

وزیکول‌های خارج سلولی و کاربردهای درمانی آن‌ها: یک مقاله مروری

رضا رهبرقازی^۱، جعفر رضایی^{۲*}

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۲/۰۷

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: وزیکول‌های خارج سلولی وزیکول‌های با دولایه غشای فسفولیپیدی هستند که از سلول‌های مختلف ترشح می‌شوند. این ذرات حاوی مولکول‌های زیستی مثل mRNA، miRNA، DNA، پروتئین و لیپید هستند و نقش مهمی در برقراری ارتباطات سلولی دارند و متعاقب رسیدن به سلول‌های هدف موجب تغییر در عملکرد، سرنوشت، مورفولوژی، تمایز و رشد می‌شوند. مطالعه حاضر از نوع مروری است که با هدف بررسی مکانیسم مولکولی درگیر در تشکیل آگزوزوم‌ها و کاربرد درمانی آن‌ها صورت گرفته است.

مواد و روش کار: مطالعه مروری حاضر از مقالات چاپ‌شده در پایگاه‌های اطلاعاتی ISI، Scopus و Pubmed استفاده شده است. کلمات کلیدی به کار برده شده شامل extracellular vesicles، exosome، ESCRT، MVB بود. تعداد ۱۱۸ مقاله مرتبط و دربرگیرنده تحقیقات از سال ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۸ بود، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: آگزوزوم‌ها (نانووزیکول‌های به‌اندازه ۳۰-۱۲۰ نانومتر) یکی از اعضای خانواده وزیکول‌های خارج سلولی هستند که توسط بیشتر سلول‌ها ترشح می‌شوند. مکانیسم‌های مولکولی پیچیده در تشکیل، ترشح و جذب شدن این وزیکول‌ها دخالت دارند. مطالعات نشان می‌دهد که آگزوزوم‌ها نقش بسیار مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک دارند. یافته‌ها حاکی از آن است که آگزوزوم‌ها می‌توانند به‌عنوان نشانگر زیستی، حامل انتقال عوامل درمانی بخصوص در زمینه تشخیص و درمان بیماری‌ها مورداستفاده قرار بگیرند.

بحث و نتیجه‌گیری: آگزوزوم‌ها نقش بسیار مهمی در تنظیم فرایندهای زیستی دارند. آن‌ها می‌توانند به‌عنوان ابزاری در زمینه شناسایی و درمان بیماری‌های مختلف کاربرد داشته باشند. باوجود پیشرفت در زمینه زیست‌شناسی و کاربرد آگزوزوم‌ها، هنوز سؤالات زیادی در مورد کاربرد آن‌ها وجود دارد.

کلیدواژه‌ها: وزیکول‌های خارج سلولی، آگزوزوم، نشانگر زیستی، حامل دارو

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره سوم، ص ۲۰۶-۱۸۷، خرداد ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: ارومیه، بلوار ارشاد، خیابان شفا، پژوهشکده پزشکی سلولی مولکولی، طبقه سوم، مرکز تحقیقات سالیید تومور. کد پستی ۵۷۱۴۷، صندوق پستی ۱۱۳۸، فاکس: ۰۴۴۳۲۲۲۰۱۰، تلفن: ۰۹۱۴۸۵۴۸۵۰۳

Email: J.rezaie88@gmail.com

مقدمه

بنام آگزوزوم تولید می‌کنند و از طریق آن‌ها با سلول‌های مجاور و دور ارتباط برقرار می‌کنند. بنابراین آگزوزوم‌ها یک روش دیگری در برقراری ارتباطات سلولی هستند (۲). در ابتدا تصور بر این بود که تولید آگزوزوم نوعی روش برای دفع مواد زائد داخل سلولی است (۳). ولی بعدازآن نقش مهم آگزوزوم‌ها در فرایندهای زیستی طبیعی و غیرطبیعی به اثبات رسید (۴، ۵). این وزیکول‌ها جزو خانواده وزیکول‌های خارج سلولی^۲ هستند. وزیکول‌های خارج سلولی از نظر

