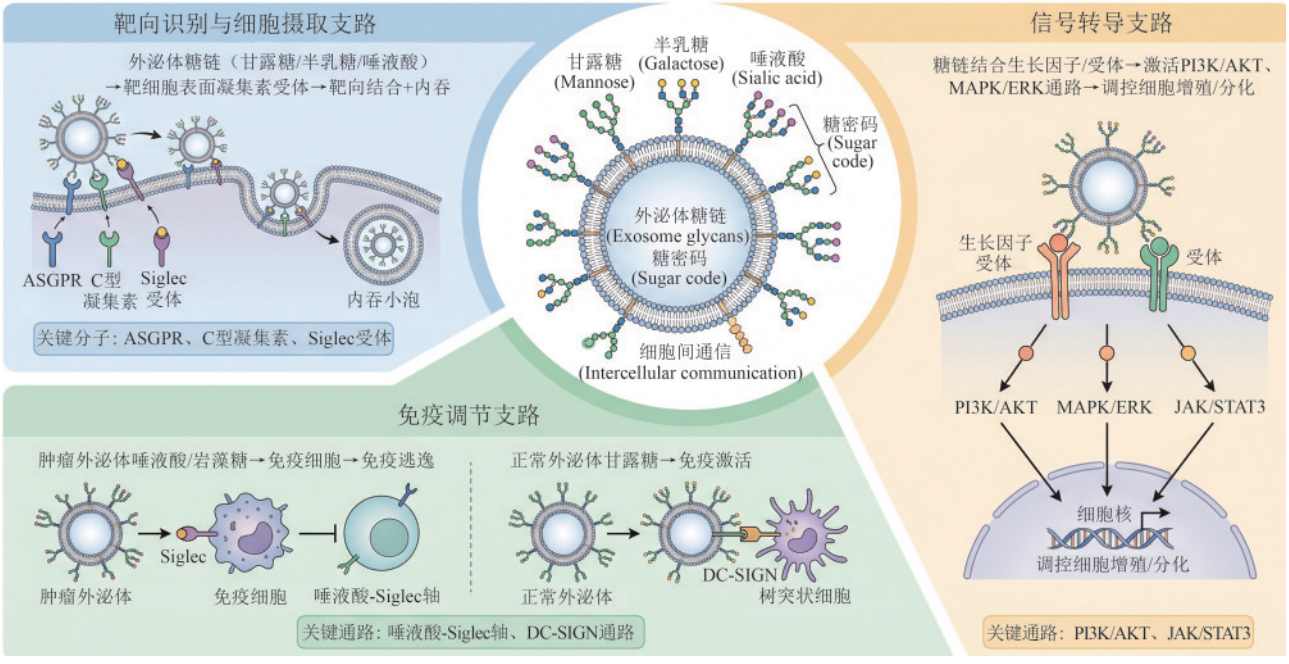


图1 外泌体糖链介导靶向识别、免疫调控与信号转导的核心分子网络

[图示关键分子（凝集素、Siglec、ASGPR、DC-SIGN）及下游效应通路，凸显糖链作为“糖密码”在细胞间通信中的核心作用]

Fig. 1 Core molecular network underlying glycan-mediated targeted recognition, immune regulation and signal transduction of exosomes

(Key molecules, including lectins, Siglecs, ASGPR and DC-SIGN, as well as their downstream effector pathways, are illustrated to highlight the central role of glycans as “glycocodes” in intercellular communication.)

2 外泌体糖链编辑的策略与技术

糖链编辑的核心目标是对外泌体糖基化过程进行精准操控，实现糖链结构的定向修饰、重构与功能优化，为外泌体的临床转化提供技术支撑。根据编辑场景与技术路径的差异，其主要策略可明确分为三大类：基于宿主细胞的“体内编辑”、对外泌体本身的“体外编辑”，以及融合二者优势的“合成生物学重构”。近年来，随着糖生物学、合成生物学与纳米技术的交叉融合，这三大策略均取得了突破性进展，逐步克服了传统编辑技术的局限，推动外泌体糖链编辑向精准化、规模化、功能化方向发展。

2.1 宿主细胞工程（体内编辑）

宿主细胞工程是通过调控外泌体亲本细胞的糖基化系统，使细胞分泌出天然携带目标糖链修饰的外泌体，该策略的核心是对细胞内糖基化相关酶和糖链合成通路进行精准调控，主要分为基因工程和代谢工程两部分，二者协同推动体内编辑技术向精准化、高效化发展。

2.1.1 基因工程

基因工程方面近年来涌现了两类代表性策略。

一是“糖基化修饰”策略：通过过表达特定的糖基转移酶，使外泌体表面可展示更具靶向性的糖配体。例如，通过共表达岩藻糖基转移酶FUT7/FUT9与CD63糖基化结构域，成功在外泌体表面同时展示唾液酸化路易斯X（sialyl Lewis X，sLeX）和路易斯X（Lewis X，LeX）两种功能糖配体，分别实现了对活化内皮细胞和树突状细胞的高特异性靶向[4, 29]。2026年，山东大学齐鲁医院团队通过酶法糖工程化改造人脐带间充质干细胞外泌体，使其表面富集GlcNAc，进而实现了对2型糖尿病小鼠肝脏和骨骼肌两大核心代谢组织的特异性双靶向，显著改善了小鼠高血糖、胰岛素抵抗和异位脂质沉积[30]。

二是“糖基化去除”策略，即通过基因敲除技术删除特定糖基转移酶或糖合成相关酶，在外泌体表面定向删除某一类糖链结构，从而用于研究该类糖链的功能或改善递送效率，该策略为解析外泌体表面糖萼各组分对细胞摄取的贡献提供了直接手段。丹麦技术大学的研究团队建立了名为“Simple cell”的基因工程平台，通过精准敲除HEK293F细胞中负责不同糖类合成的关键酶基因，获得了具有单一糖基化缺陷的等基因细胞系，包括ΔNG（*N*-糖链缺陷）、ΔOG（*O*-糖链缺陷）、ΔGSL（鞘糖脂缺陷）、ΔSA（唾液酸缺陷）以及ΔGAG（糖胺聚糖缺陷），从而从源头上产生表面特定糖链缺失的定制版外泌体。研究发现，敲除GAG后产生的ΔGAG-EVs对NK-92、KHYG-1等极难转染的自然杀伤细胞的摄取量较天然囊泡提升了5.5～7.5倍，最终使基因递送效率和转基因表达量实现了逾30倍的提升[31]。这一发现揭示了一个重要原理：外泌体表面某些特定糖基化修饰实际上充当了限制细胞摄取和货物释放的“物理屏障”，去除这些屏障可显著提升跨膜递送效率，为糖链编辑从传统的“加法”模式向“减法”模式转变提供了全新的设计思路。

2.1.2 代谢工程

代谢工程通过向供体细胞培养基中添加带有叠氮基团等功能基团的非天然糖代谢前体（如四酰化*N*-叠氮乙酰甘露糖胺，Ac_4ManNAz），使细胞在代谢过程中将这些非天然糖整合入表面糖蛋白和糖脂中，外泌体随之继承这一糖基标记[32]。生物正交无铜点击化学（bioorthogonal copper-free click chemistry，BCC）与代谢糖工程（metabolic glycoengineering，MGE）的联用是这一领域最核心的技术组合[33]。Lim等[34]将MGE与BCC相结合，先对细胞进行叠氮基团代谢标记，再通过点击化学将聚乙二醇化透明质酸偶联至细胞表面，最终从改造后的细胞中提取表面编辑的外泌体。该工程化外泌体在类风湿关节炎和肿瘤动物模型中均可有效积聚于靶组织，这主要归因于其延长的血液循环时间以及CD44介导的主动靶向机制。

值得关注的是，代谢糖工程策略不仅可用于外泌体表面的正向工程化改造，还可拓展至负向清除策略，即主动清除体内有害的肿瘤来源外泌体。河北医科大学张艳荣、范淼团队[35]2025年开发的生物正交清除策略（bioorthogonal elimination strategy，Biordee）正是利用这一原理的典范：首先通过甘露糖-N_3脂质体对肿瘤细胞进行代谢标记，使其分泌的肿瘤来源外泌体（tumor-derived exosome，

TExo）表面带有叠氮基团，再通过二苯并环辛炔（dibenzocyclooctyne，DBCO）修饰的IgG可结晶段（Fc段）与TExo-N_3发生生物正交点击反应，形成TExo-Fc复合物，该复合物借助IgG Fc段与巨噬细胞表面FcγRⅡ/Ⅲ受体的特异性相互作用，促进巨噬细胞对TExo的高效吞噬清除，从而有效打破化疗相关的免疫抑制并抑制肿瘤转移[35]。该策略充分体现了代谢糖工程在调控外泌体循环命运方面的独特价值——从“利用外泌体”转向“清除有害外泌体”，为肿瘤免疫治疗开辟了新思路。

