İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ YAYINEVİ

DERLEME / REVIEW
DOI: 10.26650/IUITFD.2020.0015
İst Tıp Fak Derg 2021 / J Ist Faculty Med 2021

KANSERDE YENİ HEDEF: MİKROVEZİKÜLLER VE EKSOZOMLAR

NEW TARGET MICROVESICLES AND EXOSOMES IN CANCER

Sema BOLKENT[1]

[1]İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID IDs of the authors: S.B. 0000-0001-8463-5561

Cite this article as: Bolkent S. New target microvesicles and exosomes in cancer. J Ist Faculty Med 2021;84(1):130-4.
doi: 10.26650/IUITFD.2020.0015

ÖZET

Son yıllarda hücreler arası haberleşmede ekstrasellüler veziküllerin transferini içeren yeni bir mekanizma öne sürülmüştür. Çoğu kanser hücresi protein, lipit, DNA ve mikroRNA'lardan oluşan ekstrasellüler veziküller (EV'ler) salarak komşu hücre davranışının değişmesine neden olabilmektedir. EV'lerin bir alt tipi olan eksozomlar hücreler arası iletişim sağlayan küresel şekilli, iki lipit tabakalı membran ile çevrili keseciklerdir. Eksozomlar kanser gelişimini, metastaz ve ilaç direncini kontrol etmek için yakın ve uzak çevre kanser hücreleri ile iletişim kurarlar. Eksozomlar hücreler arası iletişimin yanısıra sinyal iletimi, genetik madde aktarımı, bağışıklık yanıtının düzenlenmesi gibi birçok biyolojik işlevde rol oynar. EV'lerin tümör mikro çevresinde ve kanser metastazında alternatif bir haberleşme aracı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Eksozomlar çeşitli kanser tedavileri esnasında içeriklerini değiştirebildiklerinden dolayı tedaviyi takip etmede önemli bir rol oynayabilirler. Bu derleme kanser tanı ve tedavisinin hedefi olarak komünikazom (hücreler arası haberleşme) olarak adlandırılan hücreler arasında sinyalleri ileten EV'lerin fonksiyonuna odaklanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ekstrasellüler veziküller, eksozom, kanser, tedavi

ABSTRACT

In recent years, a new mechanism for intercellular communication has been put forward which involves the intercellular transfer of extracellular vesicles. Most cancer cells release potentially functional biomolecules loaded in extracellular vesicles (EVs) such as DNA, proteins, lipids, and microRNAs. The experiments showed that EVs uptake by tumor cells can alter cellular behavior. Exosomes, a subtype of EVs, are small, lipid bilayer membrane vesicles for intercellular communication. Exosomes communicate with near-by and distant cancer cells that promote cancer development, metastasis, and drug resistance. In addition to intercellular communication, exosomes play a role in many biological processes such as signal transmission, genetic material transfer, and regulation of the immune response. EVs have emerged as an alternative mediator of communication within the tumor microenvironment and cancer metastasis. Because exosomes can change their content during various cancer treatments, they can play an important role in following the treatment. This review focuses on the function of EVs as signal transmitters between cells, called communicasomes (intercellular communication), and the importance of this function in cancer diagnosis and treatment.

Keywords: Extracellular vesicles, exosome, cancer, therapy

GİRİŞ

Eksozomlar ve mikroveziküllerı içeren memeli ekstrasellüler vezikülleri membran ile çevrili küresel keseciklerdir. Hücreler arası haberleşmede büyüme faktörleri, nörotransmitterler, sitokinler/kemokinler gibi çözünebilir faktörlerin yanı sıra gap bağlantılar, eksozomlar ve nano tüpler rol oynar (1). Eksozomlar ve mikroveziküller (MV'ler) farklı biyogenez işlemlerine, büyüklük ve yüzey belirteçlerine sahiptirler. Mikroveziküller 50-1000 nm çapında olup eksozomlara göre daha büyüklerdir. Multiveziküler cisimler (MVB)'in plazma membranı ile kaynaşmasından sonra eksozomlar ekstrasellüler alana salınırken, mikroveziküller doğrudan plazma membranından tomurcuklanırlar (2,3). Mikroveziküller tümör ve stromal hücrelerin uygun bir tümör nişi oluşturmasında, tümörün yayılması ve büyümesinde hücrelerin birbirleriyle iletişiminde rol oynamaktadırlar.