سلول‌های مختلف از طریق راه‌های متعددی باهم دیگر ارتباط برقرار می‌کنند. در یک ریزمحیط زیستی سلول‌ها برای برقراری ارتباطات از سازوکارهای متعددی مثل روش‌های پاراکراین، جاکستاکراین^۱ و اتوکراین استفاده می‌کنند (۱). در دهه اخیر دانشمندان با مطالعه سلول‌ها متوجه شدند که سلول‌ها علاوه بر این‌که فاکتورهای محلول ترشح می‌کنند، یک سری نانووزیکول‌های

۱ استادیار، پاتولوژی، گروه علوم سلولی کاربردی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۲ استادیار، علوم سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات سالیید تومور، پژوهشکده پزشکی سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

1 Juxtacrine

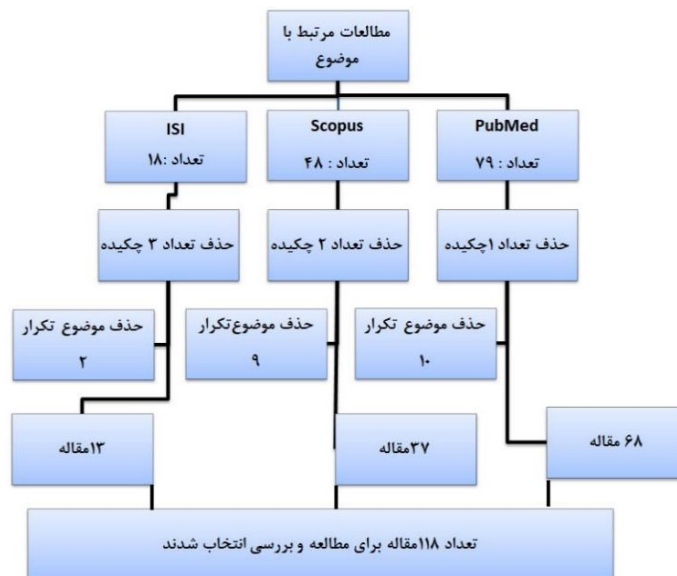
2 Extracellular Vesicles

کاربرد آگزوزوم‌ها در پزشکی و روش‌های استفاده از آگزوزوم‌ها در مدل‌های آزمایشگاهی مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار

روش مطالعه حاضر از نوع مروری ساده است و بازه زمانی ۳ ماه (آذر تا بهمن سال ۱۳۹۷) انجام شده است. در این مطالعه از مقالات مربوط به مطالعات توصیفی و تحلیلی نمایه شده در پایگاه‌های اطلاعاتی ISI، Scopus، و Pubmed استفاده شده است. در Scientific Information Database جستجوی مقالات، کلمات کلیدی به کار برده شده شامل extracellular vesicles، MVB، ESCRT، exosome بود. معیار اولیه انتخاب مقالات، ارتباط آن با آگزوزوم‌ها و وجود یکی از کلیدواژه‌ها بود. به‌طور کلی در این بررسی مجموعه مقالات مطالعه شده شامل ۱۴۵ مقاله می‌شد که در نهایت ۱۱۸ مقاله برای این منظور مناسب در نظر گرفته شد (شکل ۱). معیارهای ورود یا خروج مطالعات شامل موارد زیر بود: ۱- مقاله‌ها در بازه زمانی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۸ باشند. ۲- مقالات از نوع تحقیقی و مروری باشند. ۳- مقالات دارای متن کامل و قابل دسترس باشند.

