

А.В. Малек^{1,2,3}, Л.М. Берштейн², М.В. Филатов³, А.М. Беляев²

СИСТЕМА ЭКЗОСОМАЛЬНЫХ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОММУНИКАЦИЙ И ЕЕ РОЛЬ В ПРОЦЕССЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ ДИССЕМИНАЦИИ

¹ООО «Онкосистема»,²ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург,³ПИЯФ НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина

Обмен веществ и информации между клетками является основой существования любого многоклеточного организма. Нарушения в работе системы межклеточных коммуникаций играют значимую, а иногда и решающую роль в патогенезе большинства заболеваний, включая онкологические. Согласно традиционным представлениям, функциональная интеграция отдельных клеток в ткани, органы и системы органов опосредуется слаженной работой регуляторных систем: нервной, иммунной, эндокринной. В течение последних нескольких лет внимание исследователей привлекает способность клеток «общаться» с помощью наноразмерных везикулярных образований, или так называемых экзосом. Накоплены данные о том, что клетки большинства тканей секретируют экзосомы в межклеточную среду, после чего с током крови или лимфы экзосомы переносятся в анатомически отдаленные участки, где они акцептируются другими клетками. Показано, что содержимое экзосом неслучайно и что везикулярный транспорт может иметь адресный характер и играть значимую физиологическую, и, как выясняется, «патофизиологическую» роль. Целью данного обзора являются анализ и интеграция современных научных данных о роли экзосом в процессе опухолевой прогрессии и представление возможных путей и способов применения этих данных в практической онкологии.

Ключевые слова: межклеточные контакты, экзосомы, рак, метастазирование

Введение: история изучения, определение понятия, методы исследования

Первые исследования роли секретируемых клетками мембранных везикул в физиологии ретикуло-эндотелиальной и иммунной систем появились в печати около 20–25 лет тому назад [21, 46]. Начиная с 2005–2006 годов, изучение микровезикулярного межклеточного транспорта становится все более и более популярным, что,

отчасти, связано с расширением технических возможностей наблюдения и анализа наноразмерных частиц. Начиная с 2007–2008 годов, отмечается экспоненциальный рост количества публикаций на эту тему. Только за 2013 г. в англоязычной базе биологических и медицинских публикаций PubMed появилось около 500 новых работ об экзосомах и экзосомальном транспорте. В отечественной литературе эта тема представлена как оригинальными [1], так и обзорными статьями [13]. Дополнительным доказательством научной актуальности исследований в данной области служит факт вручения Нобелевской премии по физиологии и медицине в 2013 году «за открытие системы везикулярного транспорта».

Экзосомы — это мембранные везикулы (20–100 нм), секретируемые клетками в межклеточное пространство. В состав экзосом входят мембранные липиды, трансмембранные и цитоплазматические протеины и нуклеиновые кислоты. Следует отметить, что исследование экзосом затрудняет тот факт, что ни их физические характеристики, ни химический состав не являются строго специфичными. Так, в межклеточном пространстве и в физиологических жидкостях могут быть обнаружены различные по происхождению и функциям субклеточные мембранные образования, а именно экзосомы, микровезикулы и апоптотические тельца. При относительном сходстве химического состава, принято считать, что размеры и механизм образования перечисленных образований несколько разнятся. Эта разница схематично представлена на рис. 1 и 2 и детально обсуждается в литературе [14]. При этом, размер экзосом не является абсолютным критерием их отличия, так как в диапазоне 30–100 нм могут быть обнаружены вирусы и белковые агрегаты. Поэтому, исследование экзосом предполагает сочетание методов физической сегрегации, аппаратной визуализации и химического (обычно, иммунохимического) анализа.

Классическим способом выделения экзосом из биологических жидкостей или культуральных сред является ультрацентрифугирование

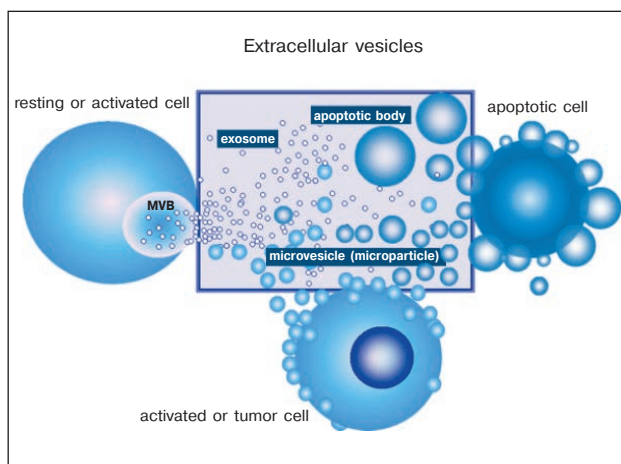


Рис. 1. Схематическое и упрощенное изображение различных экстрацеллюлярных везикул: экзосомы, микровезикулы, апоптотические тельца (по [14] с разрешения автора)