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: bolkent@istanbul.edu.tr

Başvuru/Submitted: 10.02.2020 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 20.03.2020 •
Son Revizyon/Last Revision Received: 23.03.2020 • **Kabul/Accepted:** 26.03.2020 • **Online Yayın/Published Online:** 11.01.2021
©Telif Hakkı 2021 J Ist Faculty Med - Makale metnine jmed.istanbul.edu.tr web sayfasından ulaşılabilir.
©Copyright 2021 by J Ist Faculty Med - Available online at jmed.istanbul.edu.tr

Ekstrasellüler veziküller (EV'ler) taşıdığı çeşitli biyomolekülleri hedef hücrelere aktararak çoğalma, apoptoz ve göç gibi hücre fonksiyonlarını düzenleyebilir ve hücreler arası haberleşmede rol oynayabilir (4). Çift lipit tabakalı bir membranla çevrili 50-100 nm çapında küçük veziküller olan eksozomlar (endozom kökenli veziküller) ile proteinler, DNA, mRNA, kodlamayan RNA'lar gibi bir hücreden diğerine moleküller gönderilerek genetik bilgi alışverişi ve alıcı hücrelerin yeniden programlanması sağlanır. Farklı hücre kökenli eksozomlar fosfolipid tabaka, endoplazmik retikulum, sitozol ve Golgi kompleksinden kaynaklanan proteinler, ısı şok proteinleri, tetraspanin aile proteinleri, hücre iskelet proteinleri ve lipit ile ilişkili proteinler gibi ~4,600 çeşit protein içermektedir. İnsan tümör hücrelerinden salgılanan eksozomların içeriği lokal tümör mikro çevresini etkileyebilir, ekstrasellüler matriksi değiştirebilir ve anjiyogenez, tromboz ve kanser hücre çoğalmasını arttırabilir (5). Eksozomlardan bağımsız olarak otofaji ve multiveziküler-endozom bağımlı bir mekanizma yoluyla ekstrasellüler DNA'nın ortama salındığı ileri sürülmüştür (6). Tümör hücrelerinin başlangıç, büyüme ve metastaz evrelerinde ilaç direncini etkileyebilen aşırı miktarda eksozom salgıladığı gösterilmiştir (7). Malign tümör hücrelerinden salınan EV'lerin daha az malign tümör hücrelerce alınarak metastatik davranışın kopyalandığı saptanmıştır (8). Sağlıklı veya kanserli hücreden ekstrasellüler alana salınan EV'ler salgılandığı hücrenin genetik ve proteomik içeriğini yansıtmaktadır. EV'ler kan, idrar, beyin-omurilik sıvısı, gözyaşı, tükürük, burun salgıları ve meni gibi çeşitli biyo-sıvılardan izole edilebilirler. Melanomalı hastalarda eksozomlar immün işaretleme yöntemi ile elekron mikroskopda incelendiğinde CD81, MHC I ve II sınıf molekülleri, tümör antijenleri (TRP1, gp100) içerdikleri gösterilmiştir (9). Eksozomların morfoloji ve protein içeriğini tanımlamak için elektron mikroskopi, akım sitometri ve Western blot yöntemleri kullanılmaktadır. Eksozom izolasyonu için en çok tercih edilen yöntem ise ultrasantrifüj tekniğidir (10). Serumda bulunan kanser kökenli EV'leri geleneksel yöntemler olan immunoblotting ve ELISA (=Enzime bağlı immünosorbent değerlendirme) yerine ExoScreen yöntemi ile saptamanın üstün olduğu ileri sürülmüştür (11). MDA-MB-231 tümör hücrelerine ait EV'lerin heterojen yapı dağılımı nanopartikül izleme analiz yöntemi ile incelenmiş ve tanımlanmıştır (8). EVpedia (http://evpedia.info) ekstrasellüler veziküllerin sistematik analizi ve intraveziküler protein-protein etkileşim ağ analizleri için bir veritabanı sunmaktadır (12). ExoCarta (http:// www.exocarta.org/) eksozomal protein, RNA ve lipit içeriklerini açıklayan bir veritabanıdır (13). Ayrıca 2014 yılında EV çalışmalarının farklı isimler ile tanımlanmasının karmaşıklığını gidermek amacı ile uluslararası ekstrasellüler vezikül derneği (ISEV) ekstrasellüler vezikül çalışmaları için asgari bilgi (MISEV) adlı bir kılavuz düzenlemiştir. Bunun son dört yıllık güncellemesini ise 2018 yılında Thery ve ark.ları yapmışlardır (14).

