

DERLEME

CBU-SBED, 2016, 2(5):144-152

Eksozomların Kanserdeki Rolü

Ezgi Ersöz¹, Osman Burak Can², Selim Uzunoglu³

Yayınlanma: 31.03. 2016

¹Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji AD. Yüksek Lisans Öğrencisi. Manisa-Türkiye²Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi AD. Araştırma Görevlisi. Manisa-Türkiye³Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji AD. Öğretim Üyesi Manisa-Türkiye

*Sorumlu yazar: Selim Uzunoglu, e-mail: selim@cbu.edu.tr

Özet

Hücrelerin kanserleşmesine yol açan moleküler olaylar, mutasyonlar, DNA hasarı tamirindeki kusurlar ve hücre yaşlanması, epigenetik faktörlerle sınırlı değildir. Kanserin oluşumunda ekstrasellüler veziküllerin (EV) de rolü olduğu son yıllardaki araştırmalarla gösterilmiştir.

Ekstrasellüler veziküller, hücre içi ve hücreler arası sinyalizasyon, atık yönetimi ve koagülasyon gibi önemli biyolojik işlerde rol almaktadır. Hücre zarından dolaylı veya doğrudan işlemlerle oluşurlar. Ekstrasellüler veziküller, hücreden oluşumu ve boyutlarına göre dört sınıfa ayrılır. Bunlar, hücre membranından doğrudan hücre dışına salınan mikroveziküller, apoptozis sonucu oluşan apoptozomlar, retrovirüs benzeri veziküller ve hücre zarından dolaylı olarak meydana gelen eksozomlardır. Eksozomlar, hücrelerden (normal ve kanser) salgılanan ve son yıllarda fonksiyonları keşfedilen hücrelerarası kargo ve haberleşme sistemleridir. Salgılandıkları hücreye özgüdürler. Nano boyutlarda oluşlarından dolayı, eksozomlar, hedef hücre tarafından kolayca tanınarak hücre içine alınır. Eksozomlar, hücre-hücre etkileşimi, sinyal iletimi, haberleşme, hücrel moleküllerin taşınması gibi birçok biyolojik olayda etkilidirler. Köken aldıkları hücelere özgü taşıdıkları moleküler belirteçler sayesinde hastalık patolojisinde de önemli rol alırlar. Bundan dolayı eksozomlar, kanser oluşumu ve yayılımında aktif fonksiyon görürler. Kanser hücrelerinden salgılanan eksozomlar, hücre membranlarıyla füzyona girerek etkilerini gösterirler. Eksozomların tümör oluşumunu tetikleyecek mikro çevre oluşturma, anjiyogenez tetikleme, hedef hücrelerin adezyonunu, hareketliliğini ve invazyonunu değiştirerek metastaz özelliği kazandırma ve ilaç direnci geliştirme gibi katkıları olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Bu derlemede, eksozomların kanserin oluşumunda ve ilerleyişindeki rolleri ile teşhis ve tedavide kullanılabilme potansiyelinin güncel literatür ışığında değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, immün sistem, kanser, metastaz, onkozom, vezikül.

Abstract

The molecular events that caused to produce cancerous cells are not limited to mutations, defects in DNA damage repair systems and cell senescence and epigenetic factors. Recent studies indicate that extracellular vesicles have also vital role in the formation of cancer.

Extracellular vesicles are involved in important biological tasks such as intracellular and intercellular signaling, waste management and coagulation. They occur indirect or direct from cell membrane. Extracellular vesicles are divided into four classes according to their composition and size. These are microvesicles which are released directly outside from the cell membrane, apoptosomes caused by apoptosis, retrovirus-like particles and exosomes that occurred indirectly from the cell membrane. In recent years exosomes that are released from all normal and cancer cells have been discovered that they function as intercellular cargo and communication systems in the human body organization. They are specific to the secreted cell. Exosomes are easily taken into the cell because of their nano size and membran structure homology with target cell. Exosomes are involved in many biological processes just as cell-cell interaction, signal transduction, communication and transport of cellular molecules. They also have an important role in the pathology of the disease because of owning specific biomarkers from the originated and secreted cells. Therefore exosomes are actively function in cancer formation and cancer progression. Exosomes secreted from cancer cells take into action by fusing its membrane with the cell's membrane. It has been shown that exosomes contribute tumor formation and progression by inducing micro environment changes to trigger carcinogenesis and angiogenesis, by gaining metastatic ability and developing drug resistance by modifying the properties of adhesion, motility and invasion of the target cell.

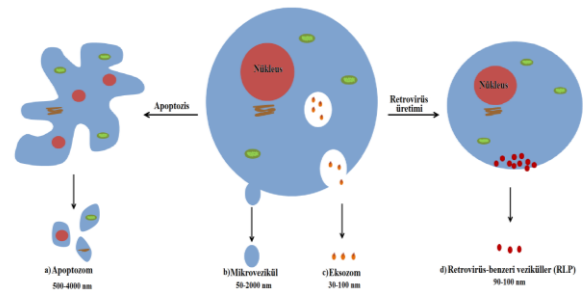
In this review, it was aimed to evaluate and summarize the roles of exosomes in the formation and progression of the tumor and their potential new tool in diagnosis and treatment in the light of present literature.

Keywords: Exosome, immune system, cancer, metastasis, oncosome, vesicle.

GİRİŞ

Ekstrasellüler veziküller (EV), ökaryot ve prokaryot hücrelerde fosfolipid çift-tabakalı, sferoid biçiminde ve plazma membranından doğrudan ya da dolaylı yollarla meydana gelir. Kargo içeriğine, boyutlarına, plazma membranından oluşum ve salgılanmalarına göre temelde dört grup altında toplanırlar. (Şekil 1.)

Mikroveziküller (mikropartiküller, eksozomlar); 50 ila 2000 nm boyutlarında, protein ve lipid içeriğe sahip EV'lerdir (1). Doğrudan plazma membranından tomurcuklanarak hücre dışına salgılanırlar.



Şekil 1. Ekstrasellüler veziküllerin biyolojik olarak bilinen dört farklı tipi: a) Apoptozomlar. b) Mikroveziküller. c) Eksozomlar. d) Retrovirüs benzeri veziküller. (Akers JC, Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies 2013 'den yeniden düzenlenmiştir).

Retrovirüs-benzeri veziküller (RLP); 90 ila 100 nm boyutlardadır. RLP nin orjini ile ilgili hala net bir bilgi bulunmamasına rağmen bazı araştırmalarda, insan endogenez retrovirüs sekanslarının (HERV) transkripsiyonundan meydana geldikleri yönünde bulgular elde edilmiştir.

Apoptozomlar (Apoptotik cisimcikler); normal hücrelerin ve kanser hücrelerinin ölümlerinde temel bir ölüm mekanizması olan apoptozis sonucu oluşan hücre içeriği membrana yakın bölgelerde yoğunlaşarak tomurcuklanır ve veziküller meydana getirerek apoptozomlar adını alırlar. Boyutları 500 ila 4000 nm arasında değişiklik gösterir ve makrofajlar tarafından fagositoz ile yok edilirler (2,3).

Eksozomlar; Hücre membranından dolayı olarak orjinlenen ve EV'lerin bilinen en küçük alt grubunu meydana getiren biyoaktif keseciklerdir. Boyutları 30-100 nm arasında değişiklik gösteren ekstrasellüler veziküllerin en küçük üyesidirler. Belirleme farklılıkları ve farklı sınıflandırma kriterleri ve multidisipliner araştırmalara konu olmasından dolayı eksozomların adlandırılmasında ortak net bir terminoloji henüz geliştirilememiştir. Eksozomlar farklı araştırma alanlarında çalışıldığı için doğal lipozom, geç endozom, mikropartikül, nanopartikül ve köken aldıkları hücre tipine göre onkozom (kanser hücresinden orjinlenen eksozomlar), prostazom (prostata kanser hücresinden orjinlenen eksozomlar) (4), deksozom (dentritik hücre kökenli eksozomlar) (5), teksozom (6), TEX (tümör kökenli eksozomlar) (7), epididimozom, argozom, prominizom, arkeozom (8) olarak da adlandırılırlar. Diğer EV'lerden ayıran en önemli özellikleri, kendilerine özgü biyogenez yolları, lipid kompozisyonları ve taşıdıkları kargo içerikleridir.