2.2 体外直接修饰（体外编辑）

体外直接修饰是先通过超速离心、微流控等技术分离纯化外泌体，再在体外利用各类技术对其表面糖链进行直接修饰。其核心是摆脱细胞内代谢环境的干扰，实现糖链的精准可控编辑。根据技术原理的差异，该策略主要分为化学修饰与点击化学、酶法糖工程、微流控技术集成三大类，各类技术优势互补，推动体外编辑向高效化、精准化、规模化方向发展。

2.2.1 化学修饰与点击化学

基于叠氮-炔环加成的点击化学因反应高效、条件温和、生物相容性好，已成为外泌体表面功能化的主流工具[36]。2025年Kundu等[14]在*Advanced Science*上发表的研究中，利用唾液酸转移酶和叠氮修饰的唾液酸供体，将叠氮基唾液酸酶促安装到外泌体表面聚糖上，再通过简单且生物相容的点击化学将生物素、蛋白质、荧光探针等多种功能分子连接到外泌体表面，该方法的优势在于不依赖于供体细胞的遗传改造，可直接对已分离的外泌体进行快速、大规模的糖链功能化，且不同来源外泌体均可应用。利用该技术，研究者成功揭示了不同来源外泌体具有独特的糖基化谱，并确认巨胞饮作用是外泌体被细胞摄取的主要和内化通用途径[14]。

2.2.2 酶法糖工程

酶法糖工程的核心原理是利用特异性糖基转移酶或糖苷酶，对外泌体表面糖链进行定向添加、切除或修饰，实现糖链结构的精准重构，同时最大程度保留外泌体的完整性与生物活性[37]。以Kundu等开发的技术[14]为代表，其核心策略是利用糖基转移酶催化的转糖基反应，将非天然糖基供体直接转移到外泌体表面糖链的末端。在此基础上，Zhou等[38]将酶法糖工程与微流控技术相集成，采用来源于空肠弯曲杆菌的α-2,3-唾液酸转移酶CSTⅡ和叠氮-唾液酸供体（9-N_3-Neu5Ac-CMP），在微流控芯片中将N_3-Neu5Ac酶促安装至已捕获外泌体的表面聚糖上，再通过点击化学偶联生物素标记的抗体或荧光标签。该方法的核心创新在于将糖基化修饰与微流控捕获-反应集成于一体，显著提高了外泌体的回收效率和修饰通量[14，38]。

2.2.3 微流控技术集成

微流控技术是近年体外编辑的前沿方向，其核心是将外泌体的分离纯化、糖链修饰、功能检测等步骤集成到微流控芯片上，实现“一体化、微型化、高通量”的糖链编辑，有效解决传统体外编辑步骤烦琐、样本用量大、修饰效率低的问题[39]。中国科学院深圳先进技术研究院杨慧团队开发的ExoSE（EV surface-engineering device）微纳流控平台代表了该领域的最新进展。该平台将小细胞外囊泡（sEV）表面工程化过程解耦为“加载”与“混合”两个核心独立模块：加载模块利用高通量并联纳米流控结构对sEV进行机械瞬时穿孔，实现功能脂质的高效嵌入（脂质嵌入效率>97%，优于常规共孵育技术）；混合模块通过独特设计的微流控结构促进配体分子的快速连接。实验数据显示，经ExoSE工程化后，每个囊泡表面配体结合量增加3～6倍；RGE肽修饰sEV的血脑屏障穿透能力提升超过3倍，AS1411适配体偶联sEV对乳腺癌细胞的靶向特异性达到77.8%。该平台消除了对供体细胞的依赖，适用于多种来源的sEV（包括高产量的牛奶来源sEV），构建了标准化、可扩展的sEV靶向治疗通用技术框架[40]。

2.3 合成生物学重构

合成生物学重构路径突破了天然外泌体生物发生的边界，通过从头设计和组装，构建具有定

制化功能的杂合外泌体系统[41]。与前两种策略不同，该路径更强调“跨界整合”和“从头制造”，主要包括病毒包膜糖蛋白工程、膜融合与杂合囊泡构建、无细胞合成三大方向。

2.3.1 病毒包膜糖蛋白工程

病毒包膜糖蛋白（glycoprotein，GP）经过长期进化，具有高效的靶向识别和膜融合能力。研究者将其“劫持”至外泌体表面，可赋予外泌体病毒样的高效递送特性。这一策略的生物学基础在于：外泌体生物发生与病毒出芽共享部分分子机器（如ESCRT通路），因此通过供体细胞表达特定病毒GP，即可使其在外泌体形成过程中被动掺入[42]。研究表明，多种病毒来源的GP（如VSVG、HSV-gpB、SARS-CoV-1刺突蛋白和RD114A）均能高效整合入外泌体膜中，其中VSVG修饰的外泌体在受体细胞中的摄取量提高2倍以上，且能延长鼻黏膜滞留时间，增强黏膜免疫应答[43]。该策略的优势在于直接借用病毒进化优化的靶向模块，可实现高效膜融合和胞质递送，尤其适用于核酸药物的胞内递送；然而，病毒GP的免疫原性是制约其临床转化的主要瓶颈，特别是重复给药时可能诱发中和抗体。此外，不同细胞类型对病毒GP的整合效率差异较大，这限制了通用性。总体而言，该策略最大的启示在于：自然界已经为我们提供了高效的递送模块，关键在于如何通过蛋白质工程（如去免疫原化、靶向改向）对其进行“驯化”，而非简单移植。未来若能开发出低免疫原性、高整合效率的嵌合GP，该策略有望成为外泌体靶向递送的通用平台。

2.3.2 膜融合与杂合囊泡构建

与病毒GP工程不同，膜融合策略不依赖于细胞的生物发生机器，而是在外泌体形成后通过人工诱导融合，将不同来源囊泡（如外泌体与脂质体、不同细胞来源的外泌体）的膜组分和内容物进行整合，构建“混血”杂合囊泡[44]。其技术逻辑类似于细胞杂交，通过打破膜屏障实现功能的“1+1>2”。从技术迭代看，早期以PEG为代表的化学融合剂效率低（通常<30%），且易导致囊泡聚集。近年发展的细胞穿透肽偶联脂质（如Tat-PEG-脂质）将融合特异性提升至70%以上，杂合囊泡载药量较未融合囊泡提升近5倍。这一进步的关键在于：Tat肽不仅能促进膜融合，还能增强细胞摄取，实现了“融合-靶向”双功能[45-46]。该策略的最大优势在于操作简单、无需遗传改造，且原料来源广泛（如牛奶外泌体可大规模获取），特别适合快速原型验证和个性化制备。但其根本局限在于杂合囊泡的均一性难以控制，融合后的粒径分布宽、糖链组合不可预测，且融合过程可能破坏外泌体原有的完整性和货物活性。从更深层次看，膜融合的随机性决定了它更适合于“粗放式”功能整合，而非“精准”糖链编程。因此，该策略的定位应是快速制备平台，而非标准化生产的最终方案。

2.3.3 无细胞合成

无细胞合成代表了外泌体糖链编辑的终极方向，彻底摆脱活细胞的代谢约束，在体外完成对囊泡表面糖链的精准定制[47]。该路径采用“底盘细胞+无细胞体系”的双层策略：首先通过基因工程和代谢工程改造亲本细胞（如酿酒酵母），使其分泌携带基础糖链修饰的“半成品”外泌体，这些囊泡已具备基本框架但表面糖链尚待精修[48]；随后利用无细胞蛋白合成系统对这些“半成品”进行定向的表面工程化修饰。这种分层设计兼顾了生产效率（底盘细胞批量生产）和编辑精度（无细胞体系定点修饰）。酵母底盘具有先天优势：其“公认安全”（GRAS）状态、成熟的遗传操作工具以及相对均一的EV群体，使其成为标准化生产的理想起点[48]。在无细胞合成层面，加州大学戴维斯分校团队建立的VESSEL（vesicle engineering systems using synthetic expression and loading）平台，首次实现了39种外泌体表面蛋白的高通量功能筛选，鉴定出CADM1、NPTN等可介导高细胞摄取的新蛋白，为精准设计与功能验证提供了变革性平台技术[49]。2025年，Kelwick等[50]利用中空纤维生物反应器结合无细胞蛋白合成系统，成功对已分离的外泌体进行表面膜蛋白工程化修饰，在优化条件下制备的工程化外泌体浓度高达4.83×10^{11}个/mL，为外泌体的规模化工程化修饰提供了可扩展的技术路径。这些进展表明，“细胞制造+无细胞精修”的混合模式已具备产业化的技术基础。当然，成本仍然是最大的路障：糖核苷酸底

物、糖基转移酶等核心原料每毫克成本可达数千元，远高于传统细胞培养。但考虑到该策略可实现高度定制化和批次间一致性，在精准医疗和高端应用中具有不可替代的价值[51]。可以预见，随着酶工程和代谢流优化的推进，无细胞合成将逐步从实验室走向GMP生产，成为外泌体糖链编辑的主流技术范式。