Eksozomların biyogenezi, yapısı, salınımı ve hedef hücreye alımı

Eksozomlar ilk kez 5'-nükleotidaz aktivitesi içeren veziküller olarak tanımlanmıştır (15). Eksozomlar esas olarak lizozomlardan kökenlenen geç endozom olarak bilinen mültiveziküler cisimlerden oluşurlar. Eksozomlar hücre membranı ile MVB'lerin kaynaşması sonucu ekstrasellüler ortama salınırlar. Eksozom biyogenezi hücre içi ve dışı birçok faktör tarafından tetiklenebilir. Eksozomların içerikleri kökenlendiği hücreye yakın veya hücreler arası haberleşme ile uzak hedef hücrelerine aktarılabilir (16). Eksozomlar ve hedef hücreleri arasında üç aşamalı etkileşim mekanizması ileri sürülmüştür. İlk olarak eksozomların transmembran proteinleri hedef hücrelerin reseptörleri ile doğrudan etkileşir. Sonra eksozomlar hedef hücrelerin plazma membranı ile birleşerek içeriklerini hedef hücrelerin sitoplazmalarına iletirler. Daha sonra eksozomlar endozomlarla birleşir (17,18). Tümör hücre eksozomlarının salınması piruvat kinaz tip M2 (PKM2) ile kontrol edilir (19). Ayrıca asidik mikro çevre pH'sının eksozom salgılanmasını etkilediği gösterilmiştir (20). Aktin düzenleyici protein olan kortaktinin eksozom salınmasını düzenlediği fakat eksozom biyogenezinde rol oynamadığı gösterilmiştir. Eksozom salgılanmasının kortaktin tarafından düzenlenmesi dallanmış ağ yapısının oluşumunda iş gören Arp2/3 protein kompleksi yanısıra Rab 27a ve koronin 1b ile kontrol edilmektedir. Kanser hücrelerinden salınan eksozom sayısındaki artış ile birlikte kortaktinin arttığı bildirilmiştir (21). İnflamazom kökenli eksozomlar makrofajlarda doğrudan NF-κB (nukleer faktör kappa beta) sinyalini aktifleştirmektedir. Eksozomlar komşu hücrelerde inflamasyon sinyalleri artırmakta ve inflamazom kökenli eksozomlar immün cevap ile ilişkili proteinleri yüksek miktarda içermektedirler (22). EV alımı klatrin bağımlı endositoz ve klatrinden bağımsız kaveolin aracılı transport, makropinositoz, fagositoz ve lipit raft aracılı taşıma şekilleri ile gerçekleşir. Eksozomlar hücre veya dokulara farklı farmakolojik molekülleri iletmek için etkili bir taşıyıcı sistem olarak iş görebilirler. Eksozomun istenen kargo ile yüklenme yöntemleri tedavide anahtar rol oynamaktadır (23, 24). Heparan sülfat proteoglikanlarının (HSPG'ler) kanser hücresi kaynaklı eksozomların reseptörleri olarak işlev gördüğü gösterilmiştir (25). İnsan meme kanseri eksozomlarında miR-21 ve miR-1246 gibi bazı mikroRNA çeşitlerinin seçici olarak yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir (26). Eksozom biyogenezi ve salınımı için gerekli olduğu bilinen RAB, ESCRT (Endosomal Sorting Complexes Required for Transport) veya SNARE protein ailelerinin yanı sıra insan dendritik hücre proteomik analiz sonuçları major uyumluluk kompleksi, flotilin ve ısı şok 70-kDa proteinleri gibi klasik olarak kullanılan birkaç eksozom biyobelirtecinin tüm EV'lerde mevcut olduğunu göstermiştir (27).