اندازه و منشأ دسته‌بندی می‌شوند (۶). آگزوزوم‌ها کوچک‌ترین عضو این خانواده بوده و از طریق مسیر اندوسیتوز ساخته می‌شوند. مولکول‌های متعددی در ساخته شدن، انتقال داخل سلولی و ترشح آن‌ها درگیر هستند. مکانیسم‌های متعددی در ساخته شدن و بارگیری آن‌ها شناسایی شده است (۶). این وزیکول حاوی انواع مولکول‌های زیستی مثل پروتئین، اسید نوکلئیک و لیپید هستند و به دنبال آزاد شدن به محیط خارج سلولی به سلول‌های هدف می‌رسند. به دلیل اینکه این وزیکول‌ها حاوی مولکول‌های زیستی هستند، بعد از رسیدن به سلول‌های هدف موجب تغییرات در سرنوشت و عملکرد آن سلول‌ها می‌شوند (۷). محققین بر این باورند که آگزوزوم‌ها می‌توانند در زمینه‌های پزشکی مثل نشانگرهای زیستی، حامل‌های زیستی و ژن درمانی مورد استفاده قرار گیرند (۸). استفاده از آگزوزوم‌ها در کارآزمایی‌های بالینی در حال افزایش است و محققین در این زمینه سعی دارند رفتار و زیست‌شناسی آگزوزوم‌ها را در شرایط پاتولوژیک در بیماران مورد مطالعه قرار دهند. به‌طور کلی جهت‌گیری مطالعات در این آزمایش‌ها به سمت استفاده از آگزوزوم‌ها به‌عنوان نشانگر زیستی و حامل دارو در بیماری‌های مختلف به‌خصوص سرطان است (۹). در این مقاله مروری ما به بررسی مولکولی مسیر ترشحی آگزوزوم‌ها می‌پردازیم. علاوه بر این



شکل (۱): استراتژی جستجو در پایگاه‌های منتخب بین سال‌های ۲۰۰۰-۲۰۱۸ و شناسایی مقالات نهایی

وزیکول‌ها، مولکول‌های زیستی فراوانی مثل پروتئین، DNA، انواع RNA و لیپید حمل می‌کنند و به‌عنوان حامل‌های زیستی شناخته شده‌اند (۱۰، ۱۱). دانشمندان ۳ نوع وزیکول خارج سلولی بر اساس منشأ، نحوه ساخته شدن و اندازه تعریف کرده‌اند (۶): (۱) آگزوزوم‌ها (۲) میکرووزیکول‌ها و (۳) اجسام آپوتوزی. آگزوزوم‌ها منشأ اندوزومی

وزیکول‌های خارج سلولی:

وزیکول‌های خارج سلولی جمعیتی ناهمگنی از وزیکول‌های کوچک دولایه فسفولیپیدی هستند که از سلول‌های مختلف بدن مثل سلول‌های ایمنی، گلبول‌های قرمز، پلاکت، سلول‌های سرطانی، سلول‌های بنیادی و سایر سلول‌های بدن ترشح می‌شوند. این

ترومبوز است (۱۳، ۱۴). این یافته‌ها نشان می‌دهد که میکرووزیکول‌ها از نظر اندازه و محتوا ناهمگن بوده و شناسایی و جداسازی جمعیت ویژه‌ای از میکرووزیکول‌ها می‌تواند یک هدف مهم در مطالعه عملکرد و زیست‌شناسی وزیکول‌های خارج سلولی باشد. اجسام آپوپتوزی (ABs)^۳ بزرگ‌ترین وزیکول‌های خارج سلولی از نظر اندازه هستند. این اجسام به صورت قطعات و تکه‌های سلولی از سلول‌های در حال آپوپتوز آزاد می‌شوند. پروتئین ROCK-1^۴ در تشکیل این اجسام ۱-۵ میکرومتری نقش دارد. مطالعات روی تشکیل ABs نشان می‌دهد که پروتئین کاسپاز ۳ موجب فعال شدن پروتئین ROCK-1 می‌شود که آن هم به نوبه خود زنجیره سبک میوزین را فسفریله می‌کند و موجب کنده شدن قطعات سلول می‌گردد (۱۵). فسفریله شدن زنجیره سبک میوزین و به دنبال آن فعالیت ATPase این زنجیره موجب القای واکنش سیتواسکتون اکتین-میوزین شده و در نهایت هسته یکنواختی خود را از دست می‌دهد. این عمل در برگشت موجب شکست در کروموزوم‌ها و تکه شدن DNA و بسته بندی شدن این قطعات در اجسام آپوپتوزی می‌شود. این اجسام ممکن است حاوی اندامک‌ها و قطعات DNA و هیستون باشد. از آنجایی که ABs حاوی انواع پروتئین، DNA و miRNA هستند می‌توانند در ارتباطات سلولی و گسترش بیماری نقش داشته باشند. اجسام آپوپتوزی سلول‌های اندوتلیال غنی از سایتوکین IL- α هستند که می‌توانند ترشح کموکاین‌ها تقویت کرده و موجب بروز التهاب گردند. علاوه بر این مشخص شده است که ABs نقش مهمی در فاگوسیتوز از طریق ارائه یک سری سیگنال‌ها دارند بنابراین از القای نکروز جلوگیری می‌کنند (۱۶). مقایسه این وزیکول‌ها در جدول ۱ آمده است (۶، ۱۳).