上述三大策略（宿主细胞工程、体外直接修饰与合成生物学重构）的技术路线与协同关系总结如图2所示。

2.4 三大编辑策略的系统对比

上述三大策略在技术原理上各有侧重，但在实际研究和转化应用中，研究者往往面临“选哪条路”的决策困境。为便于技术选型，本文从编辑精度、制备成本、批次均一性、规模化潜力和临床转化成熟度五个核心维度进行量化对比（表1）。宿主细胞工程最适合需要批量生产、对成本敏感的应用场景（如MSC外泌体的规模化制备），但研究者需接受其固有的批次间差异，适用于对均一性要求不高的适应证（如局部给药的炎症性疾病）；若需精准控制糖链结构或快速功能化筛选，体外直接修饰是更优选择，微流控集成平台（如ExoSE）已实现配体结合量增加3～6倍，特别适合个性化医疗和快速原型验证；合成生物学重构虽成本最高，但对精度和一致性要求极高的高端应用（如精准靶向基因治疗载体）具有显著优势，随着酶工程和代谢流优化的推进，该策略有望成为未来主流范式。三大策略并非相互排斥，在实际研发中可根据目标适应证、预算和时效要求灵活组合使用（例如“细胞制造+无细胞精修”的混合模式）。

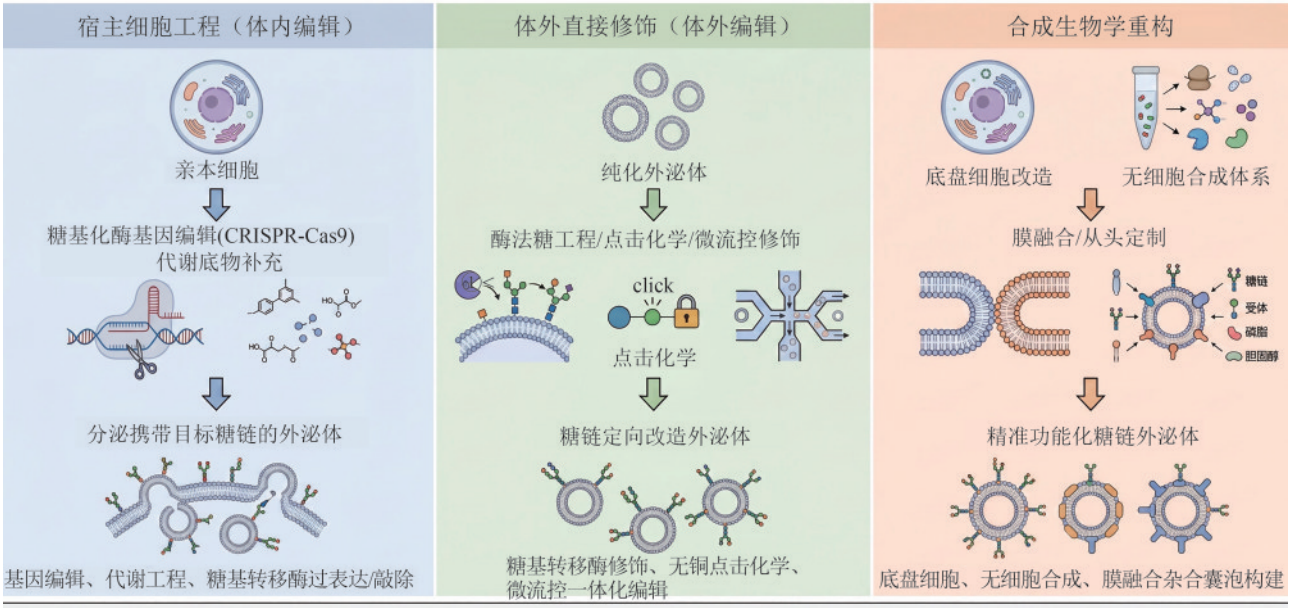


图2 外泌体糖链编辑的策略与技术路线

[宿主细胞工程（体内）：经基因/代谢工程改造亲本细胞，批量生产预设糖型外泌体。体外直接修饰：对纯化后外泌体进行酶法/点击化学/微流控重塑，灵活快速功能化。合成生物学重构：通过底盘细胞、无细胞合成或膜融合从头构建定制化外泌体，精度最高。三者协同实现糖链编辑的精准化与功能化]

Fig. 2 Three major strategies and technical routes for exosome glycan editing

(*In vivo* host cell engineering: Parental cells are genetically or metabolically engineered to mass-produce exosomes with predefined glycoforms. Direct *ex vivo* modification: Purified exosomes are functionally and rapidly remodeled *via* enzymatic catalysis, click chemistry or microfluidic techniques. Synthetic biological reconstruction: Customized exosomes are *de novo* assembled with the highest precision using chassis cells, cell-free synthesis or membrane fusion systems. The synergistic combination of the three approaches enables precise and functional glycan engineering of exosomes.)

表1 三大糖链编辑策略的核心维度量化对比

Table 1 Quantitative comparison of core dimensions among three major glycan editing strategies

对比维度	宿主细胞工程	体外直接修饰	合成生物学重构
编辑精度	中-高（基因编辑效率决定，位点特异性可达>90%）	高（酶法/点击化学定点修饰，可控性强）	最高（从头设计，可实现原子级精度）
制备成本	低-中（细胞培养为主，规模放大后成本可控）	中（需纯化后再修饰，酶/糖核苷酸底物成本高）	高（糖核苷酸底物每毫克达数千元[51]）
批次均一性	低（细胞异质性导致批间波动大）	中-高（纯化后修饰，批间可控性改善）	高（无细胞体系，一致性最优）
规模化潜力	高（发酵工程成熟，已有GMP级生产报道[52]）	中（受限于修饰步骤通量，微流控正突破瓶颈[40]）	低-中（中空纤维反应器已初步验证[50]）
临床转化成熟度	较高（MSC外泌体已有临床前数据）	中（ExoSE平台已实现千/天级通量）	低（多为概念验证阶段）
技术门槛	中（需基因编辑/代谢工程能力）	低-中（化学/酶学操作相对标准化）	高（需合成生物学/无细胞系统专长）
主要局限	异质性问题突出；基因改造细胞安全性存疑	步骤烦琐；难以实现多种糖链的同步协同修饰	成本高昂；规模化瓶颈突出

3 糖链编辑对外泌体调控功能的影响

3.1 靶向性与递送效率的精准调控

糖链编辑通过在外泌体表面定向展示特定糖基配体，借助糖基与靶细胞表面凝集素受体或选择素之间的特异性识别，实现了对炎症部位、肿瘤细胞及免疫细胞等多类靶区的精准递送，为克服天然外泌体靶向性不足提供了关键突破口。在炎症靶向方面，sLeX作为E-选择素的高亲和力配体，可精准靶向炎症部位活化内皮细胞，通过过表达岩藻糖基转移酶FUT7修饰间充质干细胞外泌体，显著增强了对糖尿病感染创面中E-选择素高表达血管内皮细胞的靶向能力[53]。

糖链编辑在肿瘤靶向中的应用主要涉及两种策略：一是利用外泌体表面天然糖型的特异性识别；二是通过代谢糖工程在肿瘤细胞或外泌体表面引入功能糖基。Megalamani等[53]发表的最新综述专门讨论了外泌体结合的sLea/x如何启动转移前微环境和免疫调节，揭示了聚糖介导的系统性信号转导新视角，并汇编了跨多种癌症类型已验证的sLea/x肿瘤特异性表达谱，为其作为精准肿瘤学生物标志物和治疗靶点奠定了基础。

在免疫细胞靶向方面，中国医学科学院何维/张建民教授团队[54]在*Journal of Controlled Release*发表的研究中，将TACI（transmembrane activator and CAML interactor，一种诱饵蛋白）与N-SYN1结构域融合表达于外泌体表面，成功构建了TACI工程化细胞外囊泡（TACI-EV）。该囊泡可有效中和过多的B细胞激活因子（B lymphocyte stimulator，BLyS）和增殖诱导配体（aproliferation-inducing ligand，APRIL），从而抑制自身反应性B细胞的发育成熟和自身抗体的产生。体内实验结果显示，TACI-EV治疗显著降低系统性红斑狼疮（systemic lupus erythematosus，SLE）小鼠血清BLyS、APRIL水平，减轻皮肤损伤，降低尿素氮和肌酐，改善蛋白尿和狼疮性肾炎，并显著延长了SLE小鼠的生存期[54]。

3.2 细胞内吞途径与命运的重定向

糖链编辑在调控外泌体细胞内吞途径与胞内命运重定向中发挥着“分子开关”作用[15]。外泌体表面的特定糖基修饰不仅决定其与受体细胞的识别模式，更直接引导内化途径的选择与胞内转运轨迹。例如，甘露糖修饰的外泌体可通过甘露糖受体识别优先进入巨噬细胞溶酶体通路[55]；而基于代谢糖工程的生物正交策略可将循环肿瘤外泌体“重编程”为FcγR介导的单一内化途径，实现定向清除[35]。

在胞内命运层面，多数外泌体默认进入内体-溶酶体通路而被降解，这严重限制了需要胞质递送的药物（如核酸、毒素蛋白）的疗效。2025年，浙江大学张根生、蔡志坚团队与山东大学秦伟栋、

