

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ: МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ИНФОРМАЦИОННЫЙ ПОТОК И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

© А. Б. Пупышев

*Новосибирский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, 630091;
электронный адрес: apupyshv@mail.ru*

Рассмотрены важнейшие особенности внеклеточных везикул (экзосом, микровезикул), секретируемых клетками млекопитающих. Клеточная активация, вызванная формированием патологии, резко стимулирует эту секрецию. Везикулы обогащены аннексином V, тетраспанином, микроРНК. Для экзосом отмечено обилие интегринов, белков теплового шока. В микровезикулах повышено содержание тканевых факторов, фосфатидилсерина, мРНК. Везикулы несут информацию о патологическом процессе, при этом микровезикулы содержат больше белков, характерных для воспаления и гибели клеток, чем экзосомы. Внеклеточные везикулы являются важными медиаторами воспаления и распространения инфекции в организме, оказывают разнонаправленное влияние на иммунную систему, канцерогенез и нейродегенерацию. Однако при разных патологиях антигенные профили везикул различаются мало и их помощь диагностике ограничена. Везикулы несут сигналы генетического репрограммирования клеток и эпигенетической стимуляции, связанные как с белковыми факторами, так и с переносом мРНК и микроРНК. Профили микроРНК везикул, продуцируемых очагами патологии, активно изучаются для индикации источника и стадии онкозаболевания. Рассматриваются также некоторые пути терапевтического использования везикул.

Ключевые слова: внеклеточные везикулы, экзосомы, микровезикулы, межклеточный информационный поток, межклеточная везикулярная регуляция, антигенный профиль, микроРНК, диагностика.

Принятые сокращения: ВВ — внеклеточные везикулы, ДК — дендритные клетки, МВ — микровезикулы, ММП — матриксные металлопротеиназы, ПМ — плазматическая мембрана, ЭК — эндотелиальные клетки.

Первые факты, касающиеся регуляторных функций у внеклеточных микрочастиц (внеклеточных везикул) относятся к концу 60-х годов XX в., однако настоящий бум в изучении микрочастиц развернулся в текущем столетии. Везикулы, окруженные фосфолипидной мембраной, размером не более 1 мкм были обнаружены практически во всех биологических жидкостях и межклеточной среде, причем в крови в достаточно высоких количествах (выше 10^{10} частиц на 1 мл) (Dragovic et al., 2011). В целом это весьма разнородная популяция везикул, выполняющая целый ряд биологических функций, таких как межклеточная сигнализация, иммуносупрессия, коагуляция и т. д. (Van der Pol et al., 2012; Кореньков и др., 2014). Это привлекло интерес медиков, установивших ценность этих микрочастиц как биомаркеров для выявления и прогноза патологических процессов, включая онкозаболевания, и для их терапевтического использования. В связи с этим рассмотрим некоторые фундаментальные аспекты образования и функционирования внеклеточных везикул, уделяя особое внимание переносимой ими уникальной биоинформации, которую можно использовать в медицинских целях.

Популяции внеклеточных везикул (ВВ)

Выделяют три важнейшие группы ВВ — экзосомы, микровезикулы (МВ) и апоптотные тельца (Gyorgy et al., 2011), различающиеся прежде всего по размерам и происхождению.

Экзосомы. Это самые мелкие частицы (30—100 нм). Они образуются при экзоцитозе мультивезикулярных телец — поздних эндосом, которые могут направляться либо к лизосомам, либо к плазматической мембране (ПМ). Выявляются практически во всех биологических жидкостях — в крови, моче, асците, слюне, молоке, цереброспинальной жидкости, желчи и т. д. (Raposo, Storgoguel, 2013). Экзосомы освобождаются всеми клетками, но преимущественно клетками иммунной системы — Т- и В-лимфоцитами, дендритными клетками (ДК), макрофагами — и клетками опухолей. Их выделение включает в себя дифференциальное центрифугирование (100 000—200 000 g), обычно с последующим ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы (1.12—1.19 г/см³) (Thery et al., 2006). Экзосомы ассоциированы с трансмембранными липидсвязанными белками тетраспанинами, интегринами, молекулами адгезии

(САР), рецепторами факторов роста и лактадхерином (MFGЕ8), с цитозольными белками транспорта и слияния (аннексином, Alix, TSG101, Rabs и синтенином), они несут белки теплового шока (Hsp) и др., включая CD63, CD81, CD82, CD9 и LAMP1 (Simons, Raposo, 2009; Mathivanan et al., 2010; Lotvall et al., 2014), но которые встречаются и в других микрочастицах. Мембрана экзосом обогащена холестеринем, сфингомиелином, церамидом и доменами, устойчивыми к детергентам (Mathivanan et al., 2010). Описаны некоторые молекулярные пути упаковки везикул в мультивезикулярные тельца (Raposo, Stoogvogel, 2013).

Образование экзосом может стимулироваться различными воздействиями, в частности связыванием лигандов с рецепторами коллагена тромбоцитов, рецептором P2X7 или активацией рецепторов Т-лимфоцитов, но может снижаться при взаимодействии ДК с липополисахаридом и т. д. (Gyorgy et al., 2011). Клетками-мишенями экзосом являются чаще всего клетки гемопоэтического ростка (В-лимфоциты, мастоциты, ДК, тромбоциты и макрофаги), нейроны, эпителиальные клетки и др. (Taylor, Gercel-Taylor, 2013).

Экзосомы осуществляют межклеточный горизонтальный перенос мРНК и микроРНК, онкогенного рецептора, ВИЧ и других биосубстратов (Taylor, Gercel-Taylor, 2013). При этом переносимая микроРНК функционально активна (Montecalvo et al., 2012). Экзосомы могут влиять на презентацию антигена, вызывать иммуномодуляцию и другие эффекты.

Микровезикулы (МВ) много крупнее экзосом (100—1000 нм). Они найдены практически во всех биологических жидкостях, атеросклеротических бляшках, в среде культивирования клеток. Их выделяют дифференциальным центрифугированием (18 000—20 000 g). В последнее время удобным способом выделения МВ является использование гранул, сорбирующих аннексин V (Miltenyi Biotec). МВ образуются «пузырением» (blebbing) ПМ опухолевых клеток, тромбоцитов, эритроцитов, эндотелиальных (ЭК) и других клеток. Общим маркером является аннексин V. МВ обогащены фосфатидилсеринем, тканевыми факторами и клеточно-специфичными маркерами (They et al., 2009). В МВ найдено немало цитоплазматических и секретируемых белков (ИЛ-1b, факторов роста и ММП), в меньшей мере — мембранных, митохондриальных или ядерных белков (Gyorgy et al., 2011; Lötvald et al., 2014). Белков гибели в МВ больше, чем в экзосомах, что согласуется с повышенным освобождением МВ при апоптозе. Соответственно в МВ больше и белков воспаления. В МВ представлены также белки интегринопосредованной сигнальной трансдукции (актин, талин, винкулин, белки, регулирующие форму клетки и движение). МВ, как и экзосомы, содержат мембранные белки тетраспанины, концентрация которых может превышать таковую рецептора трансферрина (маркера ПМ и ранних эндосом) в 100 раз (Escola et al., 1998). Важно, что в МВ и экзосомах содержатся мРНК и некодирующая микроРНК (цепочки из 17—24 нуклеотидов), а мРНК способна транслироваться в белок в клетках-мишенях (Ratajczak et al., 2006). Некоторые РНК стабильно концентрируются в МВ, что говорит, по-видимому, об их способности к избирательной сегрегации в эти секреторные везикулы. Относительно белков показано, что в МВ попадают преимущественно нестандартные секреторные белки, лишённые секреторного сигнального пептида (Inal et al., 2013).

Часто процесс секреции МВ активируется с поверхностных рецепторов клетки или благодаря апоптозу (с подъемом концентрации внутриклеточного Ca²⁺). МВ обладают прокоагуляционной активностью, могут переносить ИЛ-1b, способствуют инвазии опухолей, онкогенной трансформации, коммуникации матери и плода и т. д. (Van der Pol et al., 2012). Отмечено, что функциональный эффект переносимых субстратов (в частности, каспазы-1) может зависеть от целостности МВ (Sarkar et al., 2009).

Апоптозные везикулы (тельца). Являются особой разновидностью биочастиц диаметром 1—5 мкм, который сопоставим с размером тромбоцитов. Имеют плотность 1.16—1.28 г/см³. Они образуются «пузырением» ПМ в ходе апоптоза, связанном, например, с активацией каспазы-3. Апоптозные везикулы обогащены поверхностным фосфатидилсеринем. Различают везикулы, образующиеся из ПМ (включают в себя ДНК и гистоны) и из ЭПР (маркеры — незрелые гликоэпитопы) (Van der Pol et al., 2012). Они могут переносить онкогены, ДНК, презентировать эпитопы Т-клеток макрофагам и т. д.

Для слежения за захватом ВВ в целом обычно используют красители липидов мембран, такие как PKH67, PKH26, родамин В, DiI и DiD. Используют и мембрано-проникающие агенты, такие как сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина (CFSE) или 5(6)-карбоксифлуоресцеиндиацетат (CFDA) (Mulcahy et al., 2014). Флуоресцентное мечение ВВ достигается генопосредованным «сращиванием» флуоресцентных белков с белками ВВ. Так, тетраспаниновые белки CD9 и CD63, обильно представленные в ВВ, слитые с зеленым белком GFP, становятся маркерами процессинга ВВ в клетке.

ВВ отдельных клеточных типов

ВВ тромбоцитов. Среди МВ крови более всего распространены и изучены МВ из тромбоцитов и ЭК. Большинство циркулирующих в крови МВ происходят из тромбоцитов, активированных коллагеном или тромбином, или из мегакариоцитов (Flaumenhaft et al., 2009). Острый стресс или взбалтывание везицы тромбоцитов также дает образование МВ. Эти везикулы легко выявляются с помощью проточной цитометрии по маркерам CD41, CD42, CD61 и CD62 и отражают активацию тромбоцитов при сердечно-сосудистых заболеваниях, аутоиммунной патологии или диабете II типа, оказывая тромбогенное действие. Такие МВ регистрируются и в синовиальной жидкости при ревматоидном артрите и способны активировать синовиальные фибробласты посредством ИЛ-1. Они высокоадгезивны к ЭК, лейкоцитам и межклеточному матриксу (Li, Song, 2009) и способны активировать, например, нейтрофилы. Таким образом, МВ тромбоцитов рассматриваются как новый фактор формирования воспаления и аутоиммунных процессов.