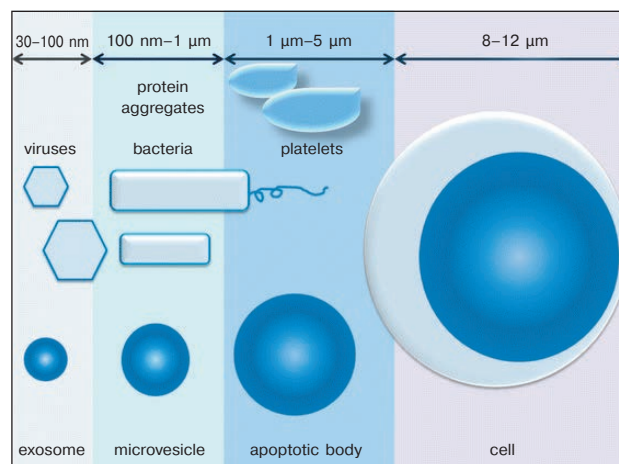


Рис. 2. Схематическое и упрощенное изображение различных субклеточных образований и их размеров (по [14] с разрешения автора)

в градиенте плотности сахарозы [59]. При этом экзосомы, в зависимости от их происхождения, характеризуются градиентом плотности от 1,13 до 1,19 г/мл [46, 64]. В качестве альтернативных подходов к выделению или концентрации экзосом описаны методы последовательного центрифугирования в режимах от 2000 до 100000 g [1] или ультрафильтрации [6]. Как было отмечено выше, любая биологическая жидкость содержит разнородную смесь частиц, сходных по размерам и массе с экзосомами, поэтому их выделение до настоящего времени является нетривиальной задачей. Влияние условий выделения экзосом на результаты последующих исследований активно обсуждается в литературе, делаются попытки стандартизации протоколов [73]. В дополнение к методам механического разделения частиц разной относительной плотности и размера предложены менее трудоемкие подходы, основанные на специфическом связывании молекул на поверхности экзосом [50]. Так, например, поверхностные гликопротеины, опосредующие взаимодействие экзосом с клетками, или их аналоги растительного происхождения могут быть использованы для агглютинации экзосом, что позволяет осадить их центрифугированием при щадящих режимах [12]. Методы иммунопреципитации или хроматографии основаны на связывании белковых молекул, представленных на поверхности экзосом, например тетраспонинов CD63, CD9, CD81, специфическими антителами. Добавим, что в отечественной и англоязычной литературе описаны различные методы выделения и очистки экзосом и представлены результаты прямого сравнения используемых методических подходов [1, 50].

Методы оценки физических характеристик экзосом можно разделить на оптические и неоптические [63, 65]. Так как размеры экзосом

находятся за пределами разрешения метода световой микроскопии, существующие способы их визуализации основаны на детекции отраженного (рассеянного) светового или флуоресцентного сигнала. Наиболее широко используются методы динамического светорассеяния [55] и флуоресцентной микроскопии [60]. Последний позволяет не только оценить физические характеристики экзосом, но и исследовать динамику внутри- и внеклеточного экзосомального транспорта. К методам неоптического анализа относится атомно-силовая [51] и трансмиссионная электронная микроскопия [35].

Для изучения химического состава экзосом применимы все традиционные подходы. Так, белковый состав исследуется методами протеомного анализа (масс-спектрометрия), а для оценки экспрессии отдельных протеинов применяется вестерн-блоттинг. Различные модификации метода масс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии используются для исследования липидов в составе экзосомальной мембраны [29]. Анализ известных нуклеиновых кислот в составе экзосом проводится с помощью традиционной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени [35, 36], в то время как исследование всего спектра экзосомальных нуклеиновых кислот (профайлинг) — методами сиквенсного анализа с использованием технологии флуоресцентного [16] или полупроводникового [18] сиквенирования. К настоящему моменту накоплен большой объем данных о структуре экзосом, секретируемых различными клетками при различных физиологических и патологических состояниях. С целью объединения и систематизации результатов многих исследований были созданы специализированные базы данных, т.н. «Vesiclepedia» (www.microvesicles.org) [22] или Exocarta (www.exocarta.org) [33, 52].

Система экзосомального транспорта в норме: биогенез, химический состав, физиологические функции экзосом

Постепенное накопление и анализ данных о структуре и химической организации экзосом формирует представление о физиологии системы экзосомального межклеточного транспорта. Этот процесс отражен в ряде обзорных публикаций [31, 34, 62, 66]. Согласно современным представлениям, существует два способа формирования экзосом внутри клетки [49]. Так, экзосомы могут формироваться постоянно, в процессе т.н. конститутивного биогенеза. В этом случае везикулы образуются в системе мембранного комплекса Гольджи и транспортируются в составе секреторных везикул к периферии клетки. Слияние везикулярной и поверхностной мембран приводит к высвобождению нескольких экзосом в межклеточное пространство [42]. Альтернативный вариант формирования экзосом является ответом клетки на различные факторы, такие как изменение концентрации внутриклеточного кальция, деполяризация клеточной мембраны, стимуляция специфических поверхностных рецепторов. В процессе такого стимулированного биогенеза формируется так называемое мультивезикулярное тельце (или поздняя эндосома), содержащая множество экзосом. Слияние мультивезикулярного тельца с клеточной мембраной в итоге также заканчивается высвобождением большого числа экзосом в межклеточное пространство [57].