Çeşitli kanser tedavilerinde ekstrasellüler veziküllerin önemi

EV'lerin özellikle eksozomların son zamanlarda kansere karşı yeni terapötik ajanlar olarak rol oynadığı ileri sürülmektedir. Farklı hücrelerden kaynaklanan MV'ler kanserli hastaların kanında sağlıklı bireylere göre daha yüksek sayıda bulunmaktadır. Kandaki MV'in çoğunluğu trombosit kökenlidir. Trombosit kökenli olmayan MV plazma seviyesinin mide kanserli hastalarda yüksek olduğu bildirilmiştir (28). Memeli hücreleri arasında EV'ler haberleşme, kök hücre plastisitesi, hasarlı dokuların onarımının yanı sıra hastalığın yayılımında da iş görürler. Tümör mikro çevresinde yer alan eksozomlar bağışıklık, anjiyogenez ve metastazı düzenleyerek tümör oluşumunu kolaylaştırabilirler. Eksozomların hücresel bileşenlerle yapısal benzerliği ve boyutu spesifik bir ilaç dağıtım nanoparçacığı olarak kullanılabileceklerini göstermektedir (23). İlaç taşıyıcı doğal nanoparçacıklar olarak kullanılabilen eksozomlar çeşitli kanser ilaçlarının verilmesinde önemli bir potansiyele sahiptirler. Çoklu ilaç direnci gösteren kanser hücrelerini tedavi etmek için makrofajlardan salınan paklitaksel içeren eksozomlar araştırıldığında bunların sentetik nanoparçacıklara göre 30 kat daha iyi olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma eksozomlara yüklenen paklitakselin kanser hücrelerine yeterli miktarlarda ve etkili bir şekilde verilebileceğini ileri sürmektedir (24). Tümör EV'leri inflamasyon nişi oluşması ve anjiyojenezin düzenlenmesi için tümörle ilişkili makrofajları aktifleştirirler (29). Aktif T hücre eksozomlarının Fas/Fas Ligand sinyal yoluyla matriks metalloproteinaz 9 ekspresyonunu arttırarak melanom ve akciğer kanseri hücre metastazını kontrol ettiği gösterilmiştir. Ayrıca sadece tümörlü farelerde bu tümör artışını kontrol eden eksozomların varlığı bildirilmiştir (30).