ВВ эндотелиальных клеток. МВ из ЭК образуются после стимуляции липополисахаридами, активными формами кислорода, различными цитокинами. В них находят такие маркеры, как CD54, CD62E, CD62P, CD31, CD106, CD105, CD144 и CD146 (Dignat-George, Boulanger, 2011). Эндотелиальные МВ обильны в крови при воспалении, повреждении и дисфункции эндотелия (Gyorgy et al., 2011), что в свою очередь отражает формирование сердечно-сосудистой патологии. Их повышенное содержание в крови регистрируется при острых и хронических заболеваниях сосудов, таких как острый коронарный син-

дром, выраженная гипертония, почечная недостаточность последней стадии и т. д. (Chironi et al., 2009). МВ ЭК, содержащие фосфатидилсерин или тканевый фактор, могут усиливать коагуляцию и тромбоз. Однако они могут индуцировать и ангиогенез.

Функции ВВ

Для ВВ описано широкое разнообразие функций, включающих в себя регуляцию генетическую (межклеточную сигнализацию) и эпигенетическую (Van der Pol et al., 2012). Межклеточная сигнализация посредством ВВ включена в следующие процессы: 1) иммунная супрессия, 2) воспаление, 3) презентация антигена, 4) рост опухоли, метастазирование и ангиогенез, 5) генетическое информирование, 6) морфогенез, 7) перенос вирусов и др. Эпигенетическое функционирование распространяется на 1) клеточную адгезию, 2) коагуляцию крови, 3) удаление клеточного «мусора» и защиту от стресса, 4) влияние на сосуды. В настоящем обзоре представляют интерес лишь некоторые функции, связанные с возможностями использования ВВ для диагностических и терапевтических целей.

Активация физиологического действия ВВ достигается в первую очередь активацией их секреции. Обычно освобождение МВ и экзосом идет параллельно, и исследователи ВВ нередко не дискриминируют эти популяции везикул по секреции. Процесс секреции МВ зависит от факторов образования и «сбрасывания» везикул, уже изученных в определенной мере (Guogyu et al., 2011). Повышенное образование везикул связано с активацией клеток, в частности с подъемом концентрации внутриклеточного Ca^{2+} , и подавляется кальмодулином и другими факторами. Секреция ВВ тормозится ингибиторами протонной помпы, блокированием киназы Rab27 и др. (Guogyu et al., 2011).

Для широко изученных МВ тромбоцитов выделяют следующие пути модуляции функциональной активности клеток-мишеней (Camussi et al., 2011): 1) непосредственная активация других клеток (ЭК, нейтрофилов и моноцитов) и модуляция активности гемопоэтических клеток; 2) доставка поверхностных молекул другим клеткам, например белка CD41, в ЭК или клетки опухоли, что придает им проадгезивные свойства; или доставка рецептора Fas из опухолевых клеток в Т-лимфоциты, вызывающая их апоптотическую гибель; или рецепторов хемокинов CXCR4 и CCR5, действующих как корецепторы вируса ВИЧ-1 и способствующих входу вируса в клетки; 3) перенос белков внутрь клетки, в частности каспазы-1, из обработанных эндотоксином моноцитов в гладкомышечные клетки сосудов или онкогенных продуктов из опухолевых клеток в соседние; 4) наконец, МВ могут переносить генетическую информацию для репрограммирования клеток, например МВ опухолевых клеток транспортируют в макрофаги не только поверхностные детерминанты, но также и мРНК.

Важно, что ВВ снабжают клетки не только информацией о патологических процессах, но и регуляторными «посланиями». Показано эпигенетическое репрограммирование гемопоэтических стволовых клеток посредством МВ из эмбриональных стволовых клеток мыши (Ratajczak et al., 2006). Нашли индукцию ранних плюрипотентных и гемопоэтических маркеров и активацию (фосфорилирование) MAP-киназ p42/44 и киназы Akt. Показано,

что это обеспечивается переносом мРНК нескольких плюрипотентных факторов транскрипции с последующей трансляцией РНК (Koh et al., 2010), при этом эффект устранялся обработкой экзосом РНКазой, что может быть связано с поверхностной локализацией РНК. Отметим, что позднее для ВВ показан прямой межклеточный перенос 130 регуляторных киназ с такими молекулярными мишенями, как mTOR, AKT, ERK1/2, AXL и EGFR (Van der Mijjn et al., 2014).

Клеточное репрограммирование исследовано для экзосом тучных клеток, передающих транслируемую РНК (Valadi et al., 2007). Поврежденные клетки легких посредством МВ способны вызывать в клетках костного мозга эпигенетическую стимуляцию экспрессии цитоспекцифичных генов легочного эпителия и белка просурфактанта В (Quesenberry, Aliotta, 2010). Эффект достигался посредством переносимых тканеспецифичных мРНК, микроРНК и белковых факторов транскрипции. Подобный результат обнаружен и для других клеточных источников МВ (мозг и сердце) (Lee et al., 2012).

Показан горизонтальный транспорт мРНК посредством МВ из предшественников ЭК, запускающей ангиогенную программу в ЭК или трансляцию белка GFP в клетках-реципиентах посредством мРНК, кодирующей GFP (Deregibus et al., 2007). Более того, *in vivo* МВ из стволовых клеток человека могут переносить мРНК в клетки мыши, вызывая трансляцию кодируемого белка (Aliotta et al., 2010). В других экспериментах МВ, проникающие в клетки костного мозга, вызывали тканеспецифичные изменения мРНК не только посредством прямой доставки РНК, но и индукцией тканеспецифичной РНК (Valadi et al., 2007).

МВ из эмбриональных стволовых клеток несут много микроРНК, улавливаемой эмбриональными фибробластами мыши *in vivo* (Yuan et al., 2009). Обнаружено, что в ходе образования МВ некоторые образцы РНК селективно накапливаются в них, а другие, наоборот, избегают попадания в МВ, т. е. процесс компартиментализации микроРНК в секреторные МВ организован и достаточно селективен (Collino et al., 2010). Отмечено, что высокооксипрессируемая микроРНК МВ мезенхимных стволовых клеток может участвовать в морфогенезе органов, в клеточном выживании, дифференцировке и регуляции иммунной системы. Возможно, этот перенос генетической информации посредством МВ играет важную роль в биологии стволовых клеток, в их пластичности и участии в регенерации ткани (Deregibus et al., 2007). Хотя в целом горизонтальный транспорт РНК, белка и липидов известен для множества клеточных систем, включая клетки глиомы, моноциты, тучные клетки и Т-лимфоциты (Taylor, Gercel-Taylor, 2013).

Надо отметить, что болезнь стимулирует образование ВВ, содержащих патогенные компоненты. Во многих случаях ВВ способствуют распространению патологии на нормальные клетки и, таким образом, не являются индукторами только биологически целесообразных, защитных реакций. Например, так передаются рецепторы хемокинов, способствующие распространению ВИЧ-1 (Mask et al., 2000), известно распространение микроРНК и онкогенов посредством МВ для локального роста или метастазирования опухолей. Так, МВ глиобластомы содержат белки et-7a, miR-15b и рецепторы онкогенов (EGFRvIII), передающиеся другим клеткам и способствующие росту опухоли и метастазированию (Al-Nedawi et al., 2008; Skog et al., 2008). Или, например, МВ клеток рака легких сти-

мулируют экспрессию ряда проангиогенных факторов в окружающих клетках стромы, способствуя онкогенезу (Kucharzewska et al., 2013). В ВВ нервной ткани обнаружены такие патогенные белки, как β -амилоидный пептид (Rajendran et al., 2006), α -синуклеин (Emmanouilidou et al., 2010), прионы (Fevrier et al., 2004), способствующие диссеминации болезней. Наконец, ВВ могут передавать в цитоплазму клеток-мишеней патогенные стимулы, например переносить в клетки-реципиенты губительный фермент каспазу-1 из моноцитов, стимулированных липополисахаридом (Taylor, Gercel-Taylor, 2013).

Для ВВ выделяют следующие функциональные области генетического репрограммирования, связанные с выживанием (Lee et al., 2012): повышение пластичности стволовых клеток, усиление иммунного ответа транспортеркой медиаторов воспаления, препятствие нейродегенерации за счет усиления трофики аксонов и доставки защитных факторов. Однако другие функции связаны с негативным действием: способствование канцерогенезу (росту опухоли, инвазии, метастазированию), распространение вирусов переносом рецепторов и ускользанием от иммунного распознавания, а также усиление нейродегенерации за счет распространения повреждающих факторов.

Модуляция иммунной системы посредством везикул обычно сводится к иммуносупрессии. Примером являются экзосомы активированных Т-клеток и мононуклеаров, несущие смертоносные рецепторные комплексы Fas-лиганд (Monleon et al., 2001). Внутривнутрибрюшинное введение таких экзосом мышам запускает апоптоз макрофагов *in vivo* (Hohlbaum et al., 2001). Дистанционное подавление иммунной системы посредством ВВ используют также вирусы, бактерии, паразиты. Так, опухоли, вызываемые вирусом Эпштейн—Барра, продуцирующие экзосомы с белком LMP-1, ингибируют пролиферацию мононуклеаров, позволяя опухолевым клеткам ускользать от атаки иммунной системы (Flanagan et al., 2003). Однако достаточно данных и о противоположном действии ВВ — иммуностимуляции или отсутствии эффекта. Например, экзосомы из синовиальных фибробластов пациентов с ревматоидным артритом экспонируют TNF- α , который задерживает гибель Т-клеток, вызываемую активацией, и тем самым повышает устойчивость их к апоптозу (Zhang et al., 2006). Либо экзосомы из опухоли поджелудочной железы человека ингибируют рост опухоли, повышая выживание нормальных клеток экзосомозависимыми путями, способствуя апоптозу опухолевых клеток в большей мере, чем клеток иммунной системы (Ristorcelli et al., 2009). В целом во влиянии ВВ на иммунную систему нет однозначности (Van der Pol et al., 2012).