Как отмечено ранее, экзосомы представляют собой везикулярные образования, ограниченные липидной мембраной. Химический состав экзосомальной мембраны близко соответствует, но не идентичен составу мембран клеток-продукторов — существуют некоторые структурные особенности, отличающие экзосомальную мембрану любого происхождения от клеточной [57]. Исследования экзосом, секретируемых различными клетками, показали их участие в метаболизме структурных (холестерин) и транспорте сигнальных (простагландин) липидов и липидоподобных соединений [4, 56]. Предполагается, что нарушения липидного состава экзосомальной мембраны являются этиологическим фактором в развитии ряда метаболических заболеваний, включая патологию биосинтеза липидов и метаболический синдром [47, 48]. В состав экзосомальных протеинов входят многие структурные клеточные белки (актин, актин-связывающий белок, тубулин, аннексины), а также цитоплазматические и мембранные сигнальные протеины (киназы, ГТФ-азы). Кроме того, в большинстве случаев в состав экзосом входят белки теплового шока (HSP70, HSP90) и молекулы главного

комплекса гистосовместимости I и II классов. Выделяется группа экзосом-специфичных протеинов (CD9, CD63, CD81, CD82, LAMP-2, Alix), обозначаемых как экзосомальные маркеры и, вероятно, выполняющих специфические функции в биогенезе экзосом [53]. Например, предполагается, что направленный характер экзосомального транспорта определяется структурой и количеством особых молекул — тетраспонинов (exosomal tetraspanins) в составе поверхностной мембраны экзосом [45]. Кроме того, специфический состав поверхностных гликопротеидов (гликокаликс) экзосом определяет эффективность их интернализации клетками [12].

Особое значение имеют исследования состава нуклеиновых кислот (мРНК и миРНК), транспортируемых экзосомами. Предполагается, что РНК является основной информационной составляющей экзосомальной системы межклеточных коммуникаций, так как переносимые от клетки к клетке молекулы полностью функциональны. Информационная РНК может индуцировать синтез специфического протеина, а микро-РНК — инициировать каскад реакций РНК-интерференции в клетке-реципиенте. По результатам исследований в данной области, выделен даже специфический класс РНК молекул — экзосомальные переносчики (exosome shuttle RNA, seRNA). [30]. Среди всех форм внеклеточных РНК именно экзосомальные микро-РНК, вероятно, выполняют функцию адресного и специфического сигналинга [5]. Определенные изменения состава экзосомальных микро-РНК сопровождают многие патологические состояния, и, соответственно, оценка этих изменений, как предполагается и отчасти показано, имеет диагностическое (или прогностическое) значение, а их коррекция может иметь терапевтическое приложение.

Несмотря на большой объем описательных данных и ряд экспериментальных исследований, представленных в научной литературе, физиологическая роль системы экзосомального межклеточного транспорта может быть оценена лишь фрагментарно. Во-первых, секреция экзосом, или биологически активных экзосомоподобных мембранных везикул, описана у многих организмов, включая простейших, грибы, паразитов и высшие организмы [7]. При этом наблюдается структурная гомология и функциональное сходство секретируемых мембранных везикул. Эти данные указывают на то, что система везикулярного транспорта является базисной и филогенетически устойчивой системой межклеточных коммуникаций. Во-вторых, экзосомы устойчивы к действию многих физических и биохимических факторов [55], стабильны в составе известных биологических сред (включая кровь, мочу,

желчь, синовиальную жидкость, плевральный / перитонеальный трансудат и экссудат, бронхо-альвеолярную жидкость, амниотическую жидкость и грудное молоко) и способны преодолевать естественные межтканевые барьеры [11]. Это свидетельствует об универсальности экзосомальной системы межклеточных коммуникаций. В-третьих, описано несколько вариантов взаимодействия экзосом с клетками-реципиентами, таких как непосредственная контактная активация поверхностных рецепторов клеток-реципиентов, интернализация содержимого экзосом и взаимодействие с цитоплазматическими и ядерными сигнальными или эффекторными молекулами. Как отмечено ранее, сигнальные молекулы могут иметь различную природу (липиды, протеины, нуклеиновые кислоты). Эти данные демонстрируют сложный и многокомпонентный характер системы экзосомальных межклеточных коммуникаций. С учетом приведенных фактов, очевидно, что система экзосомального транспорта веществ и информации может выполнять и, вероятно, выполняет существенную регуляторную и интегрирующую роль в физиологии многоклеточных организмов, но, как будет видно из дальнейшего, «не ограничивается» только этим и представляет существенную значимость (как в фундаментальном, так и прикладном отношении) и для онкологии.

На начальных этапах изучения проблемы считалось, что основная физиологическая роль мембранных везикул — это транспорт веществ из клеток во внеклеточное пространство как альтернатива экзоцитозу (или его вариант). В течение долгого времени внимание исследователей не фокусировалось на способности экзосом не просто выводить вещества из клеток, но и доставлять их в клетки отдаленных тканей и органов. Лишь за последние несколько лет показано участие экзосом — начиная с эмбрионального развития и заканчивая старением организма — в ряде физиологических процессов, как то в клеточной дифференциации, морфогенезе, гемостазе, иммунном контроле, реализации углеводного и жирового обмена и многих других. Все это, в конечном итоге, так или иначе, сопрягается с сугубо онкологическими проблемами.