Eksozomal hedefli reseptör aktivasyonunun (ExTRAcrine) yeni bir epidermal büyüme faktör reseptör (EGFR) ligandı olarak metastatik nişin hazırlanması gibi kanser süreçlerinde rol alabileceği ileri sürülmüştür (31). Eksozomların biyolojik etkilerine eşlik eden sinyal yolakları ile etkileşimlerini açıklamak için daha fazla çalışma gerekmektedir. Eksozomlar alıcı hücrelere heterojen yüklerini ileterek çeşitli sinyal yollarında başlatıcı veya inhibe edici etki gösterirler. Eksozomlar tümör hücrelerini kemoterapi ilaçlarının sitotoksik etkilerinden korurlar ve kemo direnç özelliklerini yakın hücrelere aktarırlar. Eksozomlar epitelyal mezenşimal geçiş proteinleri ve pro-inflamatuar sitokinler gibi birçok farklı yoldan metastazı etkilediğinden tümör büyümesi ve yayılmasının kontrolünde yeni bir terapötik yaklaşım olarak düşünülebilir (32,33). Fakat eksozom temelli tedavi uygulanmasında dolaşımda kalma süreleri, metabolik dayanıklılık, farmakokinetik ve hedefe özel taşıma işlemlerinin çözümlenmesi gerekmektedir. Kanser eksozomlarının RNA ile indüklenen susturum kompleksi (RISC) ile ilişkili miRNA'lar yoluyla hedef hücrelerde önemli transkriptom değişikliklerine aracılık ettiği gösterilmiştir (34). Çoğu malign tümör tekrarlanan kemotetapiden sonra antikanser maddelere dirençli hale gelmektedir. Bu direnç mekanizmasında eksozomal miRNA'lar hastaların kemoterapiye cevabının anlaşılmasında gelecekte bir biyobelirteç olarak kullanılabilir (35, 36). Çeşitli kanserlerde tümör tipini sınıflandırmak için eksozomun mikro RNA, uzun kodlanmayan RNA, haberci RNA ve mitokondriyal RNA gibi genomik profili potansiyel bir biyobelirteç kaynağı olarak görünmektedir (37). Metastatik ovaryum kanserli hücrelerin içerdiği çok sayıdaki miRNA'lardan mir-21'in yüksek ekspresyonunun ilaç direncine aracılık eden mekanizmalarından biri olabileceği bildirilmiştir (38). Plazma eksozomal miR-23b3p, miR-10b-5p ve miR-21-5p'nin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCL) için biyobelirteçler olduğu bildirilmiştir (39). Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde tahmin edilen genlerin ~%30'u ile ilişkili olan miR-21 veya miR-155 artışının hastalığın ilerlemesi ile orantılı olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu kanserde miR-21 ve anti-miR-155 inhibitörlerinin birlikte uygulanmasının hücre çoğalmasını inhibe ettiği bildirilmiştir (40). Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri için kullanılan H1975 hücrelerine ait eksozomların PI3K (fosfoinositid-3-kinaz)/AKT sinyal yolunu aktive ederek PC9'a gefitinib direncini hem in vitro hem de in vivo olarak aktarabildiğini bunda miR-522-3p yukarı regülasyonunun rol oynadığı gösterilmiştir. (41). İnsan kolorektal kanser hücresinden kaynaklanan ekstrasellüler veziküllerin proteomik analizlerinde 1364 protein tespit edilmiş ve mikrodizin verilerine göre 957 veziküler protein tanımlanmıştır (12). M2 makrofaj kaynaklı eksozomlarda saptanan yüksek miR-21-5p ve miR-155-5p ekspresyon seviyelerinin kolorektal kanser hücrelerinin göç ve invazyonunu düzenlemede fonksiyonel bir rol oynadığı bildirilmiştir (42). Melanoma B16F0 eksozomlarının CD8+ T hücre çoğalmasını baskılamak için bağışıklık kontrol noktası yolaklarında yer alan bir fosfataz olan PTPN11 genini yukarı doğru düzenleyen kompleks bir içerik sağladığı bildirilmiştir (43). Kolorektal kanserli hastaların tümör sıvısı kaynaklı eksozomları ile granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörün (GM-CSF) birlikte uygulandığı faz I klinik çalışmasında sitotoksik T lenfosit yanıtın indüklenebileceği ve immün tedavide güvenli bir aşı olabileceği bildirilmiştir (44). Besse ve ark.ları 2016 yılında küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapi sonrası immün tedavi olarak MHC sınıf I- ve sınıf II antijenleri ile yüklenen interferon gama-dendritik hücre kaynaklı eksozomların faz II klinik çalışmasını gerçekleştirmişlerdir (45). Bu bulgular immün tedavide nano ölçekli eksozomların kullanımının antijen sunan hücre aracılığı ile yeni kanser aşılarının geliştirilmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. HER2'yi aşırı eksprese eden SKBR3 ve BT474 ve kontrol olarak HER2-negatif MDA-MB-231 insan meme karsinomu hücre hatlarından eksozomlar izole edilip, eksozomal biyobelirteç CD 63'ün ekspresyonuna bakıldığında üç hücre hattında da pozitiflik bulunmuştur. HER2 pozitif erken meme kanserli hastaların serumlarından elde edilen eksozomların, hastalığı ilerlemiş hastaların serumlarında bulunan eksozomlara kıyasla trastuzumab'a daha düşük seviyede bağlandığı tespit edilmiştir (46). Kanserlerde

eksozom üretiminin artması ve hemen hemen tüm vücut sıvılarında kolaylıkla eksozom analizinin yapılabilmesi kanserin erken tespiti ve hastalığın ilerlemesinin değerlendirilmesinde yararlı olacaktır. Ovaryum kanserli hastalar için bilinen sekiz miRNA hem hücre hem de eksozom için benzer sonuç verirken kontrol örneklerde saptanamamıştır (47). Tümörlere özgü nuklear veya mitokondriyal DNA mutasyonlarının eksozomlar yoluyla taşınması alıcı hücrelerde metabolizmayı değiştirebilir. Kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarında örn; medulloblastoma tümörlü bireylerin c-Myc onkogeni için tümör kaynaklı mikroveziküllerde artmış olan hücre dışı DNA veya RNA içerikleri onkogen artışının bir biyobelirteci olması açısından önem taşımaktadır (48). Gen ekspresyon veri analizleri beyin mikro çevresinin metastaz yapmış kanser hücrelerinin tamamen yeniden programlanmasına yol açtığını göstermiştir (49). Astrosit kaynaklı eksozomal miR-19a'nın tümör baskılayıcı PTEN'in geri dönüşümlü aşağı düzenlemesini belirlediğini ve böylelikle beyin metastazını baskılamak için sitokin kemokin ligand 2 salgılanmasını arttırdığını göstermişlerdir (50).