Полагают, что секреция ВВ клетками и их функции эволюционно закрепились, поскольку при разных состояниях существуют единообразие везикул по размеру и составу компонент и адекватно воспроизводимые клеточные реакции (Gyorgy et al., 2011). Вместе с тем отмечается и высокая вариабельность результатов исследований. В связи с этим Международное общество по внеклеточным везикулам рекомендует стандартизацию выделения и характеристик ВВ (Lötvald et al., 2014). Предлагается оценка содержания хотя бы трех характерных белков (особенно трансмембранных и мембранно-связанных цитозольных), а также оценка загрязнения несвойственными белками (маркерами ЭПР, митохондрий и т. д.), внеклеточными белками, такими как альбумин, белки внеклеточного матрикса и секретируемые растворимые

белки (цитокины, факторы роста и ММП) и т. д. Для везикул, секретируемых клетками *in vitro*, важно знать отличия состава везикул от родительских клеток. Интересуют также вид и размер везикул. Функциональную активность ВВ рекомендуется оценивать с помощью анализа дозозависимости эффекта, негативного контроля и других условий (Lötvald et al., 2014).

Медицинские аспекты

Воспаление. ВВ несут факторы влияния на воспалительные (иммунные реакции). Так, МВ нейтрофилов транспортируют в ЭК регуляторы образования тканевого фактора и провоспалительного цитокина ИЛ-6 (Mesri, Altieri, 1999), но в макрофагах эффект обратный — иммуносупрессия реакции на зимозан и липополисахарид (Eken et al., 2010). Отмечено, что МВ опосредуют главный путь секреции провоспалительного ИЛ-1 β , лишённого сигнального пептида (MacKenzie et al., 2001). Аналогично стимулированные мышинные макрофаги освобождают экзосомы с ИЛ-1 β , каспазой-1 и другими компонентами инфламмосомы, способствуя формированию воспаления (Qu et al., 2007).

На течение воспаления суставов активно влияют везикулы синовиальной жидкости, происходящие из Т-лимфоцитов, моноцитов и тромбоцитов. Они запускают образование в синовиальных фибробластах ИЛ-6, ИЛ-8, ММП, белков хемотаксиса моноцитов и фактора роста сосудистого эндотелия (ICAM-1), усиливая ревматоидный артрит (Distler, Distler, 2010). Способствует воспалению и перенос арахидоновой кислоты из лейкоцитов в фибробласты (Jungel et al., 2007). Более того, синовиальные везикулы экспонируют тканевый фактор и активно способствуют коагуляции и накоплению фибрина в воспалённых суставах (Berckmans et al., 2002).

В целом полагают, что ВВ являются ключевыми медиаторами (регуляторами) воспалительного ответа (Whiteside, 2013), влияющими на активность и жизнеспособность макрофагов, на формирование инфламмосом, активацию тромбоцитов, дегрануляцию тучных клеток и другие воспалительные реакции.

Рак. При различных формах рака показано обилие циркулирующих МВ, и их уровень является плохим прогнозом заболевания. Исследователи видят причину в плейотропном действии МВ. Опухолевые ВВ, освобождаемые *in vitro*, влияют на ускользание опухоли от фармакологических воздействий, на ангиогенез, пролиферацию эндотелия и инвазию опухоли, т. е. способствуют росту опухоли и метастазированию (D'Souza-Schorey, Clancy, 2012; Julich et al., 2014). В организме опухоль индуцирует образование МВ и опосредованное ими влияние на создание благоприятного для нее клеточного микроокружения (ниши опухоли), на свертывание крови, ангиогенез и метастазирование (Camussi et al., 2011). Эти эффекты, а также потеря мышечной ткани в ходе канцерогенеза могут регулироваться посредством микроРНК ВВ (He et al., 2014; Julich et al., 2014).

Дистантная регуляция иммунной системы с помощью экзосом (с Fas-L) используется такими опухолями, как меланома и рак простаты, что, например, приводит к гибели Т-лимфоцитов (Andreola et al., 2002; Martínez-Lorenzo et al., 2004). Возможна супрессия и клеток-киллеров (Ashiru et al., 2010). Найдена корреляция между содержанием Fas-L в МВ сыворотки больных сквамозной карци-

номой и индукцией апоптоза Т-клеток (косвенным влиянием на рост опухоли, ослабляющей иммунный контроль над опухолью) (Kim et al., 2005a). Другим примером подавления иммунной системы являются экзосомы опухолей человека и рака груди мыши, ингибирующие посредством переноса ИЛ-2 пролиферацию естественных киллерных клеток (Liu et al., 2006).

ВВ осуществляют функцию ремоделирования и «обучения» окружения опухоли, способствуя инвазии и метастазированию опухоли (Peinado et al., 2012). ВВ из опухолевых клеток легкого могут активировать экспрессию проангиогенных факторов (ИЛ-8, ИЛ-11, VEGF, LIF, онкостатина М и ММП-9) в соседних стромальных клетках, «обучая» их поддержке опухоли (Wysoczynski, Ratajczak, 2009; Kucharzewska et al., 2013). ВВ могут вызывать также подготовку лимфоузлов и других мишеней к метастазированию (Rana et al., 2013).

Таким образом, опухолевые клетки осуществляют различные формы межклеточных коммуникаций посредством ВВ, используя тканевые факторы, иммунорегуляторы и онкогенные молекулы. Сами эти сигналы отображают транскрипционное состояние генерирующих клеток, а мРНК и микроРНК оказывают достаточно широкое влияние на трансляционную активность клеток-мишеней.

Использование ВВ для диагностики и терапии

Детекция патологических процессов. ВВ несут многие компоненты «родительских» клеток, такие как поверхностные рецепторы, интегральные мембранные белки, цитозольные белки, характерные липиды, некоторые мРНК и микроРНК. И эти свойства открывают возможность использовать их как «отпечатки» патологических процессов, как минимально инвазивные биомаркеры заболеваний, содержащиеся в плазме, сыворотке крови и других биологических жидкостях.

Спектр изученных заболеваний, при которых регистрируется активный выброс различных популяций ВВ в кровь, достаточно широк. В целом активируется секреция ВВ прежде всего тромбоцитарного и эндотелиального происхождения. Повышенный уровень МВ регистрируется при следующих аутоиммунных болезнях: системной красной волчанке, ревматоидном артрите, системном склерозе (здесь обильны и МВ лейкоцитов), диабете I типа и рассеянном склерозе (Gyorgy et al., 2011). Подобные изменения наблюдаются при сердечно-сосудистой патологии: остром коронарном синдроме, гипертонии, легочной гипертонии (много и МВ лейкоцитов), атеросклерозе (в этом случае обильны МВ лейкоцитов вместо тромбоцитарных МВ) и цереброваскулярной недостаточности (много и МВ из лейкоцитов и эритроцитов). Обилие МВ выявляется при серповидно-клеточной анемии (есть и МВ эритроцитов). Для рака характерна секреция экзосом, показанная в следующих случаях (Gyorgy et al., 2011): аденокарцинома легких, глиобластома (маркер EGFRvIII), рак яичников (профиль микроРНК как маркер злокачественности), рак простаты (скрининг опухолеспецифичных экзосом), колоректальная карцинома (скрининг опухолеспецифичных экзосом), рак желудка (обилие МВ тромбоцитов вместо экзосом), меланома (высок уровень CD63 и кальвеолин-1 экзосом) и рак рта (обилие Fas-L в экзосомах). Повышен уровень ВВ при болезни Альцгеймера (найлены экзосомы тромбоцитов с β -амило-

идом), сепсисе (обильны МВ тромбоцитов, ЭК и гранулоцитов) и других заболеваниях.

Углубляясь в диагностику, важно знать полный профиль антигенов МВ, связанный с патологией. Изучены таким образом атеросклероз, артрит, гепатит С, неалкогольное ожирение печени и малярия (Julich et al., 2014). Изучаются такие поверхностные антигены, как белки CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD20, CD41 и CD105, которые в различных сочетаниях характеризуют конкретные болезни. Комбинации маркеров в ряде случаев достаточно специфичны, хотя содержат и весьма распространенные антигены (у всех — аннексин V, реже CD3, CD4 и CD14). Анализ маркеров CD4, CD8, CD14, CD15, CD41 и iNKT позволил различить две хронические болезни печени — гепатит С и неалкогольное ожирение печени. С отдельными субпопуляциями микрочастиц хорошо коррелировали такие показатели, как активность АЛТ или гистологические изменения. Выявление отдельных маркеров МВ оказалось более стабильным индикатором опухоли, чем, например, гистология биопсии печени (Kornek et al., 2012).

Диагностическая ценность ВВ определяется потребностью в распознавании заболевания, особенно на ранних бессимптомных стадиях, в первую очередь для злокачественных процессов, а также потребностью слежения за терапией опухолей. Трудности стандартной малоинвазивной диагностики в целом заключаются в нестабильности циркулирующих маркерных белков и нуклеиновых кислот в крови (деградирующих за несколько минут), тогда как в составе экзосом они существуют несколько дней и таким образом облегчают диагностику.

Общая схема диагностики включает в себя выделение ВВ и анализ маркеров. Обычно из 10 мл крови получают 2—2.5 мл сыворотки, из которой выделяют везикулы с помощью ультрацентрифугирования и проводят их дальнейшую очистку на (аннексин V)-гранулах, или другим способом. Содержание ВВ в крови здоровых людей составляет около 10^{10} частиц в 1 мл, но при онкозаболеваниях оно увеличивается в 3—4 раза (Gyorgy et al., 2011). В препаратах ВВ исследуют антигенный профиль белков, но предпочитают идентифицировать микроРНК, получая специфический профиль РНК везикул для выяснения диагноза, локализации опухоли и т. д. Замечено, что высокая очистка везикул лишь снижает диагностическую ценность (Gyorgy et al., 2011).