دارند که از اندوزوم ثانویه به صورت وزیکول‌های داخل لومن تشکیل شده و در نهایت با ترکیب اندوزوم ثانویه با غشای پلاسمایی آزاد می‌شوند. این وزیکول‌ها حاوی DNA، mRNA، microRNA و سایر RNA های غیرکد شونده، پروتئین‌های سیتوپلاسمی و غشایی و لیپید هستند و اندازه آن‌ها بین ۳۰-۱۲۰ نانومتر است. میکرووزیکول‌ها (MVs)^۱ یا وزیکول‌های ریزشی جمعیت ناهمگنی از EVs هستند که اندازه ۱۰۰-۱۰۰۰ نانومتر دارند. این وزیکول‌ها به صورت جوانه زدن و کنده شدن از سطح غشای سلول‌ها به محیط خارج سلولی آزاد می‌شوند. این مکانیسم تشکیل مشابه مرحله برش در سیتوکینوسیز^۲ است (۱۲). علاوه بر این، نحوه تشکیل MV در مشابه بیرون زدن ویروس از سلول است. بسیاری از سلول‌ها از جمله سلول‌های اندوتلیالی، پلاکت‌ها و اریتروسیت‌ها MV آزاد می‌کنند. اعتقاد بر این است که MVs در پاسخ به محرک آزاد می‌شوند ولی اگزوزوم‌ها در حالت پایه و ذاتی نیز آزاد می‌شوند (۶، ۱۲). مشاهدات نشان می‌دهد که این وزیکول‌ها به طور فعال به آنکسین V متصل می‌شوند و غشای آن‌ها غنی از فسفاتیدیل سرین است. Larson و همکاران نشان دادند که بعضی از این MVs به آنکسین V متصل نمی‌شوند و بعضی از آن‌ها غنی از فسفولیپید هستند (۱۳). مطالعات نشان می‌دهد که MVs همراه با اگزوزوم‌ها در سیگنالینگ‌های متعدد سلولی نقش دارند و این ذرات از طریق یک سری مکانیسم‌های منظمی مولکول‌های زیستی فراوانی را منتقل می‌کنند. محتویات MVs در پاسخ به محرک‌ها تغییر پیدا می‌کند. برای مثال در شرایط پیش ترومبوز پلاکت‌ها میکرووزیکول‌هایی با اندازه بزرگ‌تر آزاد می‌کنند که حاوی فاکتورهایی برای فعال کردن سلول‌های اندوتلیال هستند. بعد از گسترش ترومبوز، پلاکت‌ها میکرووزیکول‌هایی آزاد می‌کنند که حاوی فاکتورهایی برای حذف

جدول (۱): مقایسه ویژگی‌های وزیکول‌های خارج سلولی

نوع وزیکول	منشأ	اندازه	مارکر	محتوا	مورفولوژی	روش استخراج
اگزوزوم	از طریق جوانه زدن به سمت داخل غشای MVB / اندوزوم ثانویه	۳۰-۱۰۰ نانومتر	CD9, CD63, CD81, Tsg101, Alix, Hsp60, Hsp70, Hsp90	پروتئین، لیپید mRNA, miRNA, double-stranded DNA	جامی شکل	سانتریفیوژ متوالی با گرادینت سوکرز و اولتراسانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰-۲۰۰۰۰ g
میکرووزیکول	به طور ریزشی از غشای پلاسمایی سلول	۱۰۰-۱۰۰۰ نانومتر	لیپید رفت‌ها و مولکول‌های TF و flotillin	پروتئین، لیپید miRNA mRNA	شکل نامنظم	سانتریفیوژ با دور ۱۸۰۰۰-۲۰۰۰۰ g