İlk araştırmalar, eksozomların sadece hücreden atık uzaklaştırmada görev aldıkları yönündeydi. Fakat son çalışmalarda eksozomların, kargo içeriklerinin sadece atık moleküllerden oluşmadığı aksine hücreler arası haberleşme, sinyal iletimleri gibi önemli rollerde kullanılmak üzere, nükleik asitler, proteinler, miRNA, mRNA, nükleoproteinler ve çeşitli enzimler taşıdıkları ortaya çıkarılmıştır (2,3).

Plazma membranından dolayı oluşan eksozomlar, hedef aldığı hücreler tarafından tanınabilmek için kendi membranlarında serin membran lipidleri, kolesterol, sfingolipid, gliserofosfolipid, sfingomyelin, seramid gibi membran lipidleri de taşırlar. Ayrıca köken aldığı hücrenin plazma membranında bulunan özgün proteinler, intralüminal proteinler, transmembran proteinler, tetraspaninler ve reseptör moleküllerini de üzerlerinde taşırlar. Bu sayede diğer hücreler tarafından tanınmaları ve hücre içine alınmaları kolaylaşır (9).

Eksozomlar, B ve T hücreleri, eritrositler (10), trombositler (11), lenfositler, dendritik hücreler,

fibroblastlar (12), endotelial hücreler, (13) epitelyal hücreler, mezenkimal kök hücreler, mast hücreleri, astrositler, retinositler, kanser hücreleri gibi vücutta bulunan bütün hücrelerden salgılanabilir. Kanda, idrarda,

ağız içi salgıda, amniyotik sıvıda, beyin-omurilik sıvısında, eklem sıvısında, nasal salgılarda, anne sütünde, serum ve plazma dahil, bütün vücut sıvılarında bulunurlar (14,15). Eksozomların önemli bir özelliği, taşıdıkları kargo içerikleridir. Taşıdıkları kargoları salgılanma amacına ve orjinlendikleri hücrelerin içeriklerine göre farklılık göstermektedir. Protein kargo olarak; integrinler, immüoglobulinler, birçok adezyon proteinleri (adezyon molekülü-1, CD146, CD9, milk-fat-globule EGF-factor VIII (MFG-E8), CD18, CD11a, CD11b, CD11c, CD166 ve LFA-3/CD58), sitoskelet proteinleri (tubulin, aktin), ESCRT (taşıma için gerekli endosomal ayırma kompleks proteinleri), eksozom biyogenezine katılan ve aynı zamanda belirteç olarak iş gören Alix, Tgs101, seramid ve tetraspanin ailesi, ısı-şok proteinleri (hsp70, hsp90), endozomal vesikül trafiğinde görevli CD9, CD81 ve CD63, GTPaz alt grubundan Rab ailesi, füzyon olaylarını ve sitoskeleti düzenleyen Annexin ailesi (Annexin I, II, V ve VI) ve flattilin proteinlerini içerirler (16, 17).

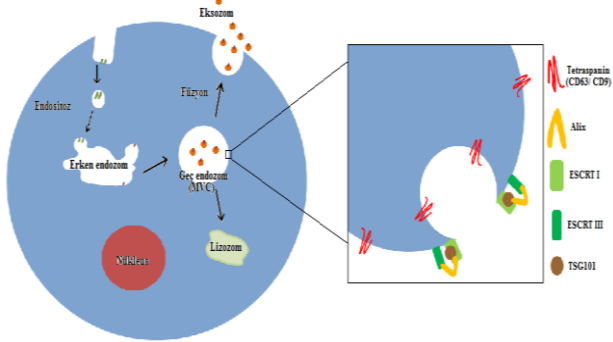
Eksozomlar, protein kargolarını üç mekanizma ile vezikülün içerisine alır ve intralüminal vezikülleri oluştururlar. Bu üç mekanizma ESCRT, lipid-bağımlı ve tetraspanin mekanizmalarıdır. Lipid kargoları da protein kargoları gibi köken aldıkları hücelere göre farklılık göstermektedir. Lipid kargo olarak; kolesterol, lizofosfatidilkolin, sfingomyelin, fosfatidilkolin, fosfatidilserin, fosfatidiletanolamin ve digliserid gibi fonksiyonel lipidler taşınır (18).

Eksozomları diğer EV'lere göre daha önemli hale getiren nokta, taşıdıkları RNA kargolarıdır (mRNA, miRNA) (19). RNA içerikleri sayesinde hücre-hücre etkileşiminde rol oynayan eksozomlar, alıcı hücreye transfer olduğunda taşıdıkları RNA kargoları ile hücrenin fonksiyonunu değiştirebilirler (2,20). Son çalışmalarda eksozomların içerisine nükleik asit eklemeye yönelik kimyasal transfeksiyon işlemi için ekso-fect teknolojisi kullanılmaya başlanmıştır. 'Ekso-fect' eksozomlar içine eklenen kargoyu hedef hücreye iletmede kullanılır. Bu yöntemin nükleik asit transferi güç olan hücelere ulaşmak için kolaylık sağladığı ve hedef hücreye yönelik daha etkili ve daha az toksik olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalar, eksozomların tek-iplikli (ssDNA) ve çift-iplikli DNA (dsDNA) taşıdıklarını da göstermiştir (21-23).

Eksozom Oluşumu Ve Salgılanması

Eksozomlar, plazma membranından içe doğru tomurcuklanma ile oluşan erken endozomun farklılaşmasıyla meydana gelir. Erken endozomlar kendi içlerine doğru tomurcuklanarak çok sayıda intralüminal vezikülleri (İLV) meydana getirir. CD9 ve CD63 gibi tetraspaninler, İLV'in oluşmasında rol oynarlar. Bu İLV içeren erken endozomlar, multivesiküler endozom (MVE)/ multivesiküler cisimcik (MVC)/ geç endozom olarak adlandırılır. MVC'ler içeriklerine, hedeflerine göre farklı son ürünlere dönüşür. Erken endozomun MVC (geç endozom) haline geçtikten sonra, trans-golgi ağı üzerinden MVC'ler, lizozoma gidip ortadan kaldırılabılır. Veya plazma membranına giderek ekzositoz ile eksozom adını alıp hücre dışına salgılanabilir. Eksozomları meydana getiren İLV

yüzeyinde bulunan ESCRT proteinleri, dört alt birimden oluşur. ESCRT-0 ubiquitin proteinlerinin birikmesinde ve tanınmasında etkilidir. ESCRT-1 ve ESCRT-2 membran tomurcuklanmasını sağlarken ESCRT-3 tomurcuklanan membranın ayrılmasını tetikler. Bu mekanizma İLV membranında bulunan ESCRT-1, Tsg101, Alix ve ESCRT-3 kompleksinin oluşmasıyla sağlanır (18) (Şekil 2).

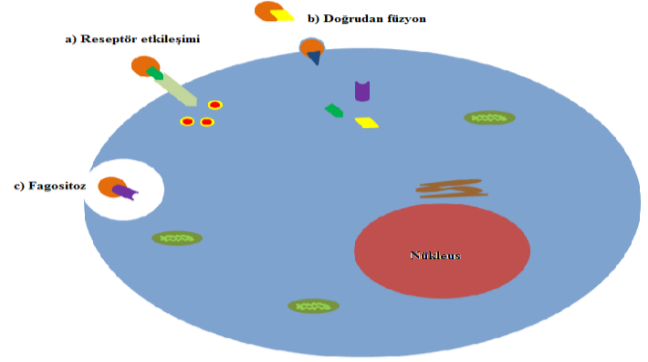


Şekil 2. Eksozomların oluşumu ve hücreden salınımı. a) eksozomlar hücre membranından orjinlenen endozomun farklılaşmasıyla oluşur. Erken endozomlar, geri dönüşüm, bozulma ve ekzositoz için gerekli kargoları taşıyan endositik veziküller ile birleşir. Erken endozomlar içe doğru tomurcuklanarak intralüminal vezikülleri meydana getirir ve geç endozomlar/ multiveziküler cisimcikler (MVC) adını alır. Geç endozomlar plazma membranı ile füzyon yaparak içerisindeki intralüminal vezikülleri hücre dışına salar ve bunlar eksozom olarak adlandırılır. b) intralüminal veziküller, erken endozom membranlarında bulunan tetraspanin proteinleri CD9 ve CD63 ile meydana gelir. Taşıma için gerekli endosomal ayırma kompleks (ESCRT) proteinleri olan, membrana tomurcuklanmasında ESCRT I ve II, tomurcuklanma işleminin tamamlanmasında ESCRT III rol oynar. Alix ise ESCRT I-II ve ESCRT III kompleksini bağlamada iş görür. (Akers JC, Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies 2013 'den yeniden düzenlenmiştir).