В опухолях образуются одновременно все виды ВВ. Освобождающиеся в кровь везикулы несут на своей поверхности специфические опухолевые антигены, такие как, например, Her2/Neu мезотелин, MelanA/Mart-1, CEA, HER-2, EGFRvIII, а также различные РНК (Gyorgy et al., 2011). МВ, содержащие мутин, оказались полезными в диагностике аденокарциномы (Van Doormaal et al., 2009). Меланома продуцирует в кровь человека экзосомы, содержащие маркеры CD63 и кавеолин-1 (Logozzi et al., 2009). Протеомный анализ МВ мочи позволяет идентифицировать потенциальные маркеры рака мочевого пузыря (Smalley et al., 2008). Для рака простаты в МВ крови выявляли его маркеры со специфичностью 83 % и чувствительностью 90 %, для колоректальной карциномы — оба показателя по 85 %, и этот анализ рассматривается как многообещающий инструмент для скрининга и диагностики заболеваний (Gyorgy et al., 2011).

Повышенное содержание белка CD95L в МВ коррелирует с ростом плоскоклеточной оральной карциномы, но такие же МВ были выявлены и при беременности, т. е.

Возможности диагностики онкопатологии по микроРНК экзосом человека

Объект	Способ выделения	Метод количественной оценки	Результаты	Литературный источник
Клетки опухоли пациентов с глиобластомой, сыворотка крови	Ультрацентрифугирование	Количественная ПЦР	11 микроРНК (miR-15b, miR-16, miR-196, miR-21, miR-26a, miR-27a, miR-92, miR-93, miR-320, miR-20 и let-7a) обильны в МВ при глиоме, miR-21 повышена по сравнению с контролем	Skog et al., 2008
Плазма крови пациентов с немелкоклеточным раком легких	Иммуногранулы (EpCAM)	То же	Уровень микроРНК let-7f и miR-30e-3p различает пациентов с удаляемой и неудаляемой опухолями	Silva et al., 2011
Сыворотка крови пациентов с малигнизировавшими опухолями в сравнении с доброкачественными опухолями	Иммуногранулы (EpCAM) и ультрацентрифугирование	Микрочип (microarray)	Уровни 8 микроРНК экзосом (miR-21, miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-203, miR-205 и miR-214) из малигнизировавших опухолей значительно отличаются от таковых доброкачественных опухолей; в контроле не обнаружено	Taylor, Gercel-Taylor, 2008
Плазма крови пациентов с аденокарциномой легких	Эксклюзионная хроматография и иммуногранулы (EpCAM)	То же	Уровни 12 микроРНК экзосом (miR-17-3p, miR-21, miR-106a, miR-146, miR-155, miR-191, miR-192, miR-203, miR-205, miR-210, miR-212 и miR-214) значительно повышены по сравнению с контролем	Rabinowits et al., 2009
Сыворотка крови пациентов с колоректальной карциномой, культура клеток прямой кишки	Ультрацентрифугирование	» »	Уровни 7 микроРНК (let-7a, miR-1229, miR-1246, miR-150, miR-21, miR-223 и miR-23a) значительно повышены в экзосомах сыворотки крови относительно здоровых людей; то же — в среде культуры клеток	Ogata-Kawata et al., 2014

Примечание. В основе таблицы: Zhang et al., 2015.

в данном случае одного маркера недостаточно для диагностики опухоли (Kim et al., 2005a). Пилотное исследование гепатоцеллюлярной карциномы показало, что у пациентов после резекции и трансплантации печени в крови остается повышенное содержание ВВ с маркерами эндотелия (CD31⁺/CD42⁻) и гепатоцитов (HerPar), что коррелировало с исходом болезни (Brodsky et al., 2008). Достаточно успешным стало изучение антител к поверхностным антигенам, реагирующих с белком EpCAM (epithelial cell adhesion molecule), например для клеток рака яичника. Показано, что во время болезни содержание EpCAM в ВВ растет и помогает диагностике заболевания (Taylor, Gercel-Taylor, 2008). В другом исследовании *in vitro*, пытаясь найти различия между клетками рака простаты и груди человека, исследовали более 10 поверхностных маркеров МВ, но различий по их экспрессии не нашли (Yoshioka et al., 2013). Таким образом, определить различия между антигенными профилями различных опухолевых линий клеток, как и нормальных клеток, весьма трудно. И даже посредством типирования белка МВ можно подтвердить лишь наличие рака и регистрацию терапевтического ответа, но не дифференцировать происхождение МВ (Shao et al., 2012).

Более успешным оказалось слежение за геномным профилем ВВ, отражающим характер патологии и эффективность терапии, что позволило назвать этот тест «жидкой биопсией» (Takeshita et al., 2013). Для онкодиагностики важна индикация появления, роста опухоли и метастазирования (Liang et al., 2013). Диагностическая ценность циркулирующей в ВВ РНК впервые показана недавно. Особенно полезными для диагностики онкоза-

болеваний оказались профили микроРНК (см. таблицу). В ВВ из крови пациентов с раком яичника найдено 8 отдельных микроРНК, высоко коррелирующих с источником патологии (Taylor, Gercel-Taylor, 2008). Позднее эти авторы охарактеризовали профиль микроРНК ВВ опухолей как их «микрокарту», дополняемую повышенно экспрессируемыми опухолевыми антигенами или белками HLA (Taylor, Gercel-Taylor, 2011).

При аденокарциноме легких повышен уровень 12 микроРНК экзосом в сравнении с контролем (Rabinowits et al., 2009), что находит диагностическое применение. Также и при колоректальной карциноме специфический набор индуцируемых микроРНК экзосом из 7 образцов дает основание для диагностического использования (Ogata-Kawata et al., 2014). А экзосомные микроРНК miR-1290 и miR-375 являются полезными прогностическими маркерами рака простаты, устойчивого к кастрации (Huang et al., 2013).

Возможности анализа опухолевых антигенов и микроРНК постоянно расширяются. Выделение экзосом из меланомы и колоректальной карциномы с использованием прометастатического белка проминина-1 показало наличие в них 154 белков, включая 14 характерных для экзосом, и много прометастатических белков, включая CD44, MAPK4K, ADAM10, ГТФ-связывающий белок и аннексин А2 (Rappa et al., 2013). По липидному составу экзосомы были близки к микродоменам рафтов и обогащены лизофосфатидилхолином, лизофосфатидилэтанололамином и сфингомиелином. В экзосомах найдено 49 видов микроРНК, из них 20 связано с раком. Инкубация клеток меланомы с проминин-1-экзосомами повышала инвазив-

ность клеток, что указывает на способность отдельных субпопуляций экзосом нести метастатический потенциал родительских раковых клеток.

Полезную информацию дали результаты протеомного анализа МВ, освобождаемых клетками метастазирующего рака простаты линии PC-3 (Sandvig, Llorente, 2012). Используя тандемную масс-спектрометрию, в МВ нашли 266 белков, в основном связанных с транспортом, организацией цитоплазмы, метаболизмом, ответами на стимулы и регуляцией биологических процессов. Найдено несколько PC-3-специфичных белков — тетраспанина CD151 и белка 1 с CUB-доменом, пригодных для клинической диагностики рака простаты.

В другом протеомном исследовании рака простаты найдено, что из 220 белков экзосом 58 % относятся к цитоплазме, 14 — к внеклеточному матриксу, 13 — к клеточной мембране, 6 % — к ядру (Hosseini-Beheshti et al., 2012). Отмечено весьма низкое перекрытие спектров белков экзосом из 6 различных клеточных линий рака простаты. Из 50 кандидатов на белки-маркеры рака простаты исключили 4 белка (GAPDH, PKM2, TUBA1B и THBS1), присутствующих и в доброкачественной опухоли, а наиболее полезными для диагностики сочли 4 белка CLSTN1, FASN, FLNC и GDF15. По липидному составу экзосомы рака простаты несут существенно больше холестерина (а также сфинголипидов и гликофинголипидов), чем экзосомы доброкачественной опухоли.

Сочетанием слежения за опухолеспецифичными ВВ с комплементарным анализом их микроРНК (микроэррэй), по-видимому, можно компенсировать невысокую диагностическую ценность антигенов, обусловленную перекрытием белковых спектров опухолевых маркеров ВВ (Sun et al., 2013). Показано, что микроРНК дифференциально экспрессируется в МВ от пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, вирусным гепатитом В и от нормальных доноров (Sun et al., 2013). Полагают, что результат объясняется использованием грубоочищенных препаратов МВ без обогащения по аннексину V или другим опухолевым маркерам, таким как ЕрСАМ. Подобный подход, заключающийся в анализе микроРНК грубоочищенных ВВ, позволил дифференцировать также здоровых людей от больных холангиокарциномой (Li et al., 2014). В другом варианте применение гранул, сорбирующих МВ с достаточно специфичным маркером рака груди CD83, позволило резко повысить диагностическую ценность МВ по 6 видам микроРНК, отличных от таковых доброкачественного источника (Kim et al., 2014), и рекомендовать технологию для раннего выявления рака груди. Считается продуктивным выделение ВВ дополнять их сортировкой с помощью проточной цитометрии или на магнитных частицах с последующим скринингом микроРНК, который способен указать, есть ли опухоль и какого типа. Однако для этого требуются составление регистра маркеров опухолей, переносимых ВВ, расширение спектра диагностируемых таким образом болезней и установление четких связей с болезнью (Taylor, Gercel-Taylor, 2013).

Представляют интерес данные по мРНК глиобластомы (Skog et al., 2008), в которой обнаружили мутантный вариант мРНК EGFR, выявляемый у 47 % пациентов с глиобластомой и в 28 % препаратов ВВ этих пациентов, но не у здоровых доноров. После резекции опухоли эта мутантная РНК больше не выявлялась в везикулах крови, что указывает на ее связь с заболеванием. Диагностическую ценность имеют мРНК и при раке желудка (Vagan et al., 2010), и раке груди (Friel et al., 2010). Т. е. мРНК

также может использоваться для диагностики, однако корреляция между экспрессией мРНК в опухоли и содержанием в везикулах крови заметно ниже, чем для микроРНК (Gyorgy et al., 2011).