李琛团队合作的研究报道[56]，将GalNAc修饰于红细胞来源外泌体表面，使其通过特异性识别肝实质细胞表面高表达的去唾液酸糖蛋白受体（ASGPR），触发受体介导的高效内吞，显著提升了外泌体被肝细胞的摄取效率并减少了非靶器官分布。在此基础上，该团队进一步创新性地构建了GalNAc-RBC-EV/Rab7-siRNA/PJ34三元递送系统，通过Rab7-siRNA敲低Rab7表达（效率69.5%），阻断内体-溶酶体融合，延长PJ34药物在胞内的滞留时间，协同抑制PARP-1/CD36轴，使肝癌Hepa1-6细胞凋亡率提升至38.7%，体内肿瘤体积缩小81%[56]。机制层面，GalNAc与ASGPR的结合触发网格蛋白介导的内吞（clathrin-mediated endocytosis，CME），而天然外泌体主要依赖巨胞饮途径进入细胞。这两种内化途径在胞内转运轨迹上存在本质差异，CME途径的内体因缺乏特定的溶酶体靶向信号（如LAMP-1/2的富集），更倾向于逃逸溶酶体融合，而巨胞饮途径则默认进入溶酶体降解通路。因此，糖链修饰的核心作用是重编程外泌体内化通路，将固有降解途径切换为靶向递送通路，这也是糖链充当内吞分子开关的分子机理。Rab7作为调控内体成熟、介导内体-溶酶体融合的核心小GTP酶，活化态Rab7-GTP可招募RILP、HOPS复合物驱动膜融合。该研究利用Rab7-siRNA下调Rab7表达，敲低内体转运至溶酶体的关键调控因子，使GalNAc靶向形成的内体免于溶酶体降解[56]。该处理将PJ34胞质留存时间由数小时延长至24 h以上，为药物作用靶点创造充足作用窗口。依托靶向识别重塑与胞内通路阻断双重调控，PJ34高效定位胞内靶标PARP-1，协同抑制PARP-1/CD36轴，最终实现前述显著抑瘤效果[56]。该工作构建了“糖链修饰重塑受体识别+Rab7敲低调控内吞转运”的联用策略，从细胞识别和胞内转运两个维度完整重编程外泌体胞内命运，为提升药物胞质递送效率提供通用研究范式。同时该研究也阐明了糖链编辑从单纯靶向配体修饰升级为胞内命运调控工具的分子机制。与天然外泌体相比，糖链编辑可同步优化其靶向特异性、内化途径与胞内降解命运，二者差异详见图3。

3.3 异常糖基化对外泌体货物装载的调控

异常糖基化主要通过改变外泌体糖链的组成、丰度及修饰模式，破坏糖链与装载相关蛋白、分选通路之间的正常互作，进而间接调控货物装载的特异性、效率及稳定性，最终导致外泌体中核酸、蛋白质等货物的异常富集或缺失，参与疾病的病理进程。

在结肠癌HCT116细胞中分别敲除*O*-糖基化关键酶基因*Cosmc*或T-合酶，二者缺失均诱发异常*O*-糖基化并暴露Tn抗原表位，同时显著下调外泌体hsa-miR-125b-1-3p、上调促上皮-间质转化的hsa-miR-218-5p[57]。该结果证实糖链重塑可直接改写外泌体miRNA装载谱，且两种基因缺失虽作用靶点不同，却诱导高度一致的miRNA变化，说明异常糖基化调控货物装载不依赖单一合成酶，而是经由下游共用分选通路发挥作用，提示分选受体在该过程中的核心介导地位。

现有研究进一步阐明完整分子传导链条：外泌体表面糖链决定膜表面电荷、曲率与糖萼厚度等理化微环境，而微环境可调控YBX1、hnRNPK等RNA结合蛋白（RBP）的液-液相分离效率，RBP再通过相分离选择性招募特定miRNA完成装载，即形成糖链-膜微环境-分选受体相分离-货物选择性分选的完整通路。Liu等[58]证实YBX1依靠相分离介导miR-223分选入外泌体，岩藻糖化外泌体装载miR-4732-3p的研究再次佐证该机制：hnRNPK识别岩藻糖修饰带来的膜特征，介导miRNA偏向性分选[27]。上述证据共同闭合糖链调控RNA货物装载的因果逻辑。

除膜表面糖链调控RNA分选外，糖基化对货物的管控还延伸至囊泡内腔。Kiledjian团队首次发现外泌体腔内存在糖基化RNA（glycoRNA），且glycoRNA与膜糖蛋白共享OST寡糖转移酶、ESCRT分选复合物两套核心调控元件，抑制OST会同步下调两类分子的糖基化水平[59-60]。这一发现区分出两层调控维度：一是膜表面糖链通过改造膜微环境调控RBP活性，间接分选RNA货物；二是腔内glycoRNA本身携带糖基修饰，其分选与蛋白糖基化共用上游修饰酶与分选机器，二者之间存在协同调控关系，并非独立运行。

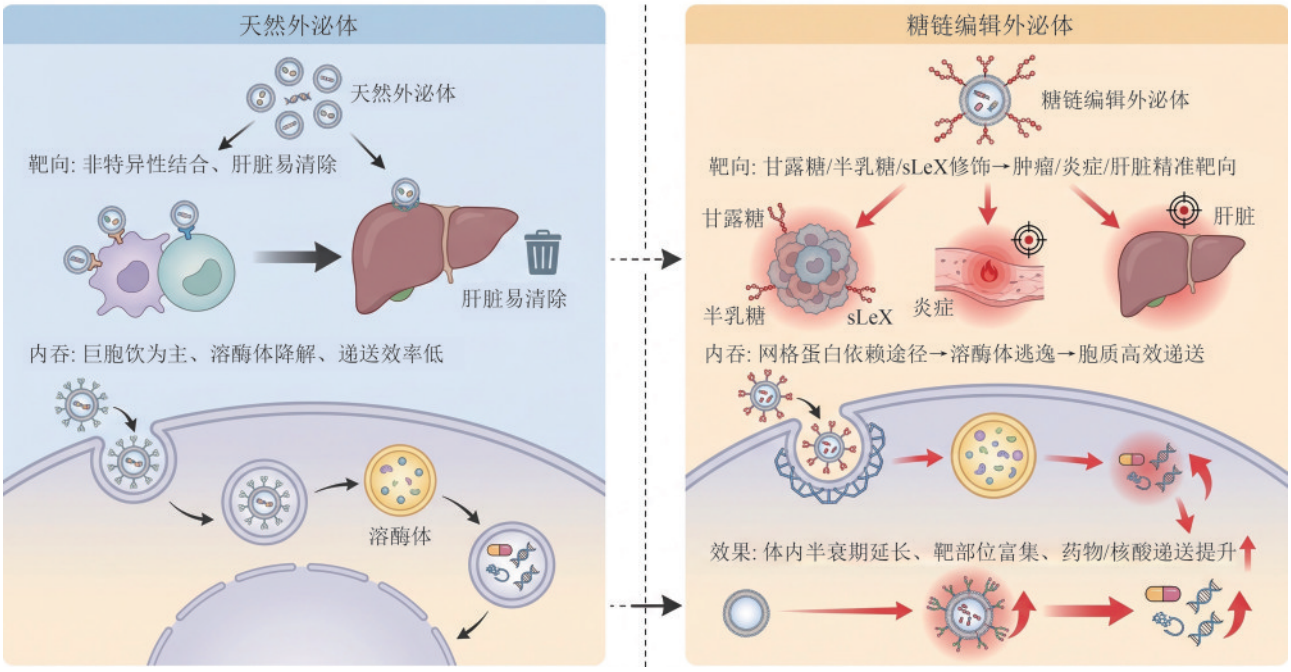


图 3　糖链编辑对外泌体靶向识别、细胞内吞途径与递送效率的调控

[天然外泌体（左）经巨胞饮进入细胞，默认进入溶酶体降解通路，货物递送效率低；糖链编辑外泌体（右）通过甘露糖/半乳糖/sLex 等糖链介导受体识别，转为网格蛋白介导内吞，实现溶酶体逃逸与高效胞质递送]

Fig. 3　A comparison of native versus glycan-edited exosomes in targeting, endocytosis, and efficacy

[Native exosomes (left) enter recipient cells *via* macropinocytosis and are predominantly routed to lysosomes for degradation, resulting in low cargo delivery efficiency. Glycan-edited exosomes (right) undergo receptor-specific recognition mediated by mannose, galactose, sLex and other glycan moieties, which switches their internalization route to clathrin-mediated endocytosis, thereby enabling lysosomal escape and efficient cytosolic cargo delivery.]