Trans-golgi ağı üzerinden eksozom salgılanmasında Rab (Ras ilişkili bağlayıcı protein grubu) ailesinin çeşitli üyeleri etkilidir. Rab4, Rab5, Rab11, Rab27a, Rab27b ve Rab35 proteinleri, farklı hücre tiplerinde eksozom salgılanmasında etkilidir. Rab protein ailesi, MVC ile plazma membranı üzerinde bulunan aktin ve mikrotübüller boyunca vezikülün hareket etmesini; plazma membranı ile MVC nin sınırlandırıcı zarının füzyonunu sağlar. Rab ailesi sadece eksozom salgılanmasında değil aynı zamanda endozomun sonraki basamaklara ilerlemesinde de rol oynar. Örneğin, Rab4 ve Rab5, erken endozomun MVC'e dönüşmesinde etkilidir. Rab7 MVC'nin lizozoma yönelmesinde iş gören proteinlerden biridir (24). Bu süreç SNARE (çözünür N-ethylmaleimid-duyarlı füzyon protein-bağlı protein kompleksi) protein ailesinin doğrudan ya da dolaylı etkisi ile sağlanır. Bunlara ilaveten MVC ve içerisinde oluşan İLV'nin membranında bulunan membran proteinleri de eksozomların salgılanmasında iş görür (18).

Eksozomların Hedef Hücreye Alınımı

Eksozomların hedef hücreyi tanıması ve hedef hücreye giriş mekanizmaları hala tam olarak aydınlatılmamış olsa da, eksozom içeriğinin hücreye alınması üç şekilde gerçekleşir (Şekil 3).



Şekil 3. Eksozomların hedef hücreye alınım yolları: a) Reseptör-ligand etkileşimi. b) eksozomun hedef hücre membranı ile füzyonu sonucu kargonun doğrudan içeri alınması. c) fagositoz (aktin-sitoiskelet ve fosfatidilinositol-3-kinaz etkileşimiyle). (Kahlert C, Kalluri R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. 2013'den yeniden düzenlenmiştir).

Reseptör etkileşimi ile hedef hücrenin plazma membranındaki proteazlar, eksozom membran proteinleriyle birleşir. Hücre yüzeyindeki hedef reseptörlerin bağlandığı bölgelerdeki çözünebilir ligandlar, serbest bırakılır. Eksozom içerisindeki kargo, seçici geçirgen intrasellüler sinyaller ile lümen içerisine alınır. Eksozomların hücreye alınmasına aracılık eden spesifik reseptörler bulunmamasına rağmen, yüzeylerinde APC'ler (Antijen Sunan Hücreler) için ICAM-1 ve B hücreleri için Tim1/4 gibi potansiyel reseptör özelliği taşıyan çok sayıda protein bulunur. Heparan sülfat proteoglikan (HSPGs) kanser hücresi kökenli eksozomların hücre içine alınmasında etkili reseptörler gibi davranır. Hücre yüzeyindeki HSPG'nin enzimatik yolla yıkımının, eksozomun hücreye alınımını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (25).

Eksozomlar orjinlendikleri hücre membranında bulunan sitoskelet proteinleri (aktin, tubulin, profilin, kofilin), taşıdıkları metabolik enzimleri (GAPDH and pirüvat kinaz) ve membran lipidleri (kolesterol, seramid, sfingolipid) vasıtasıyla hedef hücre membranıyla etkileşerek kargo iletimini gerçekleştirir (26).

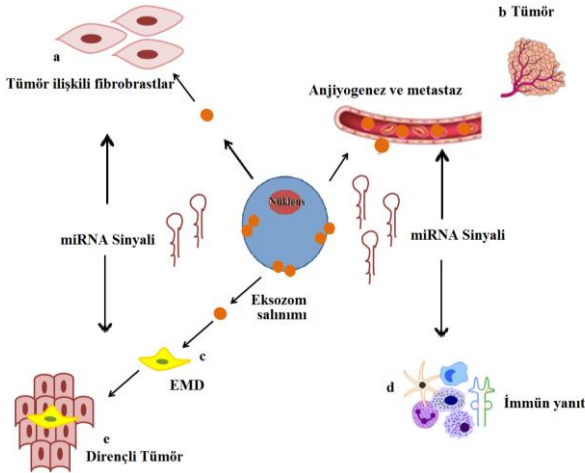
Doğrudan füzyonda, hedef hücrenin zarı ile eksozom membranının doğrudan füzyonu sonucu eksozom içerisindeki kargo sitoplazmaya alınır. Dendritik kökenli eksozomlar, yüzeylerinde taşıdıkları CD9 tetraspaninler 5 aracılığıyla hedef hücre membranıyla doğrudan füzyon yaparak taşıdıkları kargoyu hedef hücrenin sitoplazmasına aktarırlar (27).

Fagositozda (internalizasyon), aktin-sitoiskelet ve fosfatidilinositol -3-kinaz bağımlı fagositoz ile eksozom bütün olarak hücre içerisine alınır. Hücre içerisindeki mekanizmalar yardımıyla eksozomun taşıdığı kargo, sitoplazma içerisine dağılır (24).

Eksozomların Kanserdeki Rolü

Eksozomlar, fizyolojik koşullarda sağlıklı hücrelerden salgılandıkları gibi kanser hücreleri ve tümör ilişkili stromal hücreler tarafından da salgılanır. Eksozomlar aracılığıyla kanser hücreleri arasında otokrin, parakrin ve endokrin etkileşimi olanak sağlayan yoğun bir iletişim ağı

kurulmakta ve bu ağ içinde endotel hücrelerinden immün sistem hücrelerine uzanan çok sayıda aktör yer almaktadır (Şekil 4).



Şekil 4. Eksozomların kanserdeki rolü. a)Tümör ilişkili fibroblastların aktivasyonu b)Eksozom aracılı anjiyenez ve metastaz oluşumu c)Epitelyal-mezenkimal dönüşüm d)İmmün yanıtın kaçışı e) Eksozom aracılı miRNA sinyalinin tümör ilerlemesine katkısı (Azmi AS, Exosomes in cancer development, metastasis, and drug resistance: a comprehensive review. 2013'den yeniden düzenlenmiştir).

Kanser hücreleri eksozomlar sayesinde, immün sistemden kaçabilmekte, immün hücreleri inhibe edebilmekte, tümör mikro çevresinde anjiyenezini artırmakta, ilaç direnci kazanmakta, invazyon ve metastaz yapma yetenekleri elde etmektedirler. Eksozomlar, yüzeylerinde veya vezikül içinde taşıdıkları onkojenik sinyal proteinleri, ligandlar, enzimler ve miRNA'lar yoluyla tümörün progresyonuna ve metastazına olanak sağlamaktadırlar.

Mikro Çevre Ve Metastaz

Kanser hücreleri, kan dolaşımı veya lenfatik yolla metastaz yapabilir. Metastaz için hücrelerin, hücre dışı matriksi invaze ederek sistemik dolaşıma veya lenfatik dolaşıma katılmaları gerekir. Metastaz, çok etkenli bir süreçtir, kanser hücreleri ile birlikte mikro çevre, sitokinler, stromal hücreler, ve immün sistem hücreleri de bu sürece dahil olur. Hücrelerin metastatik özellik kazanabilmeleri için epitelyal-mezenkimal dönüşüm gereklidir (28). Epitelyal-mezenkimal dönüşüm, hücrelerin epitelyal özelliklerini kaybederek mezenkimal özellikler kazanması olarak tanımlanır. Bu sayede hücreler invazyon ve göç yeteneği kazanırlar (29). TGF-beta, epitelyal-mezenkimal dönüşümün en önemli destekçisidir (30). Reseptör tirozin kinazlar ve Wnt/b-katenin sinyal yolağı ise epitelyal-mezenkimal dönüşüm için tanımlanmış kritik yolaklardır. Tümör mikro çevresindeki makrofajlar ve tümör ilişkili fibroblastlar ise hem matriks metalloproteinazlar salgılayarak hem de kanser hücrelerinde epitelyal-mezenkimal dönüşüme aracılık eden bu yolakları aktive ederek invazyon ve metastaza katkıda bulunurlar.