Терапевтическое применение ВВ часто способствует межклеточному распространению заболевания. Поэтому очевидные терапевтические ожидания связываются с подавлением наработки ВВ, особенно в лечении онкозаболеваний, сопровождающихся подавлением иммунитета, опосредованным ВВ. Торможение образования ВВ возможно целевым блокированием микротрубочек и их стабильности, ингибированием сортинга эндосом или протонной помпы кислых везикул (Marleau et al., 2012). Для образования ВВ важны керамид, тетраспанин, протеогликан синдекан (Yoon et al., 2014), блок их синтеза может оказать полезный эффект. Уже найдено, что низкомолекулярные ингибиторы сфингомиелиназы или амилорид тормозят сортинг эндосом и рециклирование эндосомных везикул (включая мультивезикулярные тельца), образование ВВ и тем самым препятствуют росту опухоли (Trajkovic et al., 2008; Nazarenko et al., 2010). Аналогично действует ингибирование малой ГТФазы Rab27A.

В изучении терапевтического применения ВВ ДК инкубировали с пептидами опухолей, вынуждая клетки секретировать экзосомы, способные праймировать специфические цитотоксические Т-клетки, подавляющие рост мышечных опухолей *in vivo* (Zitvogel et al., 1998; Andre et al., 2002). Таким образом, экзосомы оказались полезными как вакцина против опухолей. Применяли также вакцинацию экзосомами клеток плазматомы, что защищало 80 % мышей от образования опухоли благодаря наработке специфических цитотоксических Т-лимфоцитов (Altieri et al., 2004).

Для усиления иммунотерапевтического противоопухолевого ответа использовали экзосомы с белком MFG-E8 (lactadherin) и цитозольным белком теплового шока Hsp73. Первый направляет экзосомы в макрофаги и ДК, а второй запускает противоопухолевый ответ *in vivo* (Thery et al., 1999). В результате экзосомы продлевают иммунный ответ (после скорого удаления компетентных ДК) «вымыванием» в дальнейшем экзосом из лимфатических узлов (Luketic et al., 2007). Показана также возможность усиления терапевтического эффекта нагрузкой экзосом олигонуклеотидами и лигандами TLR-3 и TLR-9 (Chaput et al., 2004; Adams et al., 2005). Позитивный результат получен и праймированием ДК экзосомами из клеток опухолей, обработанных тепловым стрессом. Исследовали белки теплового шока, которые оказались эффективными, действовали как молекулярные шапероны и как адьюванты в индукции повышенного антиген-специфичного ответа Т-лимфоцитов (Chen et al., 2011).

Известны и другие возможности использования ВВ в лечении патологии. Так, экзосомы из ДК мышей с генетически активированной экспрессией ИЛ-4, или индолламин-2,3-диоксигеназы, обладали иммуносупрессивным и противовоспалительным действием при систематическом введении мышам с экспериментальным артритом (Kim et al., 2007; Bianco et al., 2009). А экзосомы ДК, трансдуцированных аденовирусом, содержащие ИЛ-10, подавляли гиперчувствительность замедленного типа не только в обработанном суставе, но и в контралатеральном и тормозили наступление индуцируемого коллагеном артрита (Kim et al., 2005b).

В другой работе в фазе I колоректальной карциномы получали экзосомы, которые при применении совместно

с гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующим фактором вызывали заметный рост противоопухолевого ответа цитотоксических Т-клеток (Dai et al., 2008). А экзосомы из тучных клеток, подвергнутых окислительному стрессу, придавали клеткам-реципиентам толерантность к окислительному стрессу (Eldh et al., 2010).

Активно исследуются возможности терапии с помощью горизонтального репрограммирования клеток. Так, из стволовых ЭК были выделены МВ с проангиогенными регуляторами miR-126 и miR-296 (Wurdinger et al., 2008). Их перенос в ЭК запускал активацию сигнального пути PI3K/Akt и фосфорилирование эндотелиальной NO-синтазы, что вкуче вело к ангиогенному и антиапоптозному репрограммированию клеток. Это сначала было показано *in vitro*, а затем и *in vivo* (Cantaluppi et al., 2012a). Интересно, что эти же miR-126 и miR-296 вызывали терапевтический эффект и в других типах клеток, например в клетках почки при гипоксии (Cantaluppi et al., 2012b). В дальнейшем использовали МВ мезенхимных стволовых клеток или печеночных стволовых клеток для терапии острого (Bruno et al., 2012) и хронического (Gatti et al., 2011) повреждения почек и патологии периферических артерий (Ranghino et al., 2012), а также для ускорения регенерации печени (Herrera et al., 2010). Подобно действовали экзосомы из того же источника и в отношении ишемии миокарда и инфаркта миокарда.

В последние годы экзосомы пытаются использовать как природные транспортные средства для генной терапии. Так, в них успешно поместили специфическую микроРНК и доставили в клетки мозга, получив геноспецифическую блокаду (Alvarez-Erviti, 2011). Для проникновения в мозг авторы использовали экспрессию пептида гликопротеина вируса бешенства на поверхности экзосом и успешно вызвали нокдаун заданного гена со слабым действием на другие органы мышей, при этом они почти не действовали на иммунную систему здоровых мышей, т. е. были относительно безопасны. Подобно использовали экзосомы периферической крови для доставки микроРНК против гена MAPK-1 (Wahlgren, 2012). Они эффективно вызывали нокдаун в моноцитах и лимфоцитах крови и открыли возможности использования везикул с разными нагрузками (олигонуклеотиды, белки).

Перспективы использования ВВ

Стремительное изучение ВВ обусловлено не только накапливающимся пониманием того, что формирование ВВ связано с определенной избирательностью упаковки компонент и является эволюционно закрепленным клеточным процессом, связанным с активацией клеток различными факторами. По-видимому, важнейшим стимулом является возможность малоинвазивного способа получения информации о протекающих в организме заболеваниях. Благодаря постоянному развитию молекулярно-биологических и генетических методов исследования расширяются возможности тонкого анализа компонент ВВ, важнейшими из которых являются белковые и нуклеиновые маркеры. Спектры отдельных видов индуцируемых ВВ при различных заболеваниях достаточно изучены и помогают диагностике болезней, скорее, как вспомогательное средство из-за низкой специфичности ответа на различные патогены. Более информативным является избирательный или протеомный анализ поверхностных антигенов ВВ и их содержимого при различных патоло-

гиях, но и в этом подходе выявляется сильное перекрытие спектров антигенов. Высокую информативную ценность в настоящее время связывают с микроРНК, профили которых привлекают самый острый интерес исследователей. Показано, что переносимая в ВВ РНК сохраняет свою функциональную активность. В отдельных субпопуляциях ВВ найдены десятки разновидностей микроРНК (Rappa et al., 2013; Zhang et al., 2015). С помощью анализа микроРНК достигнута дифференциальная диагностика гепатоцеллюлярной карциномы, вирусного гепатита В (Sun et al., 2013) и холангиокарциномы (Li et al., 2014) при четких отличиях от здоровых доноров. Важно, что накопление данных идет с использованием совершенных технологий анализа отдельных переносимых микроРНК (next generation sequencing, deep sequencing, focused microarrays), что обещает прогресс в данном направлении. Многого ожидается от комплексного слежения за генерацией маркеров различной природы, в первую очередь белка и РНК, и установления четких параллелей с особенностями заболеваний. Для дальнейшего успеха требуются составление детального регистра маркеров опухолей, переносимых ВВ, и установление надежных корреляций с заболеваниями, а также стандартизация процедур выделения и анализа ВВ.

Находит применение «вакцинация» клеток иммунной системы ВВ, несущими антигены из очага патологии (Altieri et al., 2004). Возможно использование ВВ, нагруженных отдельными микроРНК, для геноспецифической блокады (нокдаун) нежелательных активностей, в том числе с проникновением ВВ через гематоэнцефалический барьер в клетки мозга (Alvarez-Erviti, 2011).

По-видимому, могут быть полезны также такие подходы, как подавление секреции ВВ из очага заболевания, осуществляющей распространение сигнальных медиаторов болезни, особенно при онкозаболеваниях (Lee et al., 2012). Важно подавить, например, онкоиндуцируемый перенос губительной каспазы-1 или Fas-лиганда в клетки иммунной системы. Возможно подавление секреции микрочастиц торможением процессов сортировки и рециклирования эндосом (например, амилоридом), работы микротрубочек, процессов слияния мембран, зависящих от малых ГТФаз. Другим подходом может стать «обучение» ДК стимуляции фагоцитоза микрочастиц макрофагами (как «могильщиками» переносимой негативной информации ВВ) благодаря их развитому аппарату распознавания клеточного «мусора» и мощному катаболическому арсеналу их лизосом.

Список литературы

- Кореньков Д. А., Овчинникова О. М., Сельков С. А., Соколов Д. И. 2014. Роль микрочастиц в межклеточной коммуникации. Цитология. 56(7) : 480—488. (Korenkov D. A., Ovchinnikova O. M., Selkov S. A., Sokolov D. I. 2014. Role of microparticles in intercellular communication. Tsitologiya. 56 (7) : 480—488.)
- Adams M., Navabi H., Croston D., Coleman S., Tabi Z., Clayton A., Jasani B., Mason M. D. 2005. The rationale for combined chemo/immunotherapy using a Toll-like receptor 3 (TLR3) agonist and tumor-derived exosomes in advanced ovarian cancer. Vaccine. 23 : 2374—2378.
- Aliotta J. M., Pereira M., Johnson K. W., de Paz N., Dooner M. S., Puente N., Ayala C., Brilliant K., Berz D., Lee D., Ramratnam B., McMillan P. N., Hixson D. C., Josic D., Quesenberry P. J. 2010. Microvesicle entry into marrow cells mediates tissue specific changes in mRNA by direct delivery of mRNA and induction of transcription. Exp. Hematol. 38 : 233—245.