3 Apoptotic Body

1 Microvesicles

4 Rho-Associated Kinase-1

2 Cytokinesis

اجسام آپوتوزی	از سلول‌های آپتوز شده	۵-۱ میکرومتر	بیان PS	پروتئین، اندامک، قطعات DNA و microRNA	شکل نامنظم	سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰g-۴۰۰۰g
---------------	-----------------------	--------------	---------	---------------------------------------	------------	-------------------------------

اگزوزوم‌ها:

مختلف پردازش شده و به سطح بیرونی غشای سلولی منتقل می‌شوند. به‌عنوان مثال، در سلول‌های دندریتی نابالغ، وزیکول‌های داخلی در MVB ها به‌عنوان محل‌های موقت ذخیره مولکول‌های MHC نوع II عمل می‌کنند. پس از فعال سازی سلول، این وزیکول‌ها از طریق بازترکیب با غشا، به سطح غشای پلاسمایی می‌رسند (۲۸). اگزوزوم‌ها با کلاسترول، سرامید، انواع فسفوگلیسرید ها و اسفنگولیپیدها، لیپیدها و برخی از مولکول‌های مرتبط با سیگنالینگ مانند پروتئین کینازها، G پروتئین‌ها، Rab پروتئین‌ها، همچنین اکتین، توبولین (Tubulin) و آنکسین (Annexin) بارگیری می‌شوند (۲۹). به رغم پیشرفت‌های زیاد در زمینه جزئیات تشکیل اگزوزوم‌ها، هنوز مکانیسم دقیق شکل‌گیری و بارگیری اگزوزوم‌ها شناخته نشده است و این یک زمینه تحقیق در آزمایش‌های بعدی است (۳۰). بنابراین در داخل سلول MVB ها می‌توانند وارد مسیر ترشحی یا مسیر لیزوزومی شوند. ممکن است جمعیت چندگانه‌ای از MVB ها در یک نوع سلول دیده شود. برای مثال یک گروه از آن‌ها که غنی از ریزدومین‌های تتراسپانین^۴ و لیپیدهای خاص مانند کلاسترول، اسفنگومیلین و گانگلیوزید GM3 می‌باشد و حاوی چگالی کم از اسید lysobisphosphatidic و مقاوم به شست و شو است مسیر ترشحی را طی می‌کند و نوع دیگر که حاوی مقدار کمی کلاسترول اما مقدار زیاد اسید lysobisphosphatidic است با لیزوزوم ادغام می‌شود (۳۱). مکانیسم تشکیل اگزوزوم در MVB شامل ورود پروتئین‌ها و لیپیدهای معین به غشا اندوزومی و وارد کردن مولکول‌ها به ILV‌های اولیه و جداسازی ILV‌ها می‌باشد. نتایج آزمایشات مختلف نشان می‌دهد که پروتئین‌ها به درون اگزوزوم‌ها به‌وسیله دو مکانیسم وارد می‌شوند؛ مکانیسم اول وابسته به ماشین ESCRT^۵ است که در سمت سیتوزول غشای MVB واقع شده و پروتئین‌های انتقالی غشا، پروتئین‌های شبکه trans-Golgi و پروتئین‌های سطح سلول را شناسایی می‌کند و در گام بعدی، آن‌ها را یوبی کوئیتینه کرده و به داخل اگزوزوم هدایت می‌کنند (۳۲). مسیر دوم مستقل از ماشین ESCRT است (۳۳). در نهایت، اگزوزوم‌ها به‌عنوان شاتلی برای حمل