Eksozomlar, metastaz sürecinin birçok noktasında yer alır. Fibrosarkom ve malign melanom hücrelerinden salınan eksozomların MT1-MMP (Membran tipi matriks metalloproteinaz) taşıdığı gösterilmiştir. MT1-MMP hücre dışı matrikste pro-MMP-2'yi aktive ederek tip 1 kollojen ve gelatin yıkımına neden olmakta ve invazyona

katkıda bulunmaktadır (31). Glioblastom ve meme kanseri hücrelerinden elde edilen eksozomlar, "hsp90alpha" aracılığıyla hücre dışı plasmini aktive ederek hücre mobilitesini artırmaktadır (32). Prostat kanserli hastalardan elde edilen tümör ilişkili fibroblastlar, salgıladıkları eksozomlar içinde taşınan miR-409 miRNA'lar aracılığı ile hücrelerde epitelyal-mezenkimal dönüşüme neden olmaktadır (33). Fibroblastlar prostat kanseri hücrelerini eksozomlar aracılığıyla etkilerken, kanser hücreleri de fibroblastları eksozomlar yoluyla etkilemektedir. Örneğin bir çalışmada prostat kanseri hücrelerinden elde edilen eksozomların, TGF-beta aracılığı ile normal fibroblastları, tümör stromasında yer alan myofibroblast fenotipine farklılaştırdığı gösterilmiştir (34). Tümör ilişkili myofibroblastlar, kanser hücrelerinin metastatik süreçteki önemli destekçilerindedir. Meme kanseri hücrelerinde, fibroblastlardan salınan eksozomların hücrelere metastatik özellik kazandırdığı gösterilmiştir (35). Makrofajlar tarafından Evenness interrupted (Evi) transmembran proteinleri ile kargolanan eksozomların, meme kanserinde WNT-5a proteinleri aracılığı ile hücrelerde invazyon ve migrasyonu artırdığı gösterilmiştir (36). Bir EGFR ligandı olan amphiregulin(AREG) taşıyan eksozomlar da meme kanseri hücrelerinde invazyona neden olmuştur (37). Nazofarinks kanseri hücrelerinde LMP-1 proteini taşıyan eksozomların, epitelyal-mezenkimal dönüşümü artırarak hücrelere invazyon ve migrasyon yeteneği kazandırdıkları gösterilmiştir(38). Gastrointestinal stromal tümör hücrelerinden salınan eksozomlar, KIT onkojenik tirozin kinaz proteinini taşır. Eksozomlar aracılığıyla düz kas hücrelerine ulaşan KIT, stromal hücrelere tümör-destekleyici fenotip kazandırmakta ve hücrelerde matriks metalloproteinazların salınımını artırarak invazyon ve metastaza katkıda bulunmaktadır (39). KIT proteini, insan mast hücreleri tarafından salınan eksozomlar içinde de taşınmakta ve akciğer kanseri hücrelerinde proliferasyonu artırmaktadır (40).

Malign melanom fare modellerinde, eksozomların lenf nodu metastazına zemin hazırladıkları gösterilmiştir. Tümör eksozomları henüz hücreler lenf nodu metastazı yapmadan lenfatik yol ile lenf nodlarına göç etmekte ve burada melanom hücreleri için uygun bir mikro çevre hazırlamaktadır (41).

İmmün Sistem

Kanser hücreleri immün sistemden kaçmak için karmaşık stratejiler geliştirir. Bu kaçışı engellemek ve immün sistemi aktive etmek için hedefe yönelik ajanlar geliştirilmiş ve bu alanda immünoterapi, kanser tedavisinde son yıllarda büyük bir aşama kaydetmiştir. Bu ajanlar esas olarak antijen sunan hücre ve CTL(Sitotoksik T lenfosit) aktivasyonunu sağlayarak anti-tümör immün yanıtı artırmakta ve tümör progresyonunu engellemektedir. İmmün hücrelerin aktivasyonu, PD-1,PDL-1 (programlı hücre ölümü ligandı-1) veya CTLA-4(sitotoksik T lenfosit antijeni-4) gibi T hücre yanıtını inhibe eden antijen veya ligandların blokajı ile sağlanabilmektedir. Bu ajanlar ile ileri evre kanserlerin tedavisinde oldukça iyi sonuçlar alınmaktadır.

Kanser hücrelerinin immün sistemden kaçışına katkı sağlayan eksozomlar, immün cevabın düzenlenmesinde kilit rol oynar. Eksozomların MHC class I ve II, FasL, TRAIL, membrana bağlı TGF-beta, TNF-alfa, CD73, CD39, miRNA, mRNA'lar, ve NKG2D ligandları gibi immün sistem regulasyonunda önemli rol oynayan molekülleri taşıdıkları gösterilmiştir. Eksozomlar, doğrudan NK hücreleri ve CD8T lenfositleri inhibe edebilirler. Kemik iliği düzeyinde veya tümör mikro çevresinde MDSC'leri (myeloid-derived suppressor cells) artırarak ve dendritik hücre farklılaşmasını engelleyerek de immün yanıtı kaçıra aracılık ederler.

Antijen Sunan Hücreler Ve MDSC'ler (Myeloid-Derived Suppressor Cell)

Tümör antijenlerinin T lenfositlere sunulması için olgun dendritik hücrelere ihtiyaç vardır. Birçok kanserde dendritik hücrelerin işlevsel ve sayısal olarak azalmasına bağlı olarak anti-tümör immün yanıtta yetersizlik ortaya çıkmaktadır. Kanserli hastalarda periferik kandan veya lenf nodlarından elde edilen dendritik hücrelerde MHC klas 2 ve co-stimülatör moleküllerin ifadesinde azalma saptanmakta ve hücreler olgunlaşmamış fenotip sergilemektedir. İleri evre hastalarda erken evre hastalara oranla dendritik hücre yetersizliği daha da belirginleşmektedir (42,43).

Normal koşullarda kemik iliğinde hematopoetik kök hücreler, immature (olgunlaşmamış) myeloid hücrelere (İMC) dönüşür. İMC'ler periferik organlara göç ederek makrofaj, dendritik hücre veya granülasitlere farklılaşırlar. Travma, tümör veya enfeksiyon varlığında immatür myeloid hücreler, bu odaklarda birikir. Kanserde, kemik iliğinden köken alarak tümör mikro çevresine göç eden immatür myeloid hücreler, dendritik hücrelere farklılaşmak yerine MDSC (Myeloid-derived Suppressor Cell) fenotipi kazanırlar ve immün sistemi baskılayıcı etki gösterirler. MDSC'ler anti-tümör immünitenin majör baskılayıcıları olarak kabul edilir. MDSC'lerin varlığı, tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasına olanak sağlar. Birçok kanserde, hastalardan alınan plazma örneklerinde MDSC düzeylerinde artış saptanmaktadır (44,45).

Eksozomlar, MDSC oluşumunda ve dendritik hücre diferansiyasyonunun blokajında kritik rol oynar. Tümör hücrelerinden salınan eksozomlar, sistemik dolaşım ile doğrudan kemik iliğine ulaşır ve immatür myeloid hücreleri, kemik iliği düzeyinde etkiler (46). Ayrıca eksozomların murine meme kanseri modellerinde karaciğer ve akciğerdeki myeloid öncü hücreler tarafından da alındığı gösterilmiştir (47). Chalmin ve ark. tümörden salınan eksozomların membranlarında taşıdıkları Hsp72 (heat shock protein-72) aracılığı ile Stat3 aktivasyonunu uyararak MDSC'leri aktive ettiklerini ortaya koymuştur (45). Bu aktivasyon neticesinde IL-6 salınımında artış olur. IL-6 salınımı ise dendritik hücre farklılaşmasını engeller. Eksozom aracılı MDSC oluşumuna eksozomlarda taşınan PGE2 ve TGF-beta da katkıda bulunur (40). Tümör eksozomları varlığında monositlerin dendritik hücrelere farklılaşması engellenirken, myeloid immünsüpresif hücreler aktive

edilmektedir. Eksozom varlığında monositler dendritik hücrelere diferansiyasyon olsalar bile maturasyonlarında yetersizlik ortaya çıkmaktadır. İmmatür dendritik hücreler, CD80 ve CD86 yüzey reseptörlerini bulundurmamaları için sitotoksik T lenfosit yanıtı ortaya çıkmamaktadır (48). Malign melanomda lenf nodlarına göç eden eksozomların, myeloid hücrelerde MDSC yönünde farklılaşmaya neden olarak metastatik mikro çevre oluşumuna katkıda buldukları gösterilmiştir (41).