- Al-Nedawi K., Meehan B., Micallef J., Lhotak V., May L., Guha A., Rak J. 2008. Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. *Nat. Cell Biol.* 10 (5) : 619—624.
- Altieri S. L., Khan A. N., Tomasi T. B. 2004. Exosomes from plasmacytoma cells as a tumor vaccine. *J. Immunother.* 27 : 282—288.
- Alvarez-Erviti L. 2011. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat. Biotechnol.* 29 : 341—345.
- Andre F., Scharzt N. E., Movassagh M., Flament C., Pautier P., Morice P., Pomel C., Lhomme C., Escudier B., Le Chevalier T., Tursz T., Amigorena S., Raposo G., Angevin E., Zitvogel L. 2002. Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *Lancet.* 360 : 295—305.
- Andreola G., Rivoltini L., Castelli C., Huber V., Perego P., Deho P., Squarcina P., Accornero P., Lozupone F., Lugini L., Stringaro A., Molinari A., Arancia G., Gentile M., Parmiani G., Fais S. 2002. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles. *J. Exp. Med.* 195 : 1303—1316.
- Ashiru O., Boutet P., Fernandez-Messina L. 2010. Natural killer cell cytotoxicity is suppressed by exposure to the human NKG2D ligand MICA*008 that is shed by tumor cells in exosomes. *Cancer Res.* 70 : 481—489.
- Baran J., Baj-Krzyworzeka M., Weglarczyk K., Szatanek R., Zembala M., Barbasz J., Czupryna A., Szczepanik A., Zembala M. 2010. Circulating tumor-derived microvesicles in plasma of gastric cancer patients. *Cancer Immunol. Immunother.* 59 : 841—850.
- Berckmans R. J., Nieuwland R., Tak P. P., Boing A. N., Romijn F. P., Kraan M. C., Breedveld F. C., Hack C. E., Sturk A. 2002. Cell-derived microparticles in synovial fluid from inflamed arthritic joints support coagulation exclusively via a factor VII dependent mechanism. *Arthritis Rheum.* 46 : 2857—2866.
- Bianco N. R., Kim S. H., Ruffner M. A., Robbins P. D. 2009. Therapeutic effect of exosomes from indoleamine 2,3-dioxygenase-positive dendritic cells in collagen induced arthritis and delayed-type hypersensitivity disease models. *Arthritis Rheum.* 60 : 380—389.
- Brodsky S. V., Facciuto M. E., Heydt D., Chen J., Islam H. K., Kajstura M., Ramaswamy G., Aguero-Rosenfeld M. 2008. Dynamics of circulating microparticles in liver transplant patients. *J. Gastrointest. Liver Dis.* 17 : 261—268.
- Bruno S., Grange C., Collino F., Deregibus M. C., Cantaluppi V., Biancone L., Tetta C., Camussi G. 2012. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury. *PLoS ONE.* 7 : e33115. doi: 10.1371/journal.pone.0033115.
- Camussi G., Deregibus M. C., Bruno S., Grange C., Fonsato V., Tetta C. 2011. Exosome/microvesicle-mediated epigenetic reprogramming of cells. *Amer. J. Cancer Res.* 1 : 98—110.
- Cantaluppi V., Biancone L., Figliolini F., Beltramo S., Medica D., Deregibus M. C., Galimi F., Romagnoli R., Salizzoni M., Tetta C. 2012a. Microvesicles derived from endothelial progenitor cells enhance neoangiogenesis of human pancreatic islets. *Cell Transplant.* 21 : 1305—1320.
- Cantaluppi V., Gatti S., Medica D., Figliolini F., Bruno S., Deregibus M. C., Sordi A., Biancone L., Tetta C., Camussi G. 2012b. Microvesicles derived from endothelial progenitor cells protect the kidney from ischemia-reperfusion injury by microRNA-dependent reprogramming of resident renal cells. *Kidney Int.* 82 : 412—427.
- Chaput N., Scharzt N. E., Andre F., Taieb J., Novault S., Bonnaventure P., Aubert N., Bernard J., Lemonnier F., Merad M., Adema G., Adams M., Ferrantini M., Carpentier A. F., Escudier B., Tursz T., Angevin E., Zitvogel L. 2004. Exosomes as potent cell-free peptide-based vaccine. II. Exosomes in CpG adjuvants efficiently prime naive Tc1 lymphocytes leading to tumor rejection. *J. Immunol.* 172 : 2137—2146.
- Chen T., Guo J., Yang M., Zhu X., Cao X. 2011. Chemokine-containing exosomes are released from heat-stressed tumor cells via lipid raft-dependent pathway and act as efficient tumor vaccine. *J. Immunol.* 186 : 2219—2228.
- Chironi G. N., Boulanger C. M., Simon A., Dignat-George F., Freyssinet J. M., Tedgui A. 2009. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res.* 335 : 143—151.
- Collino F., Deregibus M. C., Bruno S., Sterpone L., Aghe-mo G., Viltono L., Tetta C., Camussi G. 2010. Microvesicles derived from adult human bone marrow and tissue specific mesenchymal stem cells shuttle selected pattern of miRNAs. *PLoS ONE.* 5 : e11803. doi: 10.1371/journal.pone.0011803.
- Dai S., Wei D., Wu Z., Zhou X., Wei X., Huang H., Li G. 2008. Phase I clinical trial of autologous ascites-derived exosomes combined with GM-CSF for colorectal cancer. *Mol. Ther.* 16 : 782—790.
- Deregibus M. C., Cantaluppi V., Calogero R., Lo Iacono M., Tetta C., Biancone L., Bruno S., Bussolati B., Camussi G. 2007. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood.* 110 : 2440—2448.
- Dignat-George F., Boulanger C. M. 2011. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31 : 27—33.
- Distler J. H., Distler O. 2010. Inflammation: microparticles and their roles in inflammatory arthritides. *Nat. Rev. Rheumatol.* 6 : 385—386.
- Dragovic R. A., Gardiner C., Brooks A. S., Tannetta D. S., Ferguson D. J., Hole P., Carr B., Redman C. W., Harris A. L., Dobson P. J., Harrison P., Sargent I. L. 2011. Sizing and phenotyping of cellular vesicles using nanoparticle tracking analysis. *Nanomedicine.* 7 : 780—788.
- D'Souza-Schorey C., Clancy J. W. 2012. Tumor-derived microvesicles: shedding light on novel microenvironment modulators and prospective cancer biomarkers. *Genes Develop.* 26 : 1287—1299.
- Eken C., Martin P. J., Sadallah S., Treves S., Schaller M., Schifferli J. A. 2010. Ectosomes released by polymorphonuclear neutrophils induce a MerTK-dependent anti-inflammatory pathway in macrophages. *J. Biol. Chem.* 285 : 39 914—39 921.
- Eldh M., Ekstrom K., Valadi H., Sjostrand M., Olsson B., Jernas M., Lotvall J. 2010. Exosomes communicate protective messages during oxidative stress; possible role of exosomal shuttle RNA. *PLoS ONE.* 5 : e15353. doi: 10.1371/journal.pone.0015353.
- Emmanouilidou E., Melachroinou K., Roumeliotis T., Garbis S. D., Ntzouni M., Margaritis L. H., Stefanis L., Vekrellis K. 2010. Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival. *J. Neurosci.* 30 : 6838—6851.
- Escola J. M., Kleijmeer M. J., Stoorvogel W., Griffith J. M., Yoshie O., Geuze H. J. 1998. Selective enrichment of tetraspan proteins on the internal vesicles of multivesicular endosomes and on exosomes secreted by human B-lymphocytes. *J. Biol. Chem.* 273 : 20 121—20 127.
- Fevrier B., Vilette D., Archer F., Loew D., Faigle W., Vidal M., Laude H., Raposo G. 2004. Cells release prions in association with exosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 101 : 9683—9688.
- Flanagan J., Middeldorp J., Sculley T. 2003. Localization of the Epstein—Barr virus protein LMP 1 to exosomes. *J. Gen. Virol.* 84 : 1871—1879.
- Flaumenhaft R., Dilks J. R., Richardson J., Alden E., Patel-Hett S. R., Battinelli E., Klement G. L., Sola-Visner M., Italiano J. E., Jr. 2009. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood.* 113 : 1112—1121.
- Friel A. M., Corcoran C., Crown J., O'Driscoll L. 2010. Relevance of circulating tumor cells, extracellular nucleic acids, and exosomes in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 123 : 613—625.
- Gatti S., Bruno S., Deregibus M. C., Sordi A., Cantaluppi V., Tetta C., Camussi G. 2011. Microvesicles derived from human adult mesenchymal stem cells protect against ischaemia-reperfusion-induced acute and chronic kidney injury. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26 : 1474—1483.
- Gyorgy B., Szabo T. G., Pasztoi M., Pal Z., Misjak P., Ara-di B., Laszlo V., Pallinger E., Pap E., Kittel A., Nagy G., Falus A.,