Экзосомы, секретируемые опухолевыми клетками: наблюдения и экспериментальные данные

Неопластические клетки, как и другие клетки организма человека, способны секретьровать экзосомы в межклеточное пространство или непосредственно в лимфатическую или кровеносную капиллярную сеть. С током крови опухоле-

вые экзосомы переносятся к отдаленным тканям и органам, опосредуя эффекты растущей опухоли и определяя генерализованный характер онкологического заболевания. Исходно предполагалось, что опухолевые экзосомы (tumor-derived exosomes) участвуют в процессе «презентации» опухолевых антигенов дендритным клеткам и таким образом формируют противоопухолевый иммунный ответ, т.е. выполняют своего рода защитную («анти-опухолевую») функцию [69]. Последующие наблюдения выявили ряд «про-опухолевых» эффектов экзосом, секретируемых злокачественными клетками.

Так, воздействие опухолевых экзосом на гранулярные лимфоциты, или естественные киллеры (natural killer cells, NK cells), приводит к снижению в них секреции цитотоксических белков (перфоринов) и активности сигнальных молекул (JAK3). В результате резко снижается эффективность клеточного звена противоопухолевого иммунитета. Этим эффектом объяснялось ускорение прогрессии экспериментальной опухоли молочной железы на фоне введения животным препарата опухолевых экзосом, полученных *in vitro* [28]. Экзосомы могут индуцировать апоптоз активированных цитотоксических Т-лимфоцитов с помощью лиганда белка CD95 (Fas/APO-1), т.н. Fas лиганда (FasL). Подобный эффект был описан в экспериментах с различными типами опухолей [2, 24]. Помимо этого, экзосомы негативно воздействуют на процесс дифференцировки и снижают активность созревших антигенпредставляющих клеток (antigen-presenting cells, APCs) [17, 71], что подавляет эффективность как клеточного, так и гуморального иммунитета. Активация иммуносупрессорных клеток, или малодифференцированных миелоидных прекурсоров (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs), представляет собой еще один механизм подавления противоопухолевой иммунной реакции, регулируемый опухолевыми экзосомами [70]. В целом, анализ литературы показывает, что с помощью секреции экзосом опуховая ткань эффективно ингибирует работу иммунной системы, способствуя локальной прогрессии и отдаленной диссеминации.

Кроме воздействия на различные типы иммунных клеток, опухолевые экзосомы могут индуцировать специфические изменения в клетках соединительной ткани и эндотелиоцитах. Например, в условиях гипоксии клетки опухоли продуцируют экзосомы, которые индуцируют неоангиогенез [26, 72]. Этот эффект опосредуется рядом ростовых факторов (TFG- β , VEGF, IL-6, IL-8, angiogenin), которые стимулируют образование сосудов. Интересным, но пока мало изученным феноменом является локальный, паракринный характер этого эффекта — новые

кровеносные сосуды образуются лишь на периферии растущей опухоли и метастазов, что предполагает наличие механизмов адресной доставки (или воздействия) экзосомальных сигналов. В дополнение, описано взаимодействие клеток опухоли и стромы, опосредованное экзосомами, приводящее к изменению морфологии фибробластов и усилению локальной опухолевой инвазии. Этот паракринный эффект опосредуется сигнальными хемокинами (CX3CL1/CX3CR1) и ростовыми факторами (TGF- β , FGF) в составе экзосом. Так, взаимозависимая экзосомальная стимуляция клеток растущей опухоли и окружающей соединительной ткани была описана для рака предстательной [67, 68] и молочной железы [58]. Описаны примеры и отдаленных эффектов опухолевых экзосом. Например, в недавних исследованиях была показана роль экзосомальных коммуникаций клеток рака яичников и брюшины в процессе интраперитонеальной диссеминации [38, 39]. Экзосомы клеток меланомы индуцируют такие морфологические изменения в «сигнальных» лимфатических узлах (sentinel lymph nodes), которые «задерживают» в них опухолевые клетки и стимулируют формирование метастазов [15].

Интересные данные были получены в экспериментальной работе с использованием модели рака поджелудочной железы. Экзосомы, продуцируемые клетками инвазивного рака *in vitro* и вводимые экспериментальным животным подкожно, обнаруживались преимущественно в клетках стромы лимфатических узлов и легочных фибробластах. После такой «подготовки» малоинвазивная форма рака поджелудочной железы приобретала способность к диссеминации и формированию метастазов в лимфоузлах и легочной ткани [44]. Результаты этого исследования наглядно показывают значимость, если не решающее значение, опухолевых экзосом в процессе метастатической диссеминации. В этой же работе было показано, что морфологические изменения в «таргетных» тканях определяются преимущественно действием экзосомальных микроРНК и сопровождаются специфическим изменением экспрессионного профиля клеток стромы. В частности, изменялась экспрессия генов, кодирующих ферменты протеолиза, адгезионные молекулы, лиганды хемокинов в фибробластах, что в результате определило специфические изменения структуры межклеточного матрикса и возможность формирования в нем метастазов клетками опухоли с низким метастатическим потенциалом. В параллельном исследовании той же группы был проведен анализ экзосомальных эффекторов белковой природы и показана их роль в процессе метастатической диссеминации [37].