SONUÇ

Eksozom temelli tanı ve tedavi yöntemleri erken kanser teşhisinde ve hedefe yönelik ilaç taşınmasında umut vaat etmektedir. Çeşitli kanser araştırmalarında eksozomların teknik açıdan saf elde edilememeleri diğer ekstrasellüler vezikül biyomolekülleri taşımaları hala çözülmesi gereken bir sorundur. Çeşitli kanserlerde eksozomların lokal ve sistemik olarak immün yanıtı değiştirmesi yeni bir tedavi yaklaşımı olabilir. Ayrıca eksozomların tedavi amaçlı uygulanmasından sonra immünojenik reaksiyonları tanımlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte gelecekte eksozomlar erken kanser teşhisinde spesifik bir biyolojik belirteç olarak klinik kullanımda etkili olabilecektir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- S.B.; Veri Toplama- S.B.; Veri Analizi/Yorumlama- S.B.; Yazı Taslağı- S.B.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- S.B.; Son Onay ve Sorumluluk- S.B.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- S.B.; Data Acquisition- S.B.; Data Analysis/Interpretation- S.B.; Drafting Manuscript- S.B.; Critical Revision of Manuscript- S.B.; Final Approval and Accountability- S.B.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

KAYNAKLAR

1. Ariazi J, Benowitz A, De Biasi V, Den Boer ML, Cherqui S, Cui H, et al. Tunneling nanotubes and gap junctions-their role in long-range intercellular communication during development, health, and disease conditions. Front Mol Neurosci 2017;10:333. [CrossRef]
2. Lee Y, El Andaloussi S, Wood MJ. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy. Hum Mol Genet 2012;15;21(R1): R125-34. [CrossRef]
3. Yoon YJ, Kim OY, Gho YS. Extracellular vesicles as emerging intercellular communicasomes. BMB Rep 2014;47(10):531-9. [CrossRef]
4. Zhao H, Achreja A, Iessi E, Logozzi M, Mizzoni D, Di Raimo R, et al. The key role of extracellular vesicles in the metastatic process. Biochim Biophys Acta 2018;1869(1):64-77. [CrossRef]
5. Abak A, Abhari A, Rahimzadeh S. Exosomes in cancer: small vesicular transporters for cancer progression and metastasis, biomarkers in cancer therapeutics. Peer J 2018 29;6:e4763. [CrossRef]
6. Jeppesen DK, Fenix AM, Franklin JL, Higginbotham JN, Zhang Q, Zimmerman LJ, et al. Reassessment of exosome composition. Cell 2019;177(2):428-45. [CrossRef]
7. Zhang X, Yuan X, Shi H, Wu L, Qian H, Xu W. Exosomes in cancer: small particle, big player. J Hematol Oncol 2015;8:83. [CrossRef]
8. Zomer A, Maynard C, Verweij FJ, Kamermans A, Schäfer R, Beerling E, et al. In Vivo imaging reveals extracellular vesicle-mediated phenocopying of metastatic behavior. Cell 2015;161(5):1046-57. [CrossRef]
9. Andre F, Schartz NE, Movassagh M, Flament C, Pautier P, Morice P, et al. Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. Lancet 2002;27;360(9329):295-305. [CrossRef]
10. Lässer C, Eldh M, Lötvall J. Isolation and characterization of RNA-containing exosomes. J Vis Exp 2012;(59):e3037. [CrossRef]
11. Yoshioka Y, Kosaka N, Konishi Y, Ohta H, Okamoto H, Sonoda H, et al. Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen. Nat Commun 2014;5:3591. [CrossRef]
12. Choi DS, Kim DK, Kim YK, Gho YS. Proteomics of extracellular vesicles:Exosomes and ectosomes. Mass Spectrom Rev 2015;34(4):474-90. [CrossRef]
13. Keerthikumar S, Chisanga D, Ariyaratne D, Al Saffar H, Anand S, Zhao K, et al. ExoCarta: A Web-Based Compendium of Exosomal Cargo. J Mol Biol 2016;428(4):688-92. [CrossRef]
14. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. J Extracell Vesicles 2018;7(1):1535750. [CrossRef]
15. Trams EG, Lauter CJ, Salem N Jr, Heine U. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. Biochim Biophys Acta 1981;645(1):63-70. [CrossRef]
16. Azmi AS, Bao B, Sarkar FH. Exosomes in cancer development, metastasis, and drug resistance: a comprehensive review. Cancer Metastasis Rev 2013;32(3-4):623-42. [CrossRef]