T lenfositler

FASL-FAS sinyal yolağı inflamasyonda ve immün hücrelerin regulasyonunda önemli rol oynar. T lenfositler yüzeylerinde taşıdıkları FASL ligandı aracılığı ile tümör hücrelerinde apoptozise neden olur. T lenfositler, aynı zamanda yüzeylerinde FAS transmembran glikoproteinini de taşırlar. Birçok tümör dokusunun hücrelerinde FASL ligandı bulunmakta ve tümör hücreleri FASL-FAS sinyal yolağı aracılığıyla T hücre inhibisyonuna neden olarak immün yanıtı kaçırmaktadır. Kanserde, tümör mikro çevresinde ve sistemik dolaşımdaki T lenfositlerde yetersizlik ortaya çıkmaktadır. Bu durum hem tümörün immün yanıtı kaçımasına hem de hastaların enfeksiyonlara daha yatkın hale gelmesine yol açmaktadır. Eksozomların yüzeylerinde FASL ligandı taşıdıkları ve T hücre inhibisyonuna neden oldukları da gösterilmiştir. Malign melanom ve kolorektal kanserli hastalardan elde edilen eksozomların, CD8T lenfositlerde FASL-FAS aracılı apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (49,50). Nazofarinks kanserli hastalardan elde edilen eksozomlar, T hücre diferansiyasyonunu ve proliferasyonunu in vitro koşullarda inhibe etmekte ve anti-tümör immün yanıtta yetersizliğe neden olmaktadır (51). İleri evre oral kavite kanserli hastalarda plazmadan elde edilen eksozomlarda erken evre olanlara göre FASL ligandı düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. Eksozomlarda taşınan FASL ligandı düzeyleri artmış tümör yükü ve lenf nodu metastazı ile ilişkilendirilmiştir (52).

Eksozomlar ayrıca yüzeylerinde taşıdıkları CD 73 (5'-nucleotidase) ve CD 39 (ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1) enzimleri aracılığı ile ATP yi hidrolize ederek hücre dışı sıvıda adenozin düzeylerini artırmaktadır. Clayton ve ark. malign plevral mezotelyoma'lı hastaların plevral sıvılarından elde edilen eksozomların yüksek düzeyde ATP hidrolizine yol açtıklarını bulmuştur. Ayrıca mesane, meme ve kolorektal kanser hücrelerinden elde edilen eksozomların adenozin düzeylerinde artışa yol açtığını göstermişlerdir. Artmış adenozin düzeyleri, A2a reseptörler aracılığı ile T lenfositlerde hücre içi cAMP düzeylerini artırmakta T hücre inhibisyonuna neden olmaktadır (53). Artmış adenozin düzeyleri, aynı zamanda dendritik hücre olgunlaşmasını da engeller (54).

NK (Natural Killer) hücreler

İmmün sistemin temel üyelerinden biri olan NK(Natural Killer- doğal öldürücü) hücreleridir. Murine meme kanseri modellerinde eksozomların sistemik dolaşımdaki ve dalaktaki NK hücrelerin sayılarını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca eksozomlar ile perforin salınımı azalmakta ve NK hücrelerin sitotoksik etkileri

engellenmektedir (55). Yüzeylerinde NK62D ligandı taşıyan eksozomlar ise NK hücreleri meşgul ederek tümör hücrelerinin immün yanıtta kaçmasına katkıda bulunmaktadır (56).

Anjiogenez

Solid tümörler, hızlı proliferasyon nedeniyle doku içinde hipoksik ve nekrotik alanların oluşumuna neden olurlar. Hipoksi durumunda, tümör stromasında pro-angiogenik faktörler aracılığı ile endotel proliferasyonu ve anjiogenez uyarılır (57). Hipoksi ve artmış anjiogenez ise kemoterapi ve radyoterapi direncine katkıda bulunur. Günümüzde, anjiogenezin temel uyarıcılarından biri olan VEGF'yi bloke eden bevasizumab, kolorektal kanserler, küçük hücreli dışı akciğer kanseri ve glioblastom gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır (58).

Eksozomların tümör hipoksisi ve anjiogenez ile olan ilişkisi, in-vitro çalışmalar ile gösterilmiştir. Hipoksik koşullarda multiple myelom ve meme kanseri hücrelerinde eksozom salınımı artmaktadır (59,83). Glioblastom ve kolon kanseri hücrelerinden elde edilen eksozomlar, taşıdıkları anjiogenik proteinler, mRNA ve mikro-RNA'lar aracılığı ile endotel hücresi proliferasyonu ve tübül formasyonu oluşumuna neden olurlar. Eksozom aracılı endotel aktivasyonunda PI3K/AKT yolağı önemli rol oynar (60,61)

Kemoterapi Ve Hedefe Yönelik Ajan Direnci

İlaç direnci kanser tedavisinde başarısızlığa neden olan önemli mekanizmalardan biridir. Hücreler aynı kemoteröpatik ajana tekrarlayan uygulamalar sonrası direnç geliştirebilir. İlaç direnci gelişiminde, hücre içine giren ilacın glutatyon gibi sülfhidril moleküllerle inaktivasyonu, apoptozisi kontrol eden sinyal yollarında değişiklikler ve artmış DNA tamiri gibi farklı mekanizmalar tanımlanmıştır (62). Önemli mekanizmalardan biri, hücre içine giren ilacın lizozomal yıkımı ve/veya veziküler yol ile yeniden hücre dışına taşınmasıdır. İlacın hücre dışına taşınması aşamasında ATP7A ve ATP7B gibi bakır taşıyıcı transmembran proteinler ve MRP2 (Multidrug resistance-associated protein 2) önemli rol oynamaktadır.

Eksozomlar, ilaç direnci gelişimine de katkıda bulunurlar. Cisplatin dirençli over kanseri hücrelerinde, duyarlı hücrelere oranla eksozom salınımının daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Dirençli hücelere cisplatin uygulandığında, salınan eksozomlarda bakır taşıyıcı ATP7A ve ATP7B proteinlerin ve MRP2 (Multidrug resistance-associated protein 2) düzeylerinin duyarlı hücelere oranla 2,6 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Cisplatin, eksozomlar aracılığı ile hücre dışına taşınmaktadır (63). Malign melanom hücrelerinde hücre dışı asidoz proton pompa inhibitörleri ile ortadan kaldırıldığında, eksozom salınımı azalmakta ve kanser hücreleri cisplatin'e daha duyarlı hale gelmektedir (64). Doseksel dirençli prostat kanseri hücrelerinden elde edilen eksozomlar, doseksel duyarlı hücelere eklendiğinde, duyarlı hücrelerin ilaca karşı direnç kazandığı görülmektedir. Doseksel direncine eksozomlar aracılığıyla taşınan MDR-1/P-gp proteinleri katkıda bulunmaktadır. Doseksel dirençli prostat

kanserli hastaların serumlarından elde edilen eksozomlar, doseksel duyarlı prostat kanseri hücrelerine eklendiğinde, duyarlı hücrelerin eksozomlar aracılığıyla direnç kazandığı gösterilmiştir (65). Meme kanseri hücrelerinde, eksozomlar aracılığıyla taşınan miRNA'lar duyarlı hücrelerde doseksel ve adriamisin direncine neden olmaktadır (66). Hepatoselüler karsinomda non-coding lincROR RNA taşıyan eksozomlar, hücrelerde doksorubisin, kamptotekin ve sofenib (bir tirozin kinaz inhibitörü) direncine neden olduğu gösterilmiştir (67).