В целом, складывается впечатление, что секреция экзосом определяет потенциал паракринного и эндокринного (дистантного) воздействия злокачественной опухоли на здоровые клетки, и это воздействие ускоряет процесс метастатической диссеминации. Но реальная картина оказывается несколько сложнее. Например, описана разница состава и, следовательно, патофизиологических эффектов экзосом, секретируемых клетками первичной опухоли и метастазов [20]. Кроме того, экзосомы опосредуют взаимодействие клеток опухоли, т.е. представляют собой компоненты механизма аутокринной регуляции [12]. Следует учитывать, что эти и другие ауто-, пара- и эндокринные эффекты опухолевых экзосом наблюдаются на фоне физиологической (нормальной) активности системы экзосомального взаимодействия клеток различных органов и тканей. Т.е., злокачественная опухоль не просто «наполняет» межклеточное пространство экзосомами, стимулирующими метастатическую диссеминацию, но, скорее, «искажает» физиологический экзосомальный профиль и нарушает нормальную работу экзосомальной системы межклеточных коммуникаций. В итоге, конечный патофизиологический эффект опухолевых экзосом может рассматриваться как результат комплексных искажений системы межклеточных взаимодействий, что, не исключено, должно учитываться и в прикладном отношении.

Перспективы практического применения

Экзосомы, секретируемые клетками различных типов опухолей и попадающие в биологические жидкости, могут иметь специфические особенности химического состава. Например, были описаны особенности белкового состава экзосом, выделяемых клетками опухоли предстательной железы [43], яичников [54], легких [41] и других форм злокачественных новообразований. Эти данные лежат в основе идеи использования экзосом в целях диагностики или скрининга онкологических заболеваний. Исследования ведутся в направлении поиска опухоль-специфичных экзосомальных протеинов [53] и нуклеиновых кислот [23]. Ближе других к внедрению в клиническую практику находится метод скрининга рака предстательной железы на основе анализа протеинов экзосом, выделяемых из мочи [9, 10]. Результаты исследований изменения состава экзосомальных протеинов [19, 20] и микроРНК [25] в процессе прогрессии и в связи с особенностями течения онкологических заболеваний могут в перспективе привести к разработке прогностических методик.

Клинические наблюдения и экспериментальные данные, показывающие потенциальный про-

метастатический эффект опухолевых экзосом в целом и характеризующие отдельные экзосомальные компоненты, лежат в основе разработки новых терапевтических подходов. На, казалось бы, банальной, но требующей немалого технологического потенциала идее удаления из циркуляции всех экзосом, включая опухолевые, основан метод восстановления естественного противоопухолевого иммунитета [32]. Метод разработан компанией Aethlon Medical Inc. и, согласно результатам клинических исследований, продемонстрировал позитивный эффект в качестве дополнения к адъювантной терапии онкологических больных.

Допуская возможность более «аккуратного» (или таргетного) воздействия на систему экзосомальных коммуникаций, можно предположить целесообразность двух вариантов терапии. Во-первых, можно изменить направленность существующих информационных сигналов. Например, было показано, что жировые клетки (адипоциты) секретируют экзосомы, которые опосредуют влияние макрофагов на развитие инсулинорезистентности. Такой «поток» экзосом мог бы быть сфокусирован на клетках диссеминированной опухоли, приводя к нарушению их углеводного гомеостаза [8]. В современной литературе описаны возможные методические подходы к тому, как «направить» экзосомы к клеткам опухоли путем модификации их поверхностной мембраны опухолеспецифичными молекулами (EGF, RVG, iRGD peptides) [3, 40, 61]. С другой стороны, экзосомы, циркулирующие между опухолевыми клетками, могут быть «нагружены» терапевтическим содержанием, включая РНК-интерферирующие дуплексы или цитостатические препараты [11, 51, 61]. С учетом предположения, что экзосомы представляют собой эндогенную систему эффективной и специфической доставки микро-РНК в опухолевые клетки, возможность адаптации этой транспортной системы для переноса терапевтических РНК весьма перспективна [27]. Наряду с растущим числом соответствующих лабораторных исследований, недавно были начаты первые клинические испытания системы доставки препарата (пигмента) в опухолевые клетки на основе экзосом [NCT01294072], что, как и вся проблема в целом, несомненно, ожидает дальнейшего развития.