17. Zhang G, Yang P. A novel cell-cell communication mechanism in the nervous system: exosomes. J Neurosci Res 2018;96(1):45-52. [CrossRef]
18. Tian T, Zhu YL, Hu FH, Wang YY, Huang NP, Xiao ZD. Dynamics of exosome internalization and trafficking. J Cell Physiol 2013;228:1487-95. [CrossRef]
19. Wei Y, Wang D, Jin F, Bian Z, Li L, Liang H, et al. Pyruvate kinase type M2 promotes tumour cell exosome release via phosphorylating synaptosome-associated protein 23. Nat Commun 2017;8:14041. [CrossRef]
20. Parolini I, Federici C, Raggi C, Lugini L, Palleschi S, De Milito A, et al. Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells. J Biol Chem 2009;284(49):34211-22. [CrossRef]
21. Sinha S, Hoshino D, Hong NH, Kirkbride KC, Grega-Larson NE, Seiki M, et al. Cortactin promotes exosome secretion by controlling branched actin dynamics. J Cell Biol 2016;214(2):197-213. [CrossRef]
22. Zhang Y, Liu F, Yuan Y, Jin C, Chang C, Zhu Y, et al. Inflammasome-derived exosomes activate NF-κB signaling in macrophages. J Proteome Res 2017;16(1):170-8. [CrossRef]
23. Samanta S, Rajasingh S, Drosos N, Zhou Z, Dawn B, Rajasingh J. Exosomes: new molecular targets of diseases. Acta Pharmacol Sin 2018; 39(4):501-13. [CrossRef]
24. Kim MS, Haney MJ, Zhao Y, Mahajan V, Deygen I, Klyachko NL, et al. Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells. Nanomedicine 2016;12(3):655-64. [CrossRef]
25. Christianson HC, Svensson KJ, van Kuppevelt TH, Li JP, Belting M. Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. Proc Natl Acad Sci U S A 2013;110(43):17380-5. [CrossRef]
26. Hannafon BN, Trigoso YD, Calloway CL, Zhao YD, Lum DH, Welm AL, et al. Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer. Breast Cancer Res 2016;18(1):90. [CrossRef]
27. Kowal J, Arras G, Colombo M, Jouve M, Morath JP, Primdal-Bengtson B, et al. Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes. Proc Natl Acad Sci U S A 2016;113(8):E968-77. [CrossRef]
28. Baran J, Baj-Krzyworzeka M, Weglarczyk K, Szatanek R, Zembala M, Barbasz J, et al. Circulating tumour-derived microvesicles in plasma of gastric cancer patients. Cancer Immunol Immunother 2010;59 (6):841-50. [CrossRef]
29. Becker A, Thakur BK, Weiss JM, Kim HS, Peinado H, Lyden D. Extracellular vesicles in cancer: Cell-to-cell mediators of metastasis. Cancer Cell 2016;30(6):836-48. [CrossRef]
30. Cai Z, Yang F, Yu L, Yu Z, Jiang L, Wang Q, et al. Activated T cell exosomes promote tumor invasion via Fas signaling pathway. J Immunol 2012;15;188(12):5954-61. [CrossRef]
31. Higginbotham JN, Demory Beckler M, Gephart JD, Franklin JL, Bogatcheva G, Kremers GJ, et al. Amphiregulin exosomes increase cancer cell invasion. Curr Biol 2011;21(9):779-86. [CrossRef]
32. Brinton TL, Sloane HS, Kester M, Kelly KA. Formation and role of exosomes in cancer. Cell Mol Life Sci 2015;72(4): 659-71. [CrossRef]
33. Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, Ahadi AM, Molaei F, Alahari SK. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance. Mol Cancer 2019;18(1):75. [CrossRef]