اولین بار پان، هاردینگ و همکارانش گزارش کردند که رتیکولوسیت‌های پستانداران در زمان تمایزشان نانوزیکول‌هایی ترشح می‌کنند. در ابتدا، تصور می‌شد که ترشح این وزیکول‌ها یک پاسخ جبرانی سلولی برای بیرون انداختن مواد زائد وارد شده مانند گیرنده‌های انتقالی است (۱۷). از آن به بعد اصطلاح "اگزوزوم" به‌طور معمول برای وزیکول‌های چندگانه^۱ که به‌صورت وزیکول‌های خارج سلولی ترشح می‌شوند، استفاده شد (۱۸). آزمایشات *in vitro* نشان می‌دهد که انواع مختلفی از سلول‌های پستانداران اگزوزوم ترشح می‌کنند (۱۹، ۲۰). اگزوزوم‌ها در فضای داخل سلولی و مایعات زیستی نظیر پلاسما، مایع آمنیوتیک، مایع مفصلی، مایع مغزی نخاعی، ادرار، بزاق، شیر مادر، مایع آلونولی و حتی صفرا یافت می‌شوند (۲، ۲۱-۲۳). در شرایط عادی یا غیر طبیعی، فعالیت زیستی و کنیتیک اگزوزوم‌ها می‌تواند متفاوت باشد. برای مثال هرگونه تغییر در مقدار کلسیم سیتوزول در ماست سل‌ها در میزان ترشح اگزوزوم در شرایط واکنش حساسیتی شدید، مانند آنچه در رده سلولی K562 انسان دیده می‌شود، مؤثر است (۲۴). همان‌طوری که گفتیم وزیکول‌های ترشحی سلول به سه نوع تقسیم می‌شوند: میکرووزیکول‌ها، اجسام آپوتوزی و اگزوزوم‌ها (۶). میکرووزیکول‌ها و اجسام آپوتوزی شامل جمعیت ناهمگن شکل از واکوئل‌ها هستند، درحالی‌که اگزوزوم‌ها با مورفولوژی جامی شکل و یا با اندازه مشخص خود در زیر میکروسکوپ الکترونی دیده می‌شوند (۲۵). شواهد فراصوت تأیید کرده است که اگزوزوم‌ها به وسیله تجزیه واکوئل اندوسیتوزی و در داخل جسم چندگانه وزیکولی (MVB^۲) یا اندوزوم جدید که حاوی وزیکول‌های داخلی (ILVs^۳) است، ایجاد می‌گردند (۲۶) (شکل ۲). ILVs از طریق جوانه زدن بخشی از غشای MVBS به درون لومن آن به وجود می‌آیند. MVB تشکیل شده دو سرنوشت اصلی دارد. اول اینکه با لیزوزوم ادغام شده و بار خود را تخریب می‌کند و یا از راه دوم و با ترکیب شدن با غشا سلولی ILVs خود را به محیط خارج سلولی ترشح می‌کنند (۳)، (شکل ۲). علاوه بر این، یک راه دیگر در داخل سلول‌های ارائه کننده آنتی ژن مشاهده شده است. در این مسیر آنتی‌ژن‌های

4 Tetraspanin

5 Endosomal Sorting Complexes Required For Transport

1 Multivesicular Bodies

2 Multivesicular Body

3 Intreluminal Vesicles

ESCRT-III و مولکول‌های مختلف دیگر است. هر کدام از ماشین‌ها متشکل از زیرمجموعه‌های مختلف است که در سمت سیتوزول غشای اندوزومی قرار دارند (جدول ۲). واکنش کمپلکس ESCRT-0 با ۳-فسفات فسفاتیدیل اینوزیتول لیپید، که بر روی غشای اندوزومی قرار دارد، ماشین ESCRT را فعال می‌کند و آن را به پروتئین‌های ubiquitlated متصل می‌کند. سپس، ESCRT-0 اجزای ESCRT-I را بکار می‌گیرد و منجر به فراخوان مونومرهای ESCRT-II می‌شود. به هم پیوستن II و ESCRT-I آغاز کننده جوانه زدن به سمت داخل از غشا MVB است. نزدیک محل خم شدن غشای ILV در حال تشکیل، ESCRT-II اجزا ESCRT-III را فعال می‌کند. در نهایت با استفاده از آنزیم ATPase، پروتئین ubiquitin و زیر مجموعه‌های ESCRT جدا می‌شوند، اما برخی از اجزا ESCRT و پروتئین‌های جانبی مثل ۱۰۱^۱TSG، HRS^{۱۰} و ALIX در اگزوزوم‌های باقی می‌مانند (۳۸، ۳۹).

بارهای خاص به سلول‌های هدف عمل می‌کنند. بنابراین، اگزوزوم‌ها بر وقایع طبیعی زیستی و وقایع آسیب شناختی اثر می‌گذارند (۳۴).