Rituximab (anti-CD20 anti-body) non-hodgkin lenfoma tedavisinin ana bileşenidir. B hücreli lenfoma hücrelerinden salınan eksozomların yüzeylerinde CD20 antijeni taşıdıkları ve bu sayede lenfoma hücrelerinin rituximab'dan korunduğu gösterilmiştir (68). Meme kanserinde hastaların serumlarından elde edilen eksozomların HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) taşıdıkları gösterilmiştir. Meme kanserlerinin yaklaşık %20 si HER-2 pozitifliği göstermektedir. Trastuzumab (monoclonal antibody HER2/neu receptor) HER-2(+) meme kanserinde günümüzde standart tedavidir. Kanser hücrelerinden elde edilen HER2(+) eksozomlar, hücre hatlarına eklendiğinde Trastuzumab ile oluşan bağımlı sitotoksitesi engellemektedir (69). Bu etkinin HER 2(+) meme kanserinde Trastuzumab direnciyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Kanser Eksozomlarının Sinyal Yolakları Üzerindeki Etkileri

Kanser hücrelerinde artmış proliferasyon, invazyon, migrasyon, epitelyal-mezenkimal dönüşüm ve tümör progresyonuna katkıda bulunan mikro çevresel değişiklikler, MAPK/ERK, PI3K/AKT, Wnt/b-katenin, reseptör tirozin kinazlar ve TGF-beta gibi ligand ve sinyal yolları ile yakından ilişkilidir (70). Eksozomlar hem kanser hücrelerinde hem de tümör ilişkili stromal hücreler düzeyinde tümör progresyonuna katkıda bulunan bu sinyal yollarını doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir. Örneğin, PI3K/AKT yolağının üst basamaklarında yer alan PTEN (Phosphatase and tensin homolog) eksozomlar aracılığıyla hücreler arasında taşınmaktadır (71). Mide kanseri hücrelerinden elde edilen eksozomlar, kanser hücrelerinde "Casitas B-lineage" lymphoma proteinlerini azaltırken PI3K/AKT yolağını aktive etmektedir (72). İnsan kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinden elde edilen eksozomların mide kanseri hücrelerinde ERK1/2 aktivasyonuna neden olduğu ortaya konmuştur (73). İnsan meme ve kolorektal kanser hücrelerinden salınan eksozomlar, EGF, TGF- α , AREG (amphiregulin), HB-EGF (heparin-binding EGF-like growth factor), betacellulin, epiregulin ve epigen gibi EGFR ligandları taşımaktadır (74). Malign gliomlarda ise EGFRvIII'ün eksozomlar aracılığıyla taşındığı gösterilmiştir (75). EGFR aracılı reseptör tirozin kinaz aktivasyonunun, glioblastom hücrelerinde proliferasyon, anjiogenez, migrasyon'u aktive ettiği gösterilmiştir (76).

Eksozomların tanı ve tedavideki önemi

Eksozomlar, kanser dahil birçok hastalığın tanı ve tedavisinde potansiyel belirteçler olma özelliği taşır. Eksozomların taşıdıkları kargo içeriklerinin (özellikle mRNA ve miRNA içeriği) hastalıkların tanısında önemli

bir avantaj olacağı düşünülmektedir. Eksozomlar salgılandıkları hücrelerin membran ve sitoplazmik özelliklerini karakteristik olarak taşırlar. Eksozomların ultra-santrifüj ve izolasyon kitleri yardımıyla vücuttaki bütün sıvılardan elde edilebilir olması, birçok hastalık için tanı aşamasını kolaylaştırıcı nitelikte belirteç ekseni araştırmaların yapılmasına yol açmıştır.

Eksozomlar ile kanser tanısına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Tanı amaçlı kullanımına yönelik en anlamlı veriler, prostat kanseri hücre hattı (PC3) ve primer doku kültürleri üzerine yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Prostat kanseri belirteci olarak kullanılan miRNA'ların 36 tanesi PC3 hücre hattı eksozomlarında belirlenmiştir. Psoriasin, keratin-14, galektin-7, epidermal yağlı asit bağlayıcı protein (E-FABP), göç inhibitörü faktörü ilişkili protein (MRP8) ve stratifin içeren eksozomların, mesane kanser tanısında biyobelirteç olarak kullanılabilceği gösterilmiştir (77). Bunların yanı sıra kolorektal kanserler (84), hepatoselüler karsinom (78), akciğer yassı hücre karsinomu (79), over kanseri (85) ve glioblastom (80) gibi kanser tipleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda eksozomların kanser tanısında kullanılmaya yönelik potansiyel bir araç olduğu gösterilmiştir. Eksozomların bu özellikleri, klinik araştırmalarda biyobelirteç olarak kullanılabilme ihtimalini güçlendirmektedir.

Eksozomlar, doğal lipozom özelliği taşıdıkları için tedaviye yönelik araştırmalarda da önemini korumaktadır. Eksozomlar nano boyutta olmaları ve membranlarında taşıdıkları protein ve lipid içeriklerinden dolayı kanda rahatça dolaşabildiği gibi kan beyin bariyerini de geçebilme özelliğine sahiptir. Yapılan bazı araştırmalarda, dentritik hücre-kökenli eksozomlar (deksozom) içerisine granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) aşılandığında T hücre proliferasyonunu arttırdığı ve anti tümör yanıt oluşturmaya teşvik ettiği gözlenmiştir.

Dentritik hücre-kökenli eksozomlar (deksozom), T helper hücreleri hedef alarak sitotoksik T lenfosit proliferasyonunu artırmakta ve T hücre diferansiyasyonunu etkilemektedir(87). İleri evre kolorektal kanserli hastaların değerlendirildiği Faz 1 klinik çalışmada, deksozomlar granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ile birlikte uygulandığında, sitotoksik T lenfosit yanıtını artırarak anti-tümör etkiye neden olmuştur (88). Bir başka klinik çalışmada, küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda deksozomlar ile T hücre yanıtının artırıldığı ve bazı hastalarda hastalık progresyonunun bu sayede engellendiği bildirilmiştir(89). Fabbri ve ark. akciğer kanseri olan fareleri GW4 869 içeren eksozomlar ile tedavi ettiklerinde akciğer metastazının önemli ölçüde azaldığını gözlemlemişlerdir (86).

Ristorcelli ve ark. eksozomal nano partiküllerin pankreas kanseri hücrelerinde G0/G1 fazında hücre duraklamasına neden olarak apoptotik yolları aktive ettiğini göstermişlerdir. Eksozom benzeri sentetik nano partiküller "Notch" yolağını inhibe etmekte ve pankreas kanseri hücrelerini öldürmektedir(81,82).

Eksozomların sahip oldukları ilginç ve sıradışı özelliklerinden dolayı tanı ve tedaviye yönelik araştırma çalışmalarını devam ettirmektedir (14).