在此基础上可梳理该调控网络的四个关键核心分子节点：①协同修饰枢纽，OST 复合体作为 *N*-糖基化起始关键酶，同步催化糖蛋白与 glycoRNA 的糖基化修饰，是两类货物协同调控的上游核心节点[59]；②共同分选机器，ESCRT 复合体统一负责 glycoRNA 与膜糖蛋白的外泌体装载，ESCRT 通路紊乱会造成 glycoRNA 异常蓄积，是糖基化货物进入囊泡的共有分选通路[59]；③RNA 分选转换器，YBX1、hnRNPK 两类 RBP 感知膜糖链信号，依靠液-液相分离实现 miRNA 的选择性分选[27]；④上游调控靶点，*Cosmc*/T-合酶、GALE 分别调控 *O*-糖基化起始与糖核苷酸底物合成，干预二者可直接改变整体糖基化修饰水平，是调控网络中易靶向改造的上游入口[57]。

综上，糖链对外泌体货物装载的调控并非零散独立的现象，而是由两条交叉通路构成的精密调控体系：通路一为膜表面糖链重塑膜微环境，通过调控 RBP 相分离实现 RNA 选择性装载；通路二为 OST、ESCRT 共享调控节点同步介导糖蛋白与 glycoRNA 协同分选。依托该网络，通过基因编辑、代谢工程靶向干预 OST、ESCRT、YBX1 等关键节点，纠正异常货物装载具备充分理论支撑。

但该领域精准干预研究仍处于起步阶段，核心瓶颈在于各调控节点间缺乏定量关联数据：糖链密度改变对 YBX1 相分离阈值的量化影响、OST 抑制程度与 glycoRNA 装载效率的剂量-效应关系等关键参数均未明确。未来可依托全基因组 CRISPR 筛选、单外泌体糖链-货物共检测技术，绘制节点间定量调控图谱，将分选通路相关分子开发为糖链编辑的次级靶点；在修饰外泌体表面靶向糖链的同时同步调控内部分选程序，协同优化外泌体靶向能力与货物装载效率。

3.4　糖链编辑工程化外泌体在疾病治疗中的应用

糖链编辑工程化外泌体凭借其直接靶向糖基

受体、免疫原性低、生物相容性好等核心优势，已成为精准医疗领域最具潜力的药物递送平台之一。与传统的蛋白/肽段靶向策略不同，糖链编辑工程化外泌体通过在外泌体表面特定修饰糖基配体（如sLeX、甘露糖、半乳糖、LeX等），可直接识别并靶向病变细胞或组织表面的内源性凝集素受体或选择素，实现对外泌体体内分布和细胞特异性的精准调控。天然外泌体虽能跨越血脑屏障等生理屏障，但其固有的异质性和靶向性不足严重制约了其临床转化[61]。

在肿瘤治疗方面，利用肿瘤微环境中E-选择素或某些凝集素受体（如DC-SIGN、甘露糖受体、Siglec）的高表达，研究者通过在外泌体表面修饰sLeX、LeX或通过代谢糖工程引入CD44靶向糖配体，实现了肿瘤组织的特异性蓄积[62]。糖链介导的靶向递送效率（肿瘤富集提升3～6倍）与抗体/肽段靶向相当，但免疫原性显著更低，且合成成本更低。例如，Lim等[34]将生物正交无铜点击化学与代谢糖工程相结合，通过糖工程化改造细胞表面，实现了外泌体的CD44靶向编辑，该策略在肿瘤动物模型和类风湿关节炎模型中均实现了有效的靶组织累积，并延长了血液循环时间，其靶向机制主要归因于CD44与炎症部位/肿瘤组织中透明质酸的相互作用[34]。此外，通过工程化外泌体靶向亚细胞结构（溶酶体、线粒体、细胞核等）可进一步增强抗肿瘤疗效。Liu等[61]系统总结了多种亚细胞靶向策略：将化疗药物递送至线粒体可诱导更高效的肿瘤细胞凋亡，将核酸药物递送至细胞核可提高基因编辑效率。糖链编辑在此过程中可发挥双重作用，既介导细胞水平靶向，又可引导亚细胞命运（例如，特定糖基修饰可促进外泌体从内体逃逸，避免溶酶体降解）。值得关注的是，糖链编辑还可用于构建肿瘤疫苗：将肿瘤相关糖抗原（如Tn、sTn、Globo H、Lewis Y）展示于外泌体表面，可诱导特异性抗肿瘤免疫应答。这一方向尚处于早期探索阶段，但前景广阔。

在炎症性疾病中，sLeX修饰的外泌体通过识别活化内皮细胞表面的E-选择素，实现了对炎症部位的主动靶向。多项独立研究证实，该策略在类风湿关节炎、糖尿病创面、炎症性肠病、急性肺损伤等多种模型中均能有效减轻炎症并促进组织修复[29, 34]。例如，Zheng等[29]通过共表达FUT7/FUT9与CD63糖基化结构域，成功在外泌体表面展示sLeX和LeX，实现了对活化内皮细胞和树突状细胞的高特异性靶向，并将sLeX-EVs与间充质干细胞的天然治疗效应相结合，增强了对内皮损伤的修复作用。sLeX-外泌体与E-选择素的结合不仅介导靶向，还能动态改变外泌体的蛋白货物组成（例如富集抗炎细胞因子IL-10、TGF-β），协同调控受体细胞功能向修复表型转化[63]。这一发现提示，糖链本身可能作为一种“变构调节剂”影响外泌体的货物分选，而不仅仅是靶向配体。

在神经退行性疾病领域，糖链修饰是实现跨血脑屏障（blood-brain barrier，BBB）和小胶质细胞靶向的主流策略。甘露糖修饰外泌体负载吉非贝齐，可促进阿尔茨海默病（Alzheimer’s disease，AD）模型中小胶质细胞对Aβ的吞噬和降解，显著改善了模型小鼠的学习记忆能力[64]；甘露糖偶联木犀草素的血小板源外泌体，利用血小板对缺血性脑血管的天然聚集特性以及甘露糖对小胶质细胞表面甘露糖受体的选择性结合，实现了顺序靶向（先靶向缺血脑区，再靶向活化的小胶质细胞），促进M1型小胶质细胞向M2抗炎表型转化，有效减轻脑缺血损伤[65]。在跨BBB转运的分子机制方面，不同糖型可能发挥互补作用。研究表明，外泌体表面的甘露糖-6-磷酸（M6P）修饰可通过与甘露糖-6-磷酸受体（M6PR）结合参与某些外泌体群体跨BBB的转运，而甘露糖（mannose）修饰则通过与甘露糖受体（MR，CD206）结合介导小胶质细胞的特异性摄取[65]。M6P与甘露糖两种糖型分别靶向不同的受体（M6PR和CD206），在跨BBB转运和脑内靶向两个环节中实现功能衔接，这一双糖型/双受体机制为中枢神经系统疾病的靶向治疗提供了分子基础。未来可结合其他糖修饰（如乳糖、半乳糖）探索更多靶向策略。

在代谢性疾病方面，GlcNAc功能化外泌体通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体（peroxisome proliferator-activated receptor，PPAR）信号通路，实现对2型糖尿病小鼠肝脏和骨骼肌的双靶向，显著改善糖脂代谢。Xiang等[30]建立了“聚糖修饰-受体介导靶向-PPAR信号通路激活-胰岛素信号修复-糖脂代谢改善”的完整分子调控链，为代谢疾

病的糖工程化外泌体精准调节提供了技术模板。GalNAc修饰的红细胞源外泌体通过ASGPR靶向肝实质细胞，在急性肝衰竭、非酒精性脂肪肝和肝癌模型中实现了核酸药物（siRNA）与小分子药物（PJ34）的协同递送，显著改善多种肝病疗效。特别值得关注的是，该团队进一步构建了GalNAc-RBC-EV/Rab7-siRNA/PJ34三合一递送系统，通过敲低Rab7表达阻断内体-溶酶体融合，显著延长了药物胞内滞留时间，使肝癌细胞凋亡率提升至38.7%，体内肿瘤体积缩小81%，且治疗剂量下未观察到明显毒性，稳定性超过6个月[56]。这一研究展示了“糖链靶向 + 内吞途径重编程”的组合策略在提高药物胞内递送效率方面的强大潜力。糖链编辑可实现多组织双靶向（例如同时靶向肝脏和骨骼肌），且通过受体介导的内吞可显著提高胞内递送效率，为代谢综合征（如2型糖尿病、非酒精性脂肪肝、肥胖）的联合治疗提供了新思路。

除上述疾病外，糖链编辑工程化外泌体在心血管疾病等领域也展现出良好应用潜力。研究通过将FUT7/FUT9与CD63糖基化结构域共表达，成功在外泌体表面同时展示sLeX和LeX两种糖配体，并实现了对活化内皮细胞的高度特异性靶向，研究同时验证了sLeX修饰的外泌体与间充质干细胞（MSC）天然治疗效应的结合可增强对内皮损伤的修复作用，为sLeX靶向外泌体在心肌缺血再灌注损伤治疗中的应用奠定了技术基础[29]。

尽管上述研究在动物模型中取得了显著疗效，但多数仍处于临床前阶段。临床转化面临以下共性挑战：①给药途径优化，静脉注射易被肝脏、脾脏巨噬细胞捕获，局部注射适用范围有限，鼻腔给药跨越BBB效率需提升；②长期安全性评价，免疫原性（尤其是病毒GP修饰和异种来源外泌体）、脱靶效应、基因组整合风险（基因改造细胞来源）需系统评估；③规模化制备工艺标准化，不同批次间糖链修饰效率的波动需通过工艺优化和质量控制解决。然而，随着糖链编辑技术的不断迭代（如微流控自动化平台、无细胞合成体系）和监管指南的完善，这些问题有望逐步得到解决。可以预见，糖链编辑工程化外泌体将在未来5～10年内进入临床试验阶段，成为精准医疗领域的重要工具。