34. Melo SA, Sugimoto H, O'Connell JT, Kato N, Villanueva A, Vidal A, et al. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis. Cancer Cell 2014;26(5):707-21. [CrossRef]
35. Bach DH, Hong JY, Park HJ, Lee SK. The role of exosomes and miRNAs in drug-resistance of cancer cells. Int J Cancer 2017;141(2):220-30. [CrossRef]
36. Sun Z, Shi K, Yang S, Liu J, Zhou Q, Wang G, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications. Mol Cancer 2018;17(1):147. [CrossRef]
37. Huang T, Deng CX. Current progresses of exosomes as cancer diagnostic and prognostic biomarkers. Int J BiolSci 2019;15(1):1-11. [CrossRef]
38. Vaksman O, Tropé C, Davidson B, Reich R. Exosome-derived miRNAs and ovarian carcinoma progression. Carcinogenesis 2014;35(9):2113-20. [CrossRef]
39. Liu Q, Yu Z, Yuan S, Xie W, Li C, Hu Z, et al. Circulating exosomal microRNAs as prognostic biomarkers for non-small-cell lung cancer. Oncotarget 2017;8(8):13048-58. [CrossRef]
40. Xue X, Liu Y, Wang Y, Meng M, Wang K, Zang X, et al. MiR-21 and MiR-155 promote non-small cell lung cancer progression by downregulating SOCS1, SOCS6, and PTEN. Oncotarget 2016;7(51):84508-19. [CrossRef]
41. Liu X, Jiang T, Li X, Zhao C, Li J, Zhou F, et al. Exosomes transmit T790M mutation-induced resistance in EGFR-mutant NSCLC by activating PI3K/AKT signalling pathway. J Cell Mol Med 2020;24(2):1529-40. [CrossRef]
42. Lan J, Sun L, Xu F, Liu L, Hu F, Song D, et al. M2 Macrophage-derived exosomes promote cell migration and invasion in colon cancer. Cancer Res 2019;79(1):146-58. [CrossRef]
43. Wu Y, Deng W, McGinley EC, Klinke DJ 2nd. Melanoma exosomes deliver a complex biological payload that upregulates PTPN11 to suppress T lymphocyte function. Pigment Cell Melanoma Res 2017;30(2):203-18. [CrossRef]
44. Dai S, Wei D, Wu Z, Zhou X, Wei X, Huang H, et al. Phase I clinical trial of autologous ascites-derived exosomes combined with GM-CSF for colorectal cancer. Mol Ther 2008;16(4):782-90. [CrossRef]
45. Besse B, Charrier M, Lapierre V, Dansin E, Lantz O, Planchard D, et al. Dendritic cell-derived exosomes as maintenance immunotherapy after first line chemotherapy in NSCLC. Oncoimmunology 2015;5(4):e1071008. [CrossRef]
46. Ciravolo V, Huber V, Ghedini GC, Venturelli E, Bianchi F, Campiglio M, et al. Potential role of HER2-overexpressing exosomes in countering trastuzumab-based therapy. J Cell Physiol 2012;227(2):658-67. [CrossRef]
47. Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. Gynecol Oncol 2008;110(1):13-21. [CrossRef]
48. Balaj L, Lessard R, Dai L, Cho YJ, Pomeroy SL, Breakefield XO, et al. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences. Nat Commun 2011;2:180. [CrossRef]
49. Park ES, Kim SJ, Kim SW, Yoon SL, Leem SH, Kim SB, et al. Cross-species hybridization of microarrays for studying tumor transcriptome of brain metastasis. Proc Natl Acad Sci USA 2011;108(42):17456-61. [CrossRef]
50. Zhang L, Zhang S, Yao J, Lowery FJ, Zhang Q, Huang WC, et al. Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth. Nature 2015;527(7576):100-4. [CrossRef]