Sonuç

Eksozomlar sahip oldukları biyolojik ve morfolojik özelliklerinden dolayı kanser oluşumu ve ilerleyişinde önemli bir oyuncudur. Orjinlendikleri hücre tiplerine göre farklılık göstermesi ve vücuttaki tüm sıvılardan elde edilebilmeleri, kanserle ilişkili çalışmalar için ciddi bir avantaj ve potansiyel belirteçlerdir. Ancak eksozom biyolojisinin henüz bütünüyle aydınlatılmamış olması, geleceğe yönelik yapılan çalışmalar içinde potansiyel bir engel teşkil etmektedir. Gelişen teknoloji ışığında eksozomların, sadece kanserin oluşumu, ilerleyişi, tanı ve tedavisine yönelik değil, pek çok hastalığın oluşum mekanizması ve tanısına yönelik çalışmalarda da araştırılmayı hak eden bir nano biyolojik yapı olduğu düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.* 2013;200:373-383.
2. Van der Pol E, Böing AN, Harrison P, Sturk A, Nieuwland R. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles. *Pharmacol Rev.* 2012;64:676-705.
3. Akers JC, Gonda D, Kim R, Carter BS, Chen CC. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *J Neurooncol.* 2013;113:1-11.
4. Kelly RW, Holland P, Skibinski G, Harrison C, Mcmillan L, Hargreave T, James K. Extracellular organelles (prostasomes) are immunosuppressive components of human semen. *Clin Exp Immunol.* 1991;86:550-556.
5. Le Pecq JB. Dexosomes as a therapeutic cancer vaccine: from bench to bedside. *Blood Cells Mol Dis.* 2005;35:129-135.
6. Mahmoodzadeh Hosseini H, Soleimanirad J, Mehdizadeh Aghdam E, Amin M, Imani Fooladi AA. Texosome-anchored superantigen triggers apoptosis in original ovarian cancer cells. *Med Oncol.* 2015;32:409.
7. Zöller M. Exosomes in Cancer Disease. *Methods Mol Biol.* 2016;1381:111-149.
8. Simpson RJ, Mathivanan S. Extracellular Microvesicles: The Need for Internationally Recognised Nomenclature and Stringent Purification Criteria. *J Proteomics Bioinform.* 2012;5:ii.
9. Azmi AS, Bao B, Sarkar FH. Exosomes in cancer development, metastasis, and drug resistance: a comprehensive review. *Cancer Metastasis Rev.* 2013;32:623-642.
10. Danesh A, Inglis HC, Jackman RP, et al. Exosomes from red blood cell units bind to monocytes and induce proinflammatory cytokines, boosting T-cell responses in vitro. *Blood.* 2014;123:687-696.
11. Aatonen MT, Ohman T, Nyman TA, Laitinen S, Grönholm M, Siljander PR. Isolation and characterization of platelet-derived extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles.* 2014;3:24692.
12. Luga V, Wrana JL. Tumor-stroma interaction: Revealing fibroblast-secreted exosomes as potent regulators of Wnt-planar cell polarity signaling in cancer metastasis. *Cancer Res.* 2013;73:6843-6847.
13. Ju R, Zhuang ZW, Zhang J, et al. Angiopoietin-2 secretion by endothelial cell exosomes: regulation by the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt/endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and syndecan-4/syntenin pathways. *J Biol Chem.* 2014;289:510-519.
14. Brinton LT, Sloane HS, Kester M, Kelly KA. Formation and role of exosomes in cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2015;72:659-671.
15. Corrado C, Raimondo S, Chiesi A, Ciccia F, De Leo G, Alessandro R. Exosomes as intercellular signaling organelles involved in health and disease: basic science and clinical applications. *Int J Mol Sci.* 2013;14:5338-5366.
16. Théry C, Boussac M, Véron P, et al. Proteomic analysis of dendritic cell-derived exosomes: a secreted subcellular compartment distinct from apoptotic vesicles. *J Immunol.* 2001;166:7309-7318.
17. Schorey JS, Bhatnagar S. Exosome function: from tumor immunology to pathogen biology. *Traffic.* 2008;9:871-881.
18. Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Madrid F, Mittelbrunn M. Sorting it out: regulation of exosome loading. *Semin Cancer Biol.* 2014;28:3-13.
19. Falcone G, Felsani A, D'Agnano I. Signaling by exosomal microRNAs in cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2015;34:32.
20. Minciacci VR, Freeman MR, Di Vizio D. Extracellular vesicles in cancer: exosomes, microvesicles and the emerging role of large oncosomes. *Semin Cell Dev Biol.* 2015;40:41-51.
21. Kahlert C, Melo SA, Protopopov A, Tang J, Seth S, Koch M, Zhang J, Weitz J, Chin L, Futreal A, Kalluri R. Identification of double-stranded genomic DNA spanning all chromosomes with mutated KRAS and p53 DNA in the serum exosomes of patients with pancreatic cancer. *J Biol Chem.* 2014;289:3869-3875.
22. Balaj L, Lessard R, Dai L, Cho YJ, Pomeroy SL, Breakefield XO, Skog J. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences. *Nat Commun.* 2011;2:180.
23. Thakur BK, Zhang H, Becker A, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Res.* 2014;24:766-769.
24. Kahlert C, Kalluri R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *J Mol Med (Berl).* 2013;91:431-437.
25. Zhang X, Yuan X, Shi H, Wu L, Qian H, Xu W. Exosomes in cancer: small particle, big player. *J Hematol Oncol.* 2015;8:83.
26. Gupta A, Pulliam L. Exosomes as mediators of neuroinflammation. *J Neuroinflammation.* 2014;11:68.
27. van den Boorn JG, Schlee M, Coch C, Hartmann G. SiRNA delivery with exosome nanoparticles. *Nat Biotechnol.* 2011;29:325-326.
28. Greening DW, Gopal SK, Mathias RA, et al. Emerging roles of exosomes during epithelial-mesenchymal transition and cancer progression. *Semin Cell Dev Biol.* 2015;40:60-71.
29. Singh A, Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene.* 2010;29:4741-4751.
30. Otranto M, Sarrazy V, Bonté F, Hinz B, Gabbiani G, Desmoulière A. The role of the myofibroblast in tumor stroma remodeling. *Cell Adh Migr.* 2012;6:203-219.
31. Hakulinen J, Sankkila L, Sugiyama N, Lehti K, Keski-Oja J. Secretion of active membrane type 1 matrix metalloproteinase (MMP-14) into extracellular space in microvesicular exosomes. *J Cell Biochem.* 2008;105:1211-1218.
32. McCready J, Sims JD, Chan D, Jay DG. Secretion of extracellular hsp90alpha via exosomes increases cancer cell motility: a role for plasminogen activation. *BMC Cancer.* 2010;10:294.
33. Josson S, Gururajan M, Sung SY, et al. Stromal fibroblast-derived miR-409 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and prostate tumorigenesis. *Oncogene.* 2015;34:2690-2699.
34. Webber JP, Spary LK, Sanders AJ, Chowdhury R, et al. Differentiation of tumour-promoting stromal myofibroblasts by cancer exosomes. *Oncogene.* 2015;34:290-302.
35. Luga V, Zhang L, Vilorio-Petit AM, et al. Exosomes mediate stromal mobilization of autocrine Wnt-PCP signaling in breast cancer cell migration. *Cell.* 2012;151:1542-1556.
36. Menck K, Klemm F, Gross JC, Pukrop T, Wenzel D, Binder C. Induction and transport of Wnt 5a during macrophage-induced malignant invasion is mediated by two types of extracellular vesicles. *Oncotarget.* 2013;4:2057-2066.
37. Higginbotham JN, Demory Beckler M, Gephart JD et al. Amphiregulin exosomes increase cancer cell invasion. *Curr Biol.* 2011;21:779-786.
38. Aga M, Bentz GL, Raffa S et al. Exosomal HIF1 α supports invasive potential of nasopharyngeal carcinoma-associated LMP1-positive exosomes. *Oncogene.* 2014;33:4613-4622.
39. Atay S, Banskota S, Crow J, Sethi G, Rink L, Godwin AK. Oncogenic KIT-containing exosomes increase gastrointestinal stromal tumor cell invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:711-716.
40. Xiao H, Lässer C, Shelke GV, et al. Mast cell exosomes promote lung adenocarcinoma cell proliferation - role of KIT-stem cell factor signaling. *Cell Commun Signal.* 2014;12:64.
41. Hood JL, San RS, Wickline SA. Exosomes released by melanoma cells prepare sentinel lymph nodes for tumor metastasis. *Cancer Res.* 2011;71:3792-3801.
42. Gabrilovich DI, Ciernik IF, Carbone DP. Dendritic cells in antitumor immune responses. I. Defective antigen presentation in tumor-bearing hosts. *Cell Immunol.* 1996;170:101-110.
43. Almand B, Clark JI, Nikitina E, et al. Increased production of immature myeloid cells in cancer patients: a mechanism of immunosuppression in cancer. *J Immunol.* 2001;166:678-689.
44. Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, Garrett-Mayer E, Cole DJ, Montero AJ. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2009;58:49-59.
45. Chalmin F, Ladoire S, Mignot G, et al. Membrane-associated Hsp72 from tumor-derived exosomes mediates STAT3-dependent immunosuppressive function of mouse and human myeloid-derived suppressor cells. *J Clin Invest.* 2010;120:457-471.
46. Xiang X, Poliakov A, Liu C et al. Induction of myeloid-derived suppressor cells by tumor exosomes. *Int J Cancer.* 2009;124:2621-2633.
47. Yu S, Liu C, Su K, Wang J, et al. Tumor exosomes inhibit differentiation of bone marrow dendritic cells. *J Immunol.* 2007;178:6867-6875.
48. Valenti R, Huber V, Filipazzi P, et al. Human tumor-released microvesicles promote the differentiation of myeloid cells with transforming growth factor-beta-mediated suppressive activity on T lymphocytes. *Cancer Res.* 2006;66:9290-9298.
49. Andreola G, Rivoltini L, Castelli C et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles. *J Exp Med.* 2002;195:1303-1316.
50. Huber V, Fais S, Iero M, et al. Human colorectal cancer cells induce T-cell death through release of proapoptotic microvesicles: role in immune escape. *Gastroenterology.* 2005;128:1796-1804.