4 挑战与未来展望

外泌体糖链编辑的临床转化与产业化发展仍面临诸多亟待突破的现实瓶颈，结合具体临床转化关键问题与产业化现实需求，现存挑战可系统归纳为五大方面。

第一，临床转化层面仍存在明显短板。从临床试验进展来看，截至2025年底，全球尚无任何基于外泌体的疗法获得FDA批准。美国FDA将工程化外泌体视为《公共卫生服务法》下的生物制品，要求提交新药临床试验（IND）申请及详细的CMC（化学、制造和控制）文件。在国内，2025年6月国家药监局药品审评中心（CDE）发布的《先进治疗药品的范围、归类和释义（征求意见稿）》正式将外泌体纳入“先进治疗药品”（ATMP）范畴；此外，北京热景生物已启动“糖链外泌体微小核糖核酸检测试剂盒”的临床试验。欧盟EMA同样尚未发布针对EV药物的专项指南，现有监管框架难以充分覆盖外泌体产品的独特特性。总体来看，糖链编辑外泌体的治疗性应用仍全部处于临床前动物验证阶段（涵盖2型糖尿病、肿瘤、骨坏死等模型），人体临床试验尚属空白[66]。

第二，安全性评估维度亟待系统化，尤其在脱靶效应与长期风险方面。现有安全性讨论多集中于免疫原性等单一维度，缺乏系统性框架。本文从五个维度归纳当前认知与缺口（表2）。值得特别注意的是，糖链编辑在降低某些风险的同时可能引入新风险，例如，唾液酸化修饰虽可抑制补体经典途径激活、减少外泌体清除[22]，但过度唾液酸化也可能干扰正常的免疫监视功能，这一“双刃剑”效应在安全评估中需予以充分权衡。

第三，天然外泌体高度异质性突出。细胞来源、培养条件、分离工艺均会造成糖基化谱波动，难以实现位点特异、均一可控的糖链编辑，这与质控标准缺失形成恶性循环，目前尚未形成统一的行业质控规范，核心质控指标如糖链均一性、囊泡粒径与纯度等的检测方法仍未标准化[7]，进一步制约标准化生产与临床应用。

第四，糖链功能具有明显微环境依赖性。同一糖型在不同生理病理微环境中效应差异较大，

表2 糖链编辑外泌体安全性评估的多维度框架

Table 2 Multi-dimensional framework for safety evaluation of glycan-edited exosomes

安全风险维度	具体风险点	评估现状	建议对策
免疫原性	病毒GP修饰引发中和抗体；异种来源外泌体的种属差异	hiPSC-EV在动物模型中未报告严重不良事件[66]；植物外泌体免疫原性更低	去免疫原化蛋白质工程；优选低免疫原性来源
脱靶效应	糖链与非靶组织凝集素受体交叉识别	甘露糖、半乳糖受体分布广泛，单糖修饰脱靶风险较高[14]	建议采用组合糖修饰提高特异性或发展微环境响应型智能编辑
器官蓄积	外泌体被肝脏、脾脏巨噬细胞大量捕获	静脉注射后主要分布于肝、脾、肺，已有初步生物分布数据[66]	唾液酸化修饰可延长循环半衰期并降低非特异性摄取[20]
基因组安全	基因改造细胞来源外泌体携带遗传物质或整合序列	缺乏长期（≥6个月）动物实验数据	严格把控供体细胞基因编辑脱靶率；建立长期毒理学标准
长期重复给药毒性	累积效应及糖链修饰可能改变天然免疫识别模式	尚无系统评估	需建立重复给药（>3个月）及停药后恢复期研究标准

现有编辑策略缺乏时空可控的智能调控手段，虽已发展出pH、酶、光响应型糖编辑技术[67]，但仍存在响应灵敏度不足、体内稳定性差等问题；同时糖基化调控miRNA等货物装载的分子通路尚不清晰（详见3.3节），核心调控节点有待进一步挖掘。

第五，规模化与产业化短板明显。实验室小量修饰工艺难以直接放大，无细胞合成、体外修饰等前沿技术的批量制备效率低、成本高昂，糖基化酶、糖核苷酸底物等核心原料的纯度与产量难以保障；储存与运输技术不足，糖链修饰外泌体低温储存易导致糖链降解、囊泡破裂[7]；且国内外尚未形成针对糖链编辑工程化外泌体的专属监管体系，美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration，FDA）与中国国家药品监督管理局（National Medical Products Administration，NMPA）均仅参考相关产品监管框架[66]。值得注意的是，已有研究提出通过整合MISEV（EV领域专用指南）与MIQE（核酸定量通用指南）来建立EV生物标志物研究的标准化框架，这一思路对于糖链编辑外泌体的质控体系建设同样具有参考价值[68]。伦理考量、专利布局等也成为技术转化的重要壁垒。

尽管存在上述瓶颈，外泌体糖链编辑领域仍具备清晰的发展方向，以下结合具体技术路径及产业需求，提出四大重点发展趋势及可行性分析。

第一，多技术融合的集成平台将成为糖链编辑从“经验驱动”转向“数据驱动”的核心引擎。传统糖链编辑主要依赖试错法，效率低且可迁移性差。未来应构建“设计-构建-测试-学习”（DBTL）闭环：在设计端，AI模型已能够从糖链序列预测三维构象和糖基转移酶特异性，预测精度达到与实验可比的水平，这为理性设计糖链编辑方案提供了可行路径[69]；在构建端，CRISPR-Cas9同步编辑多个糖基化基因已实现5个靶点的同时操作[31]，使得定制化底盘细胞的构建成为常规技术；在测试端，微流控平台将外泌体表面工程化的通量提升至千/天级，且批间一致性大幅改善[40]。这三个环节的成熟，使得DBTL闭环具备了落地条件。下一步的核心挑战不在于单项技术，而在于跨平台数据的标准化和共享，建立开放的糖链编辑知识库，将分散的实验数据转化为可训练的AI语料，将是该领域从“实验室艺术”走向“工程科学”的关键一步。

第二，微环境响应型智能糖链编辑将从“静态靶向”升级为“动态适应”，有效解决脱靶效应和体内稳定性问题。不同疾病微环境的特征参数（pH、酶活性、氧化还原电位）差异显著，单一静态修饰难以兼顾循环稳定性和靶点激活效率。目前最具临床转化潜力的两类响应机制分别是pH响应和MMP酶响应：pH响应利用肿瘤酸性微环境（pH 6.0～6.8）触发糖配体释放或暴露，已有研究证明在pH 5.5条件下药物释放率可达78%以上，而生理pH下仅约20%[70]，这种近4倍的响应差异足以支持体内应用；MMP酶响应则通过可被炎症部位高表达的MMP切割的肽段连接臂，实现炎症选择性靶向，最新报道的PrEXO-a23系统已在IBD模型中验证了这一策略的有效性[71]。

第三，糖链-货物关联机制的深入解析将从“现象描述”走向“分子操控”，为按需装载外泌体货物提供理论依据和操作靶点。未来，采用全基因组CRISPR筛选系统鉴定糖链依赖的分选调控节点，并将这些节点作为糖链编辑的“第二靶点”，即在编辑外泌体表面糖链的同时，调控内部分选通路，有望实现表面靶向与内涵物装载的协同优化。

第四，临床转化与标准体系建设需要“三步走”策略，从技术成熟度出发分阶段推进。糖链编辑外泌体作为复杂纳米药物，其临床转化面临质控、监管和生产三重关卡。在质控层面，已有多中心合作提出了“四维质控”框架（糖链均一性、粒径纯度、货物效率、批间一致性），参考MISEV指南和MIQE 2.0指南的整合方案[68]，这些指标的操作性定义和检测方法已经成熟，但缺乏标准品。建议由国家检定机构牵头研制冻干参考品，统一行业校准基准。在监管层面，FDA已发布EV药物递送指南草案，明确将其纳入“组合产品”审评路径，国内NMPA也在跟进[66]，预计3～5年内将形成专项指导原则。在生产层面，规模化和成本控制是最大瓶颈。可喜的是，近期已有从2～6 L GMP级培养基中通过切向流过滤联合尺寸排阻色谱生产治疗性sEV的可扩展平台报道，批次间一致性良好[52]；同时，美国ARPA-H投入1830万美元支持EV连续制造平台的开发，目标是规模扩大10倍、成本降低10倍[72]。这些进展表明产业化拐点正在到来。建议采取分步走策略：近期（1～3年）依托自体或同种异体MSC外泌体，采用体外酶法修饰，从局部给药适应证（炎症性肠病、骨关节炎）切入，这类产品技术门槛相对较低、安全性可控；中期（3～6年）建立GMP工艺并开展首次人体临床试验，积累系统性给药的安全性数据[66]；远期（6～10年）实现异体规模化生产和广谱适应证拓展。