- Buzas E. I. 2011. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol. Life Sci.* 68 : 2667—2688.
- He W. A., Calore F., Londhe P., Canella A., Guttridge D. C., Croce C. M. 2014. Microvesicles containing miRNAs promote muscle cell death in cancer cachexia via TLR7. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 111 : 4525—4529.
- Herrera M. B., Fonsato V., Gatti S., Deregibus M. C., Sor-di A., Cantarella D., Calogero R., Bussolati B., Tetta C., Camussi G. 2010. Human liver stem cell-derived microvesicles accelerate hepatic regeneration in hepatectomized rats. *J. Cell. Mol. Med.* 14 : 1605—1618.
- Hohlbaum A. M., Gregory M. S., Ju S. T., Marshak-Rothstein A. 2001. Fas ligand engagement of resident peritoneal macrophages in vivo induces apoptosis and the production of neutrophil chemotactic factors. *J. Immunol.* 167 : 6217—6224.
- Hosseini-Beheshti E., Pham S., Adomat H., Li N., Tomlinson G. S. 2012. Exosomes as biomarker enriched microvesicles: characterization of exosomal proteins derived from a panel of prostate cell lines with distinct phenotypes. *Mol. Cell. Proteomics.* 11 : 863—885.
- Huang X., Yuan T., Tschannen M., Sun Z., Jacob H., Du M., Liang M., Dittmar R. L., Liu Y., Liang M., Kohli M., Thibodeau S. N., Boardman L., Wang L. 2013. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. *BMC Genomics.* 14 : 319. doi: 10.1186/1471—2164—14—319.
- Inal J. M., Kosgodage U., Azam S., Stratton D., Antwi-Baffour S., Lange S. 2013. Blood/plasma secretome and microvesicles. *Biochim. biophys. acta.* 1834 : 2317—2325.
- Julich H., Willms A., Lukacs-Kornek V., Kornek M. 2014. Extracellular vesicle profiling and their use as potential disease specific biomarker. *Front. Immunol.* 5 : 413. doi: 10.3389/fimmu.2014.00413.
- Jungel A., Distler O., Schulze-Horsel U., Huber L. C., Ha H. R., Simmen B., Kalden J. R., Pisetsky D. S., Gay S., Distler J. H. 2007. Microparticles stimulate the synthesis of prostaglandin E(2) via induction of cyclooxygenase 2 and microsomal prostaglandin E synthase 1. *Arthritis Rheum.* 56 : 3564—3574.
- Kim G., Yong Y., Kang H. J., Park K., Kim S. I., Lee M., Huh N. 2014. Zwitterionic polymer-coated immunobeads for blood-based cancer diagnostics. *Biomaterials.* 35 : 294—303.
- Kim J. W., Wieckowski E., Taylor D. D., Reichert T. E., Watkins S., Whiteside T. L. 2005a. Fas ligand positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes. *Clin. Cancer Res.* 11 : 1010—1020.
- Kim S. H., Bianco N. R., Shufesky W. J., Morelli A. E., Robbins P. D. 2007. Effective treatment of inflammatory disease models with exosomes derived from dendritic cells genetically modified to express IL-4. *J. Immunol.* 179 : 2242—2249.
- Kim S. H., Lechman E. R., Bianco N., Menon R., Keravala A., Nash J., Mi Z., Watkins S. C., Gambotto A., Robbins P. D. 2005b. Exosomes derived from IL-10-treated dendritic cells can suppress inflammation and collagen-induced arthritis. *J. Immunol.* 174 : 6440—6448.
- Koh W., Sheng C. T., Tan B., Lee Q. Y., Kuznetsov V., Kiang L. S., Tanavde V. 2010. Analysis of deep sequencing microRNA expression profile from human embryonic stem cells derived mesenchymal stem cells reveals possible role of let-7 microRNA family in downstream targeting of hepatic nuclear factor4alpha. *BMC Genomics.* 11 (Suppl. 1) : S1—S6.
- Kornek M., Lynch M., Mehta S. H., Lai M., Exley M., Afdhal N. H., Schuppan D. 2012. Circulating microparticles as disease-specific biomarkers of severity of inflammation in patients with hepatitis C or nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 143 : 448—458.
- Kucharzewska P., Christianson H. C., Welch J. E., Svensson K. J., Fredlund E., Ringner M., Mörgelin M., Bourseau-Guilmain E., Bengzon J., Belting M. 2013. Exosomes reflect the hypoxic status of glioma cells and mediate hypoxia-dependent activation of vascular cells during tumor development. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 110 : 7312—7317.
- Lee Y., Andaloussi S. E., Wood V. J. A. 2012. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy. *Human Mol. Genet.* 21 (Review Issue 1): R125—R134.
- Li L., Masica D., Ishida M., Tomuleasa C., Umegaki S., Kalloo A. N., Georgiades C., Singh V. K., Khashab M., Amateau S., Li Z., Okolo P., Lennon A. M., Saxena P., Geschwind J. F., Schlachter T., Hong K., Pawlik T. M., Canto M., Law J., Sharaiha R., Weiss C. R., Thuluvath P., Goggins M., Shin E. J., Peng H., Kumbhari V., Hutfless S., Zhou L., Mezey E., Meltzer S. J., Karchin R., Selaru F. M. 2014. Human bile contains microRNA-laden extracellular vesicles that can be used for cholangiocarcinoma diagnosis. *Hepatology.* 60 : 896—907.
- Li X., Cong H. 2009. Platelet-derived microparticles and the potential of glycoprotein IIb/IIIa antagonists in treating acute coronary syndrome. *Tex. Heart Inst. J.* 36 : 134—139.
- Liang B., Peng P., Chen S., Li L., Zhang M., Cao D., Yang J., Li H., Gui T., Li X., Shen K. 2013. Characterization and proteomic analysis of ovarian cancer-derived exosomes. *J. Proteomics.* 80C : 171—182.
- Liu C., Yu S., Zinn K., Wang J., Zhang L., Jia Y., Kappes J. C., Barnes S., Kimberly R. P., Grizzle W. E., Zhang H. G. 2006. Murine mammary carcinoma exosomes promote tumor growth by suppression of NK cell function. *J. Immunol.* 176 : 1375—1385.
- Logozzi M., De Milito A., Lugini L., Borghi M., Calabro L., Spada M., Perdicchio M., Marino M. L., Federici C., Jessi E., Brambilla D., Venturi G., Lozupone F., Santinami M., Huber V., Maio M., Rivoltini L., Fais S. 2009. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients. *PLoS ONE.* 4 : e5219. doi: 10.1371/journal.pone.0005219.
- Lötvall J., Hill A. F., Hochberg F., Buzás E. I., Di Vizio D., Gardiner C., Gho Y. S., Kurochkin I. V., Mathivanan S., Quesenberry P., Sahoo S., Tahara H., Wauben M. H., Witwer K. W., Thery C. 2014. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International society for extracellular vesicles. *J. Extracell. Vesicles.* 3 : 26913. doi: 10.3402/jev.v3.26913.
- Luketic L., Delanghe J., Sobol P. T., Yang P., Frotten E., Mosman K. L., Gaudie J., Bramson J., Wan Y. 2007. Antigen presentation by exosomes released from peptide-pulsed dendritic cells is not suppressed by the presence of active CTL. *J. Immunol.* 179 : 5024—5032.
- Mack M., Kleinschmidt A., Bruhl H., Klier C., Nelson P. J., Cihak J., Plachy J., Stangassinger M., Erfle V., Schlöndorff D. 2000. Transfer of the chemokine receptor CCR5 between cells by membrane-derived microparticles: a mechanism for cellular human immunodeficiency virus 1 infection. *Nat. Med.* 6 : 769—775.
- MacKenzie A., Wilson H. L., Kiss-Toth E., Dower S. K., North R. A., Surprenant A. 2001. Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding. *Immunity.* 15 : 825—835.
- Marleau A. M., Chen C. S., Joyce J. A., Tullis R. H. 2012. Exosome removal as a therapeutic adjuvant in cancer. *J. Translational Med.* 10 : 134. doi: 10.1186/1479—5876—10—134.
- Martinez-Lorenzo M. J., Anel A., Alava M. A., Pineiro A., Naval J., Lasierra P., Larrad L. 2004. The human melanoma cell line MelJuSo secretes bioactive FasL and APO2L/TRAIL on the surface of microvesicles. Possible contribution to tumor counterattack. *Exp. Cell Res.* 295 : 315—329.
- Mathivanan S., Ji H., Simpson R. J. 2010. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J. Proteomics.* 73 : 1907—1920.
- Mesri M., Altieri D. C. 1999. Leukocyte microparticles stimulate endothelial cell cytokine release and tissue factor induction in a JNK1 signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 274 : 23111—23118.
- Monleon I., Martinez-Lorenzo M. J., Monteagudo L., Lasierra P., Taules M., Iturralde M., Pineiro A., Larrad L., Alava M., Naval J., Anel A. 2001. Differential secretion of Fas ligand- or APO2 ligand/TNF-related apoptosis-inducing ligand-carrying microvesicles during activation-induced death of human T cells. *J. Immunol.* 167 : 6736—6744.
- Montecalvo A., Larregina A. T., Shufesky W. J., Stolz D. B., Sullivan M. L., Karlsson J. M., Baty C. J., Gibson G. A., Erdos G.,