51. Ye SB, Li ZL, Luo DH, et al. Tumor-derived exosomes promote tumor progression and T-cell dysfunction through the regulation of enriched exosomal microRNAs in human nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*. 2014;5:5439-5452.
52. Kim JW, Wieckowski E, Taylor DD, Reichert TE, Watkins S, Whiteside TL. Fas ligand-positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes. *Clin Cancer Res*. 2005;11:1010-1020.
53. Clayton A, Al-Taei S, Webber J, Mason MD, Tabi Z. Cancer exosomes express CD39 and CD73, which suppress T cells through adenosine production. *J Immunol*. 2011;187:676-683.
54. Wilson JM, Ross WG, Agbai ON et al. The A2B Adenosine Receptor Impairs the Maturation and Immunogenicity of Dendritic Cells. *J Immunol*. 2009;182:4616-4623.
55. Liu C, Yu S, Zinn K, Wang J, et al. Murine mammary carcinoma exosomes promote tumor growth by suppression of NK cell function. *J Immunol*. 2006;176:1375-1385.
56. Mincheva-Nilsson L, Baranov V. Cancer exosomes and NKG2D receptor-ligand interactions: impairing NKG2D-mediated cytotoxicity and anti-tumour immune surveillance. *Semin Cancer Biol*. 2014;28:24-30.
57. Harris A. Hypoxia - a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:38-47.
58. Keating GM. Bevacizumab: a review of its use in advanced cancer. *Drugs*. 2014;74:1891-1925.
59. King HW, Michael MZ and Gleadle JM. Hypoxic enhancement of exosome release by breast cancer cells. *BMC Cancer* 2012;12:421.
60. Skog J, Wurdinger T, van Rijn S et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and protein that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*. 2008;10:1470-1476.
61. Hong BS, Cho JH, Kim H, et al. Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells. *BMC Genomics*. 2009;10:556.
62. Shahzad MMK, Lopez-Berestein G, Sood AK. Novel Strategies for Reversing Platinum Resistance. *Drug Resist Updat*. 2009;12:148-152.
63. Safaei R, Larson BJ, Cheng TC, et al. Abnormal lysosomal trafficking and enhanced exosomal export of cisplatin in drug-resistant human ovarian carcinoma cells. *Mol Cancer Ther*. 2005;4:1595-1604.
64. Federici C, Petrucci F, Caimi S et al. Exosome release and low pH belong to a framework of resistance of human melanoma cells to cisplatin. *PLoS One*. 2014;9:e88193.
65. Corcoran C, Rani S, O'Brien K et al. Docetaxel-resistance in prostate cancer: evaluating associated phenotypic changes and potential for resistance transfer via exosomes. *PLoS One*. 2012;7:e50999.
66. Chen WX, Liu XM, Lv MM et al. Exosomes from drug-resistant breast cancer cells transmit chemoresistance by a horizontal transfer of microRNAs. *PLoS One*. 2014;9:e95240.
67. Takahashi K, Yan IK, Kogure T, Haga H, Patel T. Extracellular vesicle-mediated transfer of long non-coding RNA ROR modulates chemosensitivity in human hepatocellular cancer. *FEBS Open Bio* 2014;4:458-467.
68. Aung T, Chapuy B, Vogel D, et al. Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:15336-15341.
69. Batte C, Ruiss R, Welsch U, et al. Tumour exosomes inhibit binding of tumour-reactive antibodies to tumour cells and reduce ADCC. *Cancer Immunol Immunother*. 2011;60:639-648.
70. Janda E, Lehmann K, Killisch I, et al. Ras and TGF[beta] cooperatively regulate epithelial cell plasticity and metastasis: dissection of Ras signaling pathways. *J Cell Biol*. 2002;156:299-313.
71. Putz U, Howitt J, Doan A, et al. The tumor suppressor PTEN is exported in exosomes and has phosphatase activity in recipient cells. *Sci Signal*. 2012;5:ra70.
72. Qu JL, Qu XJ, Qu JL et al. The role of cbl family of ubiquitin ligases in gastric cancer exosome-induced apoptosis of Jurkat T cells. *Acta Oncol*. 2009;48:1173-1180.
73. Zhu W, Huang L, Li Y, et al. Exosomes derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote tumor growth in vivo. *Cancer Lett*. 2012;315:28-37.
74. Higginbotham JN, Demory Beckler M, Gephart JD, et al. Amphiregulin exosomes increase cancer cell invasion. *Curr Biol*. 2011;21:779-786.
75. Al-Nedawi K, Meehan B, Micallef J, et al. Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. *Nat Cell Biol*. 2008;10:619-624.
76. Nicholas MK, Lukas RV, Jafri NF, Faoro L, Salgia R. Epidermal growth factor receptor - mediated signal transduction in the development and therapy of gliomas. *Clin Cancer Res*. 2006;12:7261-7270.
77. Sun Y, Liu J. Potential of cancer cell-derived exosomes in clinical application: a review of recent research advances. *Clin Ther*. 2014;36:863-872.
78. Wang H, Hou L, Li A, Duan Y, Gao H, Song X. Expression of serum exosomal microRNA-21 in human hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int*. 2014;2014:864894.
79. Aushev VN, Zborovskaya IB, Laktionov KK et al. Comparisons of microRNA patterns in plasma before and after tumor removal reveal new biomarkers of lung squamous cell carcinoma. *PLoS One*. 2013;8:e78649.
80. Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and protein that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*. 2008;10:1470-1476.
81. Beloribi S, Ristorcelli E, Breuzard G, et al. Exosomal lipids impact notch signaling and induce death of human pancreatic tumoral SOJ-6 cells. *PLoS One*. 2012;7:e47480.
82. Ristorcelli E, Beraud E, Mathieu S, Lombardo D, Verine A. Essential role of Notch signaling in apoptosis of human pancreatic tumoral cells mediated by exosomal nanoparticles. *Int J Cancer*. 2009;125:1016-1026.
83. Umezu T, Tadokoro H, Azuma K, Yoshizawa S, Ohyashiki K, Ohyashiki JH. Exosomal miR-135b shed from hypoxic multiple myeloma cells enhances angiogenesis by targeting factor-inhibiting HIF-1. *Blood*. 2014;124:3748-57.
84. Silva J, Garcia V, Rodriguez M, Compte M, Cisneros E, Veguillas P, Garcia JM, Dominguez G, Campos-Martin Y, Cuevas J, Peña C, Herrera M, Diaz R, Mohammed N, Bonilla F. Analysis of exosome release and its prognostic value in human colorectal cancer. *Gene Chromosome Canc*. 2012;51:409-18.
85. Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol. Oncol*. 2008;110:13-21.
86. Fabbri M, Paone A, Calore F, Galli R, Gaudio E, Santhanam R, Lovat F, Fadda P, Mao C, Nuovo GJ, et al. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response. *PNAS*. 2012;109:2110-2116.
87. Hao S, Liu Y, Yuan J, Zhang X, He T, Wu X, Wei Y, Sun D, Xiang J. Novel exosome-targeted CD4 (+) T cell vaccine counteracting CD4 (+) 25 (+) regulatory T cell-mediated immune suppression and stimulating efficient central memory CD8 (+) CTL response. *J Immunol*. 2007;179:2731-2740.
88. Dai S, Wei D, Wu Z, Zhou X, Wei X, Huang H, Li G. Phase I clinical trial of autologous ascites-derived exosomes combined with GM-CSF for colorectal cancer. *Mol Ther* 2008;16:782-790.
89. Morse MA, Garst J, Osada T, Khan S, Hobeika A, Clay TM, Valente N, Shreeniwas R, Sutton MA, Delcayre A, Hsu DH, Le Pecq JB, Lyerly HK. A phase I study of dextran exosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Transl Med* 2005;3:9.

<http://edergi.cbu.edu.tr/ojs/index.php/cbusbed> isimli yazarın CBU-SBED başlıklı eseri bu Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