5 结 论

外泌体糖链编辑作为糖生物学、合成生物学、化学生物学与纳米医学深度交叉融合的前沿研究领域，自概念提出以来，依托多学科技术的迭代创新，已实现从传统被动解析外泌体糖链结构与功能，向主动设计、定向编程外泌体生物学特性的跨越式发展，成为当前生物医学领域最具潜力的研究方向之一。本文系统梳理了外泌体糖链的组成特征、分析技术及核心生物学功能，明确了糖链作为“分子密码”在靶向识别、免疫调控和信号转导中的关键作用。在技术层面，宿主细胞工程、体外直接修饰与合成生物学重构三大策略协同发展，逐步实现外泌体糖链编辑的精准化、高效化和规模化。功能调控方面，糖链编辑可重定向外泌体的靶向特异性、内吞途径与胞内命运，并影响miRNA等货物的装载，为工程化外泌体在肿瘤、炎症、神经退行性疾病及代谢疾病治疗中应用奠定了基础。

尽管该领域在临床转化与产业化中仍面临外泌体异质性高、编辑精度不足、规模化制备成本高、标准与监管缺失等挑战，但随着CRISPR基因编辑、无细胞合成、AI辅助设计及微流控平台等多技术融合，以及微环境响应型智能编辑策略的发展，上述瓶颈有望逐步突破。未来，深入解析糖链-货物调控网络、建立统一行业标准与监管体系，将加速糖链编辑外泌体在精准医疗与靶向递送中的产业化落地，为生物治疗提供全新平台。

参 考 文 献

[1] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. Science, 2020, 367 (6478): eaau6977.

[2] 王小蕾, 郝嘉乐, 傅庚辰, 等. 外泌体糖组学在生物医药领域的应用研究进展[J]. 药学进展, 2024, 48(6): 450-462.
WANG X L, HAO J L, FU G C, et al. Progress of research on the application of exosomal glycomics in biomedicine[J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2024, 48(6): 450-462.

[3] WILLIAMS C, ROYO F, AIZPURUA-OLAIZOLA O, et al. Glycosylation of extracellular vesicles: current knowledge, tools and clinical perspectives[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2018, 7(1): 1442985.

[4] NISHIDA-AOKI N, TOMINAGA N, KOSAKA N, et al. Altered biodistribution of deglycosylated extracellular vesicles through enhanced cellular uptake[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2020, 9(1): 1713527.

[5] DUSOSWA S A, HORREVORTS S K, AMBROSINI M, et al. Glycan modification of glioblastoma-derived extracellular

vesicles enhances receptor-mediated targeting of dendritic cells [J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2019, 8(1): 1648995.

[6] SANTAVANOND J P, RUTTER S F, ATKIN-SMITH G K, et al. Apoptotic bodies: mechanism of formation, isolation and functional relevance[M]//New frontiers: extracellular vesicles. Cham: Springer International Publishing, 2021: 61-88.

[7] MARTINS Á M, RAMOS C C, FREITAS D, et al. Glycosylation of cancer extracellular vesicles: capture strategies, functional roles and potential clinical applications [J]. Cells, 2021, 10(1): 109.

[8] PINHO S S, REIS C A. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications[J]. Nature Reviews Cancer, 2015, 15 (9): 540-555.

[9] KUNDU S Y, BENNETT Z, GUO J T, et al. Investigation of intercellular trafficking of global glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins using cell metabolic engineering and transwell coculture[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2026, 65(5): e22420.

[10] BATISTA B S, ENG W S, PILOBELLO K T, et al. Identification of a conserved glycan signature for microvesicles [J]. Journal of Proteome Research, 2011, 10(10): 4624-4633.

[11] PRESCILLA-LEDEZMA A, LINARES F, ORTEGA-MUÑOZ M, et al. Molecular recognition of surface *trans*-sialidases in extracellular vesicles of the parasite *Trypanosoma cruzi* using atomic force microscopy (AFM) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 7193.

[12] SUN Z Y, LIH T M, WOO J, et al. Improving glycoproteomic analysis workflow by systematic evaluation of glycopeptide enrichment, quantification, mass spectrometry approach, and data analysis strategies[J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(52): 20481-20490

[13] LI M I, XU X N, XI N, et al. Multiparametric atomic force microscopy imaging of single native exosomes[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2021, 53(3): 385-388.

[14] KUNDU S Y, GUO J T, ISLAM M S, et al. A new strategy to functionalize exosomes *via* enzymatic engineering of surface glycans and its application to profile exosomal glycans and endocytosis[J]. Advanced Science, 2025, 12(18): e2415942.

[15] GURUNG S, PEROCHEAU D, TOURAMANIDOU L, et al. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling[J]. Cell Communication and Signaling, 2021, 19(1): 47.

[16] SMYTH T, PETROVA K, PAYTON N M, et al. Surface functionalization of exosomes using click chemistry[J]. Bioconjugate Chemistry, 2014, 25(10): 1777-1784.

[17] WU Y S, WANG Y Q, LU Y J, et al. Microfluidic technology for the isolation and analysis of exosomes[J]. Micromachines, 2022, 13(10): 1571.

[18] MCDOWELL C T, LU X W, MEHTA A S, et al. Applications and continued evolution of glycan imaging mass spectrometry [J]. Mass Spectrometry Reviews, 2023, 42(2): 674-705.

[19] URBAN J, JIN C S, THOMSSON K A, et al. Predicting glycan structure from tandem mass spectrometry *via* deep learning[J]. Nature Methods, 2024, 21(7): 1206-1215.

[20] SCHAUER R. Sialic acids as regulators of molecular and cellular interactions[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2009, 19(5): 507-514.

[21] YANG C Y, GUAN Z X, PANG X C, et al. Desialylated mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles loaded with doxorubicin for targeted inhibition of hepatocellular carcinoma[J]. Cells, 2022, 11(17): 2642.

[22] VAN HOUTUM E J H, BÜLL C, CORNELISSEN L A M, et al. Siglec signaling in the tumor microenvironment[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 790317.

[23] GEURTSEN J, DRIESSEN N N, APPELMELK B J. Mannose-fucose recognition by DC-SIGN[M]//Microbial glycobiology. Amsterdam: Elsevier, 2010: 673-695.

[24] RUISS R, JOCHUM S, MOCIKAT R, et al. EBV-gp350 confers B-cell tropism to tailored exosomes and is a neo-antigen in normal and malignant B cells: a new option for the treatment of B-CLL[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e25294.

[25] NIGAM S K, BUSH K T. Growth factor – heparan sulfate "switches" regulating stages of branching morphogenesis[J]. Pediatric Nephrology, 2014, 29(4): 727-735.

[26] DANG S Y, LENG Y, WANG Z X, et al. Exosomal transfer of obesity adipose tissue for decreased miR-141-3p mediate insulin resistance of hepatocytes[J]. International Journal of Biological Sciences, 2019, 15(2): 351-368.

[27] ZHUANG W Z, LIU C X, HONG Y L, et al. Tumor-suppressive miR-4732-3p is sorted into fucosylated exosome by hnRNPK to avoid the inhibition of lung cancer progression [J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2024, 43(1): 123.

[28] YU Y, DU H W, WEI S N, et al. Adipocyte-derived exosomal miR-27a induces insulin resistance in skeletal muscle through repression of PPARγ[J]. Theranostics, 2018, 8(8): 2171-2188.

[29] ZHENG W Y, HE R, LIANG X M, et al. Cell-specific targeting of extracellular vesicles through engineering the glycocalyx[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2022, 11(12): e12290.

[30] XIANG Y Y, LIU J D, LIU X, et al. Glycoengineered mesenchymal stem cell exosomes with dual-tissue targeting ameliorate glycolipid metabolism in type 2 diabetes mellitus [J]. Chemical Engineering Journal, 2026, 532: 174202.

[31] TIAN W H, ZAGAMI C, CHEN J S, et al. Cell-based glycoengineering of extracellular vesicles through precise genome editing[J]. New Biotechnology, 2024, 83: 101-109.

[32] LAUGHLIN S T, BERTOZZI C R. Metabolic labeling of glycans with azido sugars and subsequent glycan-profiling and

visualization *via* Staudinger ligation[J]. Nature Protocols, 2007, 2(11): 2930-2944.

[33] JEWETT J C, BERTOZZI C R. Cu-free click cycloaddition reactions in chemical biology[J]. Chemical Society Reviews, 2010, 39(4): 1272-1279.

[34] LIM G T, YOU D G, HAN H S, et al. Bioorthogonally surface-edited extracellular vesicles based on metabolic glycoengineering for CD44-mediated targeting of inflammatory diseases[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2021, 10(5): e12077.

[35] ZHANG W T, YANG T Y, JIN T, et al. Enhancing chemotherapy-related immune responses *via* bioorthogonal metabolic engineering-driven tumor exosomes elimination[J]. Advanced Science, 2025, 12(33): e06409.

[36] KOLB H C, FINN M G, SHARPLESS K B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2001, 40(11): 2004-2021.

[37] PALANIAPPAN K K, BERTOZZI C R. Chemical glycoproteomics[J]. Chemical Reviews, 2016, 116(23): 14277-14306.