ЛИТЕРАТУРА

- Штам Т. А., Нарыжный С. Н., Ланда С. Б. и др. Получение и анализ экзосом, секретируемых злокачественно трансформированными клетками человека в системах *in vitro* // Цитология. — 2012. — Т. 54, № 5. — С. 430–438.
- Abusamra A. J., Zhong Z., Zheng X. et al. Tumor exosomes expressing Fas ligand mediate CD8⁺ T-cell apoptosis // *Blood Cells Mol Dis.* — 2005. — Vol. 35, № 2. — P. 169–173.
- Alvarez-Erviti L., Seow Y., Yin H. et al. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes // *Nat Biotechnol.* — 2011. — Vol. 29, № 4. — P. 341–345.
- Canfran-Duque A., Pastor O., Quintana-Portillo R. et al. Curcumin promotes exosomes/microvesicles secretion that attenuates lysosomal cholesterol traffic impairment // *Mol Nutr Food Res.* — 2014. — Vol. 58, № 4. — P. 687–697.
- Chen X., Liang H., Zhang J. et al. Horizontal transfer of microRNAs: molecular mechanisms and clinical applications // *Protein Cell.* — 2012. — Vol. 3, № 1. — P. 28–37.
- Cheruvanky A., Zhou H., Pisitkun T. et al. Rapid isolation of urinary exosomal biomarkers using a nanomembrane ultrafiltration concentrator // *Am J Physiol Renal Physiol.* — 2007. — Vol. 292, № 5. — P. F1657–1661.
- Deatherage B.L., Cookson B.T. Membrane vesicle release in bacteria, eukaryotes, and archaea: a conserved yet underappreciated aspect of microbial life // *Infect Immun.* — 2012. — Vol. 80, № 6. — P. 1948–1957.
- Deng Z.B., Poliakov A., Hardy R.W. et al. Adipose tissue exosome-like vesicles mediate activation of macrophage-induced insulin resistance // *Diabetes.* — 2009. — Vol. 58, № 11. — P. 2498–2505.
- Dijkstra S., Birker I.L., Smit F.P. et al. Prostate Cancer Biomarker Profiles in Urinary Sediments and Exosomes // *J Urol.* — 2014. — Vol. 19. — P.1132–1138.
- Dijkstra S., Mulders P. F., Schalken J. A. Clinical use of novel urine and blood based prostate cancer biomarkers: A review // *Clin Biochem.* — 2013 Oct 29. [Epub ahead of print]
- El-Andaloussi S., Lee Y., Lakhal-Littleton S et al. Exosome-mediated delivery of siRNA *in vitro* and *in vivo* // *Nat Protoc.* — 2012. — Vol. 7, № 12. — P. 2112–2126.
- Escrivente C., Keller S., Altevogt P., Costa J. Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells // *BMC Cancer.* — 2011. — Vol. 11. — P. 108.
- Gusachenko O. N., Zenkova M. A., Vlassov V. V. Nucleic acids in exosomes: disease markers and intercellular communication molecules // *Biochemistry (Mosc).* — 2013. — Vol. 78, № 1. — P. 1–7.
- Gyorgy B., Szabo T. G., Pasztoi M. et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles // *Cell Mol Life Sci.* — 2011. — Vol. 68, № 16. — P. 2667–2688.
- Hood J. L., San R. S., Wickline S. A. Exosomes released by melanoma cells prepare sentinel lymph nodes for tumor metastasis // *Cancer Res.* — 2011. — Vol. 71, № 11. — P. 3792–3801.
- Huang X., Yuan T., Tschannen M et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing // *BMC Genomics.* — 2013. — Vol. 14. — P. 319.
- Iero M., Valenti R., Huber V et al. Tumour-released exosomes and their implications in cancer immunity // *Cell Death Differ.* — 2008. — Vol. 15, № 1. — P. 80–88.
- Jenjaroenpun P., Kremenska Y., Nair V. M. et al. Characterization of RNA in exosomes secreted by human breast cancer cell lines using next-generation sequencing // *PeerJ.* — 2013. — Vol. 1. — P. e201.
- Jeppesen D. K., Nawrocki A., Jensen S. G et al. Quantitative proteomics of fractionated membrane and