- Wang Z., Milosevic J., Tkacheva O. A., Divito S. J., Jordan R., Lyons-Weiler J., Watkins S. C., Morelli A. E. 2012. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes. *Blood*. 119 : 756—766.
- Mulcahy L. A., Pink R. C., Carter D. R. F. 2014. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *J. Extracell. Vesicles*. 3 : 24641. doi: 10.3402/jev.v3.24641.
- Nazarenko I., Rana S., Baumann A., McAlear J., Hellwig A., Trendelenburg M., Lochnit G., Preissner K. T., Zoller M. 2010. Cell surface tetraspanin Tspan8 contributes to molecular pathways of exosome-induced endothelial cell activation. *Cancer Res*. 70 : 1668—1678.
- Ogata-Kawata H., Izumiya M., Kurioka D., Honma Y., Yamada Y., Furuta K., Gunji T., Ohta H., Okamoto H., Sonoda H., Watanabe M., Nakagama H., Yokota J., Kohno T., Tsuchiya N. 2014. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PLoS ONE*. 9 : e92921. doi: 10.1371/journal.pone.0092921.
- Peinado H., Alekovic M., Lavotshkin S., Matei I., Costa-Silva B., Moreno-Bueno G., Hergueta-Redondo M., Williams C., Garcia-Santos G., Ghajar C., Nitadori-Hoshino A., Hoffman C., Badal K., Garcia B. A., Callahan M. K., Yuan J., Martins V. R., Skog J., Kaplan R. N., Brady M. S., Wolchok J. D., Chapman P. B., Kang Y., Bromberg J., Lyden D. 2012. Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *Nat. Med*. 18 : 883—891.
- Qu Y., Franchi L., Nunez G., Dubyak G. R. 2007. Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. *J. Immunol*. 179 : 1913—1925.
- Quesenberry P. J., Aliotta J. M. 2010. Cellular phenotype switching and microvesicles. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 62 : 1141—1148.
- Rabinowits G., Gercel-Taylor C., Day J. M., Taylor D. D., Kloecker G. H. 2009. Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clin. Lung Cancer*. 10 : 42—46.
- Rajendran L., Honsho M., Zahn T. R., Keller P., Geiger K. D., Verkade P., Simons K. 2006. Alzheimer's disease beta-amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 103 : 11172—11177.
- Rana S., Malinowska K., Zöller M. 2013. Exosomal tumor microRNA modulates premetastatic organ cells. *Neoplasia*. 15 : 281—295.
- Ranghino A., Cantaluppi V., Grange C., Vitillo L., Fop F., Biancone L., Deregibus M. C., Tetta C., Segoloni G. P., Camussi G. 2012. Endothelial progenitor cell-derived microvesicles improve neovascularization in a murine model of hindlimb ischemia. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol*. 25 : 75—85.
- Raposo G., Stoorvogel W. 2013. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J. Cell Biol*. 200 : 373—383.
- Rappa G., Mercapide J., Anzanello F., Pope R. M., Lorico A. 2013. Biochemical and biological characterization of exosomes containing prominin-1/CD133. *Mol. Cancer*. 12 : 62. doi: 10.1186/1476-4598-12-62.
- Ratajczak J., Wysoczynski M., Hayek F., Janowska-Wieczorek A., Ratajczak M. Z. 2006. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia*. 20 : 1487—1495.
- Ristorcelli E., Beraud E., Mathieu S., Lombardo D., Verine A. 2009. Essential role of Notch signaling in apoptosis of human pancreatic tumoral cells mediated by exosomal nanoparticles. *Int. J. Cancer*. 125 : 1016—1026.
- Sandvig K., Llorente A. 2012. Proteomic analysis of microvesicles released by the human prostate cancer cell line PC-3. *Mol. Cell. Proteomics*. 11 : M111. doi: 10.1074/mcp.M111.012914.
- Sarkar A., Mitra S., Mehta S., Raices R., Wewers M. D. 2009. Monocyte derived microvesicles deliver a cell death message via encapsulated caspase-1. *PLoS ONE*. 4 : e7140. doi: 10.1371/journal.pone.0007140.
- Shao H., Chung J., Balaj L., Charest A., Bigner D. D., Carter B. S., Hochberg F. H., Breakefield X. O., Weissleder R., Lee H. 2012. Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy. *Nat. Med*. 18 : 1835—1840.
- Simons M., Raposo G. 2009. Exosomes — vesicular carriers for intercellular communication. *Curr. Opin. Cell Biol*. 21 : 575—581.
- Skog J., Wurdinger T., van Rijn S., Meijer D. H., Gainche L., Sena-Esteves M., Curry W. T., jr., Carter B. S., Krichevsky A. M., Breakefield X. O. 2008. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat. Cell Biol*. 10 : 1470—1476.
- Smalley D. M., Sheman N. E., Nelson K., Theodorescu D. 2008. Isolation and identification of potential urinary microparticle biomarkers of bladder cancer. *J. Proteome Res*. 7 : 2088—2096.
- Sun L., Hu J., Xiong W., Chen X., Li H., Jie S. 2013. MicroRNA expression profiles of circulating microvesicles in hepatocellular carcinoma. *Acta Gastroenterol. Belg*. 76 : 386—392.
- Takehita N., Hoshino I., Mori M., Akutsu Y., Hanari N., Yoneyama Y., Ikeda N., Isozaki Y., Maruyama T., Akanuma N., Komatsu A., Jitsukawa M., Matsubara H. 2013. Serum microRNA expression profile: miR-1246 as a novel diagnostic and prognostic biomarker for oesophageal squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer*. 108 : 644—652.
- Taylor D. D., Gercel-Taylor C. 2008. MicroRNA signatures of tumorderived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol. Oncol*. 110 : 13—21.
- Taylor D. D., Gercel-Taylor C. 2011. Exosomes/microvesicles: mediators of cancer-associated immunosuppressive microenvironments. *Semin. Immunopathol*. 33 : 441—454.
- Taylor D. D., Gercel-Taylor C. 2013. The origin, function, and diagnostic potential of RNA within extracellular vesicles present in human biological fluids. *Front. Genetics*. 4 (A. 142) : 1—12.
- Thery C., Amigorena S., Raposo G., Clayton A. 2006. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. *Curr. Protoc. Cell Biol*. Chapter 3 : Unit 3.22. doi: 10.1002/0471143030.cb0322s30.
- Thery C., Ostrowski M., Segura E. 2009. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat. Rev. Immunol*. 9 : 581—593.
- Thery C., Regnault A., Garin J., Wolfers J., Zitvogel L., Ricciardi-Castagnoli P., Raposo G., Amigorena S. 1999. Molecular characterization of dendritic cell-derived exosomes. Selective accumulation of the heat shock protein hsc73. *J. Cell Biol*. 147 : 599—610.
- Trajkovic K., Hsu C., Chiantia S., Rajendran L., Wenzel D., Wieland F., Schwille P., Brugger B., Simons M. 2008. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*. 319 : 1244—1247.
- Valadi H., Ekstrom K., Bossios A., Sjostrand M., Lee J. J., Lotvall J. O. 2007. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol*. 9 : 654—659.
- Van der Mijn J. C., Sol N., Mellema W., Jimenez C. R., Piersma S. R., Dekker H., Schutte L. M., Smit E. F., Broxterman H. J., Skog J., Tannous B. A., Wurdinger T., Verheul H. M. 2014. Analysis of AKT and ERK1/2 protein kinases in extracellular vesicles isolated from blood of patients with cancer. *J. Extracell. Vesicles*. 3 : 25657. doi: 10.3402/jev.v3.25657.
- Van der Pol E., Boing A. N., Harrison P., Sturk A., Nieuwland R. 2012. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles. *Pharmacol. Rev*. 64 : 676—705.
- Van Doornaal F. F., Kleinjan A., Di Nisio M., Buller H. R., Nieuwland R. 2009. Cell-derived microvesicles and cancer. *Neth. J. Med*. 67 : 266—273.
- Wahlgren J. 2012. Plasma exosomes can deliver exogenous short interfering RNA to monocytes and lymphocytes. *Nucleic Acids Res*. 40 : e130.
- Whiteside T. L. 2013. Immune modulation of T-cell and NK (natural killer) cell activities by TEXs (tumour derived exosomes). *Biochem. Soc. Trans*. 41 : 245—251.
- Wurdinger T., Tannous B. A., Saydam O., Skog J., Grau S., Soutschek J., Weissleder R., Breakefield X. O., Krichevsky A. M. 2008. miR-296 regulates growth factor receptor overexpression in angiogenic endothelial cells. *Cancer Cell*. 14 : 382—393.
- Wysoczynski M., Ratajczak M. Z. 2009. Lung cancer secreted microvesicles: underappreciated modulators of microenvironment in expanding tumors. *Int. J. Cancer*. 125 : 1595—1603.

Yoon Y. J., Kim O. Y., Gho Y. S. 2014. Extracellular vesicles as emerging intercellular comunicasomes. *BMB Rep.* 47 : 531—539.

Yoshioka Y., Konishi Y., Kosaka N., Katsuda T., Kato T., Ochiya T. 2013. Comparative marker analysis of extracellular vesicles in different human cancer types. *J. Extracell. Vesicles.* 2. doi: 10.3402/jev.v2i0.20424.

Yuan A., Farber E. L., Rapoport A. L., Tejada D., Deniskin R., Akhmedov N. B., Farber D. B. 2009. Transfer of microRNAs by embryonic stem cell microvesicles. *PLoS ONE.* 4 : e4722. doi: 10.1371/journal.pone.0004722.

Zhang H. G., Liu C., Su K., Su K., Yu S., Zhang L., Zhang S., Wang J., Cao X., Grizzle W., Kimberly R. P. 2006. A membrane

form of TNF-alpha presented by exosomes delays T cell activation-induced cell death. *J. Immunol.* 176 : 7385—7393.

Zhang J., Li S., Li L., Li M., Guo C., Yao J., Mi S. 2015. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genom. Proteom. Bioinform.* 13 : 17—24.

Zitvogel L., Regnault A., Lozier A., Wolfers J., Flament C., Tenza D., Ricciardi-Castagnoli P., Raposo G., Amigorena S. 1998. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat. Med.* 4 : 594—600.

Поступила 20 IV 2015

EXTRACELLULAR VESICLES: INTERCELLULAR INFORMATION FLOW AND MEDICAL APPLICATIONS

A. B. Pupyshv

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, 630091;
e-mail: apupyshv@mail.ru

The major features of extracellular vesicles secreted by mammalian cells are considered. Cell activation caused by formation of pathology stimulates the secretion acutely. The vesicles (exosomes, microvesicles) are enriched with annexin V, tetraspanin, miRNA. Exosomes are enriched especially by integrins, heat shock proteins. Microvesicles contain elevated amounts of tissue factors, phosphatidylserine, mRNA. The vesicles carry information about the pathological process, and microvesicles contain more proteins characteristic of inflammation and death than exosomes. They are important mediators of inflammation and infection in the body, have different effects on the immune system and the processes of carcinogenesis and neurodegeneration. However, antigenic profiles of extracellular vesicles differ not profoundly in various pathologies and so far they help diagnostics limitedly. The vesicles carry signals of genetic reprogramming of the cells and epigenetic stimulation, connected with both protein factors and mRNA and miRNA. Profiles of miRNA vesicles produced by the various pathological sources are studied actively and are useful as indicators of source and stage of cancer. Some ways of therapeutic use of the vesicles are also considered.

Key words: extracellular vesicles, exosomes, microvesicles, intercellular information flow, intercellular vesicle regulation, biomarkers, antigen profile, miRNA profile, diagnostics.