[38] ZHOU X, JAISWAL M, SHI J Z, et al. Efficient enzymatic glycan engineering of extracellular vesicles using nanomaterial-interfaced microfluidics[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2025, 17(1): 2689-2700.

[39] ABREU C M, COSTA-SILVA B, REIS R L, et al. Microfluidic platforms for extracellular vesicle isolation, analysis and therapy in cancer[J]. Lab on a Chip, 2022, 22(6): 1093-1125.

[40] HONG Y H, ZHANG H T, ZENG L, et al. Universal microfluidic platform for multifunctional surface modification of small extracellular vesicles[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2025, 14(12): e70215.

[41] LENER T, GIMONA M, AIGNER L, et al. Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials – an ISEV position paper[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2015, 4(1): 30087.

[42] VOTTELER J, SUNDQUIST W I. Virus budding and the ESCRT pathway[J]. Cell Host & Microbe, 2013, 14(3): 232-241.

[43] LEVY D, WANG D, AFZALI H, et al. Hijacking exosome biogenesis: viral glycoproteins as modular scaffolds for engineering functionalized extracellular vesicles[J]. Nanoscale, 2026, 18(4): 2252-2263.

[44] ELKHOURY K, KOÇAK P, KANG A, et al. Engineering smart targeting nanovesicles and their combination with hydrogels for controlled drug delivery[J]. Pharmaceutics, 2020, 12(9): 849.

[45] NI M J, XING L Y, WANG Y T, et al. Bioengineered milk-derived extracellular vesicles implementing high drug loading and membrane integrity for efficient oral drug delivery[J]. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2025, 20(5): 101093.

[46] SATO Y, ZHANG W X, BABA T, et al. Extracellular vesicle-liposome hybrids *via* membrane fusion using cell-penetrating peptide-conjugated lipids[J]. Regenerative Therapy, 2024, 26: 533-540.

[47] KELWICK R J R, WEBB A J, HELIOT A, et al. Opportunities to accelerate extracellular vesicle research with cell-free synthetic biology[J]. Journal of Extracellular Biology, 2023, 2(5): e90.

[48] LI Y Y, MA X R, ZHANG L C, et al. Engineering yeast extracellular vesicle biogenesis through rewiring membrane trafficking pathways[J]. Microbial Biotechnology, 2026, 19(4): e70338.

[49] HENSON T, ARIZZI A, MEYER C, et al. Prototyping minimal extracellular vesicle mimetics using cell-free synthesis[J]. ACS Nano, 2026, 20(9): 7385-7400.

[50] KELWICK R J R, WEBB A J, HELIOT A, et al. Hollow-fibre biomanufacturing and cell-free engineering of HEK293 extracellular vesicles[PP/OL]. bioRxiv (2025-09-21)[2026-06-05]. https://doi.org/10.1101/2025.09.20.677537.

[51] DONDAPATI S K, STECH M, ZEMELLA A, et al. Cell-free protein synthesis: a promising option for future drug development[J]. BioDrugs, 2020, 34(3): 327-348.

[52] LI M Z, SODER R, ABHYANKAR S, et al. Large-scale manufacturing of immunosuppressive extracellular vesicles for human clinical trials[J]. Cytotherapy, 2025, 27(10): 1219-1228.

[53] MEGALAMANI P H, HARDUIN-LEPERS A, MANASA J, et al. Adhesion to aggression: unravelling sLe^a and sLe^x in cancer metastasis[J]. Clinical & Experimental Metastasis, 2025, 42(6): 58.

[54] CAI M H, TIAN F, HAN J Y, et al. Genetically engineered extracellular vesicles expressing decoy protein TACI provide a therapeutic effect in systemic lupus erythematosus mouse model[J]. Journal of Controlled Release, 2025, 384: 113886.

[55] PI J, MA Y H, WANG W D, et al. Exosomal co-delivery of CircRNA-TRAPPC6B and rifampicin for enhanced immunotherapy against tuberculosis[J]. International Immunopharmacology, 2025, 167: 115696.

[56] HUANG X F, YANG J, HU Y Y, et al. Protective effects of GalNac-modified red blood cell-derived extracellular vesicles against liver diseases[J]. International Journal of Nanomedicine, 2025, 20: 8993-9017.

[57] 高天博, 葛洋, 安广宇, 等. 分子伴侣 *Cosmc* 或 T-合酶缺失介导的异常 *O*-糖基化调控结肠癌外泌体中微小 RNA 的表达[J]. 首都医科大学学报, 2025, 46(3): 401-409.
GAO T B, GE Y, AN G Y, et al. Abnormal *O*-glycosylation mediated by the deficiency of molecular chaperone *Cosmc* or T-synthase regulates the expression of miRNAs in colorectal cancer exosomes[J]. Journal of Capital Medical University,

2025, 46(3): 401-409.

[58] LIU X M, MA L, SCHEKMAN R. Selective sorting of microRNAs into exosomes by phase-separated YBX1 condensates[J]. eLife, 2021, 10: e71982.

[59] SHARMA S, JIAO X F, YANG J, et al. Extracellular exosomal RNAs are glyco-modified[J]. Nature Cell Biology, 2025, 27 (6): 983-991.

[60] ZHANG J, LI S, LI L, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function[J]. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 2015, 13(1): 17-24.

[61] LIU F, XIA C, YU H, et al. Engineering exosomes for cancer therapy - modification technologies and subcellular targeting strategies: a review [J]. International Journal of Pharmaceutics: X, 2026, 11: 100473.

[62] 王榕, 高春芳 . 外泌体糖基化在肿瘤诊断和治疗中的应用进展[J]. 检验医学, 2024, 39(4): 404-409.
WANG R, GAO C F. Application progress of exosomal glycosylation in diagnosis and treatment of tumors[J]. Laboratory Medicine, 2024, 39(4): 404-409.

[63] PUAGSOPA J, TONGVISESKUL N, JAROENTOMEECHAI T, et al. Recent progress in developing extracellular vesicles as nanovehicles to deliver carbohydrate-based therapeutics and vaccines[J]. Vaccines, 2025, 13(3): 285.

[64] HAO Y N, SU C, LIU X T, et al. Bioengineered microglia-targeted exosomes facilitate Aβ clearance *via* enhancing activity of microglial lysosome for promoting cognitive recovery in Alzheimer's disease[J]. Biomaterials Advances, 2022, 136: 212770.

[65] LIU X T, HAO Y N, HUANG Z X, et al. Modulation of microglial polarization by sequential targeting surface-engineered exosomes improves therapy for ischemic stroke[J]. Drug Delivery and Translational Research, 2024, 14(2): 418-432.

[66] GU Z W, YIN Z Y, SONG P B, et al. Safety and biodistribution of exosomes derived from human induced pluripotent stem cells[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10: 949724.

[67] HU Y H, YANG X, SHU F X, et al. Smart exosomes: multimodal engineering strategies for logic-gated and stimuli-responsive precision theranostics[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2026, 698: 126846.

[68] PFAFFL M W, KUBISTA M, VANDESOMPELE J, et al. MISEV and MIQE: integrating domain-specific and general standards to strengthen extracellular vesicle biomarker research [J]. Extracellular Vesicles and Circulating Nucleic Acids, 2025, 6(4): 669-676.

[69] THOMÈS L, JOERES R, AKDENIZ Z, et al. GlyContact analyzes glycan 3D structures at scale[J]. Nature Communications, 2025, 16: 11136.

[70] ASFIYA R, XU L, PARAMANANTHAM A, et al. Physio-chemical modifications to re-engineer small extracellular vesicles for targeted anticancer therapeutics delivery and imaging[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2024, 10 (2): 697-722.

[71] CAO J H, LUO R, MIAO R R, et al. Engineered exosome nanovesicles for delivery of antibodies to treat inflammatory bowel disease[J]. Nature Communications, 2026, 17: 2737.

[72] PR Newswire. Everglade 助力 Landmark Bio 获得 ARPA-H 高达 1830 万美元资助[EB/OL]. [2026-06-04]. https://www.prnewswire. com/news-releases/everglade-helps-landmark-bio-secure-up-to-18-3-million-in-arpa-h-funding-302745022.html.
PR Newswire. EVERGLADE helps LANDMARK BIO secure up to $18.3 million in ARPA-H funding[EB/OL]. [2026-06-04]. https://www. prnewswire. com/news-releases/everglade-helps-landmark-bio-secure-up-to-18-3-million-in-arpa-h-funding-302745022.html.



通讯作者： 杜昱光(1963—)，男，研究员，博士生导师。研究方向为糖链合成生物学与营养糖工程研究，推动功能糖产品在农业、食品及医药领域产业化应用。
E-mail：ygdu@ipe.ac.cn



第一作者： 李瑞莲(1993—)，女，博士。研究方向为真菌胞外囊泡在慢性疾病中的致病机制。
E-mail：rlli@ipe.ac.cn

广告索引：天津大学合成生物技术全国重点实验室(后彩一)/北京擎科生物科技股份有限公司(后彩二)/上海蓝晶微生物科技有限公司(后彩三)/安徽华恒生物科技股份有限公司(后彩四)/青岛星赛生物科技有限公司(后彩五)/诚志生命科技有限公司(封三)