- lumen exosome proteins from isogenic metastatic and non-metastatic bladder cancer cells reveal differential expression of EMT factors // *Proteomics*. — 2013 Dec 26. [Epub ahead of print]
20. Ji H., Greening D. W., Barnes T. W et al. Proteome profiling of exosomes derived from human primary and metastatic colorectal cancer cells reveal differential expression of key metastatic factors and signal transduction components // *Proteomics*. — 2013. — Vol. 13, № 10–11. — P. 1672–1686.
21. Johnstone R. M. The Jeanne Manery-Fisher Memorial Lecture 1991. Maturation of reticulocytes: formation of exosomes as a mechanism for shedding membrane proteins // *Biochem Cell Biol*. — 1992. — Vol. 70, № 3–4. — P. 179–190.
22. Kalra H., Simpson R. J., Ji H et al. Vesiclepedia: a compendium for extracellular vesicles with continuous community annotation // *PLoS Biol*. — 2012. — Vol. 10, № 12. — P. e1001450.
23. Keller S., Ridinger J., Rupp A. K et al. Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics // *J Transl Med*. — 2011. — Vol. 9. — P. 86.
24. Kim J. W., Wieckowski E., Taylor D. D et al. Fas ligand-positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes // *Clin Cancer Res*. — 2005. — Vol. 11, № 3. — P. 1010–1020.
25. Kobayashi M., Salomon C., Tapia J et al. Ovarian cancer cell invasiveness is associated with discordant exosomal sequestration of Let-7 miRNA and miR-200 // *J Transl Med*. — 2014. — Vol. 12, № 1. — P. 4.
26. Kucharczyk P., Christianson H. C., Welch J.E. et al. Exosomes reflect the hypoxic status of glioma cells and mediate hypoxia-dependent activation of vascular cells during tumor development // *Proc Natl Acad Sci U S A*. — 2013. — Vol. 110, № 18. — P. 7312–7.
27. Lee Y., El Andaloussi S., Wood M. J. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy // *Hum Mol Genet*. — 2012. — Vol. 21, № R1. — P. R125–134.
28. Liu C., Yu S., Zinn K et al. Murine mammary carcinoma exosomes promote tumor growth by suppression of NK cell function // *J Immunol*. — 2006. — Vol. 176, № 3. — P. 1375–85.
29. Llorente A., Skotland T., Sylvanne T et al. Molecular lipidomics of exosomes released by PC-3 prostate cancer cells // *Biochim Biophys Acta*. — 2013. — Vol. 1831, № 7. — P. 1302–1309.
30. Lotvall J., Valadi H. Cell to cell signalling via exosomes through esRNA // *Cell Adh Migr*. — 2007. — Vol. 1, № 3. — P. 156–158.
31. Ludwig A. K., Giebel B. Exosomes: small vesicles participating in intercellular communication // *Int J Biochem Cell Biol*. — 2012. — Vol. 44, № 1. — P. 11–15.
32. Marleau A. M., Chen C. S., Joyce J. A., Tullis R. H. Exosome removal as a therapeutic adjuvant in cancer // *J Transl Med*. — 2012. — Vol. 10. — P. 134.
33. Mathivanan S., Fahner C. J., Reid G. E., Simpson R. J. ExoCarta 2012: database of exosomal proteins, RNA and lipids // *Nucleic Acids Res*. — 2012. — Vol. 40. — P. D1241–1244.
34. Mathivanan S., Ji H., Simpson R. J. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication // *J Proteomics*. — 2010. — Vol. 73, № 10. — P. 1907–1920.
35. McDonald M. K., Capasso K. E., Ajit S. K. Purification and microRNA profiling of exosomes derived from blood and culture media // *J Vis Exp*. — 2013. № 76. — P. e50294.
36. Moldovan L., Batte K., Wang Y et al. Analyzing the circulating microRNAs in exosomes/extracellular vesicles from serum or plasma by qRT-PCR // *Methods Mol Biol*. — 2013. — Vol. 1024. — P. 129–145.
37. Mu W., Rana S., Zoller M. Host matrix modulation by tumor exosomes promotes motility and invasiveness // *Neoplasia*. — 2013. — Vol. 15, № 8. — P. 875–887.
38. Nieman K. M., Kenny H. A., Penicka C. V et al. Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth // *Nat Med*. — 2011. — Vol. 17, № 11. — P. 1498–1503.
39. Nieman K. M., Romero I. L., Van Houten B., Lengyel E. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis // *Biochim Biophys Acta*. — 2013. — Vol. 1831, № 10. — P. 1533–1541.
40. Ohno S., Takanashi M., Sudo K et al. Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver antitumor microRNA to breast cancer cells // *Mol Ther*. — 2013. — Vol. 21, № 1. — P. 185–191.
41. Park J. O., Choi D. Y., Choi D. S et al. Identification and characterization of proteins isolated from microvesicles derived from human lung cancer pleural effusions // *Proteomics*. — 2013. — Vol. 13, № 14. — P. 2125–2134.
42. Ponnambalam S., Baldwin S. A. Constitutive protein secretion from the trans-Golgi network to the plasma membrane // *Mol Membr Biol*. — 2003. — Vol. 20, № 2. — P. 129–139.
43. Principe S., Jones E. E., Kim Y et al. In-depth proteomic analyses of exosomes isolated from expressed prostatic secretions in urine // *Proteomics*. — 2013. — Vol. 13, № 10–11. — P. 1667–1671.
44. Rana S., Malinowska K., Zoller M. Exosomal tumor microRNA modulates premetastatic organ cells // *Neoplasia*. — 2013. — Vol. 15, № 3. — P. 281–295.
45. Rana S., Zoller M. Exosome target cell selection and the importance of exosomal tetraspanins: a hypothesis // *Biochem Soc Trans*. — 2011. — Vol. 39, № 2. — P. 559–62.
46. Raposo G., Nijman H. W., Stoorvogel W. et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles // *J Exp Med*. — 1996. — Vol. 183, № 3. — P. 1161–1172.
47. Record M., Carayon K., Poirot M., Silvente-Poirot S. Exosomes as new vesicular lipid transporters involved in cell-cell communication and various pathophysiological // *Biochim Biophys Acta*. — 2014. — Vol. 1841, № 1. — P. 108–120.
48. Record M., Poirot M., Silvente-Poirot S. Emerging concepts on the role of exosomes in lipid metabolic diseases // *Biochimie*. — 2014. — Vol. 96. — P. 67–74.
49. Record M., Subra C., Silvente-Poirot S., Poirot M. Exosomes as intercellular signalosomes and pharmacological effectors // *Biochem Pharmacol*. — 2011. — Vol. 81, № 10. — P. 1171–1182.
50. Schageman J., Zeringer E., Li M et al. The complete exosome workflow solution: from isolation to characterization of RNA cargo // *Biomed Res Int*. — 2013. — Vol. 2013. — P. 253957.
51. Shtam T. A., Kovalev R. A., Varfolomeeva E. Y et al. Exosomes are natural carriers of exogenous siRNA to human cells in vitro // *Cell Commun Signal*. — 2013. — Vol. 11. — P. 88.

52. Simpson R. J., Kalra H., Mathivanan S. ExoCarta as a resource for exosomal research // *J Extracell Vesicles*. — 2012. — Vol. 1. doi: 10.3402/jev.v1i0.18374. eCollection 2012.
53. Simpson R. J., Lim J. W., Moritz R. L., Mathivanan S. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential // *Expert Rev Proteomics*. — 2009. — Vol. 6, № 3. — P. 267–283.
54. Sinha A., Ignatchenko V., Ignatchenko A et al. In-depth proteomic analyses of ovarian cancer cell line exosomes reveals differential enrichment of functional categories compared to the NCI 60 proteome // *Biochem Biophys Res Commun*. — 2014. — Jan 14. [Epub ahead of print]
55. Sokolova V., Ludwig A. K., Hornung S et al. Characterisation of exosomes derived from human cells by nanoparticle tracking analysis and scanning electron microscopy // *Colloids Surf B Biointerfaces*. — 2011. — Vol. 87, № 1. — P. 146–150.
56. Subra C., Grand D., Laulagnier K et al. Exosomes account for vesicle-mediated transcellular transport of activatable phospholipases and prostaglandins // *J Lipid Res*. — 2010. — Vol. 51, № 8. — P. 2105–2120.
57. Subra C., Laulagnier K., Perret B., Record M. Exosome lipidomics unravels lipid sorting at the level of multivesicular bodies // *Biochimie*. — 2007. — Vol. 89, № 2. — P. 205–212.
58. Swami M. Cancer: exosomes from the stroma // *Nature Medicine*. — 2013. — Vol. 19. — P. 142.
59. Thery C., Amigorena S., Raposo G., Clayton A. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids // *Curr Protoc Cell Biol*. — 2006. — Vol. 3. — Unit 3.22.
60. Tian T., Zhu Y. L., Hu F. H et al. Dynamics of exosome internalization and trafficking // *J Cell Physiol*. — 2013. — Vol. 228, № 7. — P. 1487–1495.
61. Tian Y., Li S., Song J et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy // *Biomaterials*. — 2014. — Vol. 35, № 7. — P. 2383–2390.
62. Turturici G., Tinnirello R., Sconzo G., Geraci F. Extracellular membrane vesicles as a mechanism of cell-to-cell communication: advantages and disadvantages // *Am J Physiol Cell Physiol*. — 2014. — Vol. 306, № 7. — P. C621–633.
63. van der Pol E., Hoekstra A. G., Sturk A et al. Optical and non-optical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes // *J Thromb Haemost*. — 2010. — Vol. 8, № 12. — P. 2596–2607.
64. van Niel G., Raposo G., Candalh C. et al. Intestinal epithelial cells secrete exosome-like vesicles // *Gastroenterology*. — 2001. — Vol. 121, № 2. — P. 337–349.
65. Varga Z., Yuana Y., Grootemaat A. E. et al. Towards traceable size determination of extracellular vesicles // *J Extracell Vesicles*. — 2014. — Vol. 3. doi: 10.3402/jev.v3.23298. eCollection 2014.
66. Vlassov A. V., Magdaleno S., Setterquist R., Conrad R. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials // *Biochim Biophys Acta*. — 2012. — Vol. 1820, № 7. — P. 940–948.
67. Webber J., Steadman R., Mason M. D et al. Cancer exosomes trigger fibroblast to myofibroblast differentiation // *Cancer Res*. — 2010. — Vol. 70, № 23. — P. 9621–9630.
68. Webber J. P., Spary L. K., Sanders A. J et al. Differentiation of tumour-promoting stromal myofibroblasts by cancer exosomes // *Oncogene*. — 2014. — Jan 20. [Epub ahead of print]
69. Wolfers J., Lozier A., Raposo G. et al. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming // *Nat Med*. — 2001. — Vol. 7, № 3. — P. 297–303.
70. Xiang X., Poliakov A., Liu C. et al. Induction of myeloid-derived suppressor cells by tumor exosomes // *Int J Cancer*. — 2009. — Vol. 124, № 11. — P. 2621–2633.
71. Yu S., Liu C., Su K. et al. Tumor exosomes inhibit differentiation of bone marrow dendritic cells // *J Immunol*. — 2007. — Vol. 178, № 11. — P. 6867–6875.
72. Zhang L., Wu X., Luo C et al. The 786-0 renal cancer cell-derived exosomes promote angiogenesis by down-regulating the expression of hepatocyte cell adhesion molecule // *Mol Med Rep*. — 2013. — Vol. 8, № 1. — P. 272–276.
73. Zheng X. H., Cui C., Zhou X. X. et al. Centrifugation: an important pre-analytic procedure that influences plasma microRNA quantification during blood processing // *Chin J Cancer*. — 2013. — Vol. 32, № 12. — P. 667–672.

A.V.Malek^{1,2,3}, L.M.Berstein², M.V.Filatov³, A.M.Belyaev²

EXOSOMAL INTERCELLULAR COMMUNICATIONS SYSTEM AND ITS ROLE IN THE PROCESS OF METASTATIC DISSEMINATION

¹Ltd. «Oncosystem»,

²N.N.Petrov Research Institute of Oncology, St. Petersburg

³Kurchatov Institute, Gatchina

Metabolism and information between cells is the basis of the existence of any multicellular organism. Malfunction of the intercellular communication play an important and sometimes decisive role in the pathogenesis of the most diseases, including cancer. According to traditional views, functional integration of individual cells in tissues, organs and organ systems is mediated by the efficient work of regulatory systems: nervous, immune, endocrine. Over the past few years the attention of scientists is attracted the ability of cells to «communicate» with the help of nanoscale vesicular formations, or so-called exosomes. There are accumulated data that the cells of the most tissues secrete exosomes into the intercellular environment, after which, by means of stream of blood or lymph, exosomes transferred to anatomically distant sites where they are accepted by the other cells. It is showed that the content of exosomes are not random and that vesicular transport may be targeted and to play a significant physiological and even «pathophysiological» role. The aim of this review is the analysis and integration of modern scientific data on the role of exosomes in the process of tumor progression and presentation of possible ways and methods of using these data in the practice of oncology.

Key words: intercellular contacts, exosomes, cancer, metastasis

Поступила в редакцию 25.06.2014 г.