مکانیسم وابسته به ESCRT:

نقش ماشین ESCRT در تولید ILVها در اوایل متن توضیح داده شده است (جدول ۲) (۳۵). بسیاری از آزمایشگاه‌ها مکانیسم‌های مختلف مثل انتخاب بار، جوانه زدن و تخلیه وزیکول‌ها از طریق روش siRNA نشاندار شده و آزمایشات مهار shRNA بررسی کرده‌اند (۳۶، ۳۷). مطالعات نشان می‌دهد که از دیدگاه مولکولی اجزا ESCRT در تشکیل MVBها و ILVها نقش دارند. ESCRT حاوی حدود ۲۰ پروتئین مختلف است که به چهار مجموعه تقسیم می‌شود. علاوه بر این، VPS4^۶، VTA1^۷ و ALIX^۸ با این مجموعه‌های پروتئینی همراه هستند (۳۸). هر چهار مجموعه در سیر تکاملی ILVها شرکت دارند. ماشین ESCRT ساختار پیچیده‌ای از ESCRT-0، ESCRT-I، ESCRT-II و

جدول (۲): اجزای ماشین ESCRT

عملکرد	زیر مجموعه‌ها	کمپلکس
دسته‌بندی کردن کالاها به شیوه وابسته به ubiquitin پروتئین	HRS STAM1	ESCRT-0
پیوستن به پروتئین ubiquitin و ماشین ESCRT-0 و تحریک تشکیل جوانه	Tsg101 Vps28 Vps37 Mvb12	ESCRT-I
پیوستن به پروتئین ubiquitin و ماشین ESCRT-I و تحریک تشکیل جوانه	Vps36 Vps22 2Vps25	ESCRT-II
تحریک تقسیم وزیکولی	Vps20 Vps32 Vps24 Vps2	ESCRT-III
تجزیه و بازیافت ماشین ESCRT	Vps20 Vps32	پروتئین‌های فرعی

مکانیسم‌های مستقل از ESCRT:

9 Tumor susceptibility gene 101

10 Hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate

6 Vacuolar protein sorting-associated protein

7 vesicle trafficking 1

8 ALG-2-interacting protein X

تجمع کلاسترول ناشی از جهش ژنتیکی یا دارویی، باعث افزایش انتشار وزیکول‌های حامل فلوتیلین-۲، ALIX، CD63 و کلاسترول در سلول‌های الیگوندندروگلیا می‌شود که این ویژگی نقش کلیدی مکانیسم وابسته به فلوتیلین-۲ را تأیید می‌کند (۵۰). تحقیقات نشان داد که یکی دیگر از مولکول‌های ضروری در سیر تکاملی آگزوزوم‌ها، فسفولیپاز D2 است، که فسفاتید اسید (PA) را از فسفاتیدیل کولین تولید می‌کند. به نظر می‌رسد که فسفاتید اسید مانند سرامید عمل می‌کند (۵۰). تخریب پروتئولید پروتئین ۲ با siRNA CAY10594، ترشح آگزوزوم در رده سلولی MCF-7 را پس از درمان با siRNA یا CAY10594 کم می‌کند در حالی که القاء پروتئولید پروتئین ۲ در سلول‌های RBL-2H3 نشان‌دهنده افزایش ترشح آگزوزوم از مسیر وابسته به PLP2 است (۵۱).

کنترل انتقال و ترکیب MVB با غشای پلاسمایی:

تحقیقات مولکولی در رابطه با انتقال و ترشح آگزوزوم نشان‌دهنده نقش قابل‌توجه خانواده پروتئین Rab است (۵۲) (شکل ۲). پروتئین‌های Rab توانایی کنترل جابجایی وزیکول‌ها در مسیرهای اندوسیتوزی و ترشحی با به کار گرفتن افکتورهای پروتئینی خاص بر روی سطح غشا، تحریک اندام یا کوتاه کردن وزیکول در غشاهای هدف از طریق تعامل با اسکلت سلولی یا اتصال به قسمت گیرنده غشا را دارند. بیش از ۶۰ پروتئین Rab در انسان شناسایی شده است که هر کدام ترجیحاً با یک مسیر داخل سلولی همکاری می‌کنند (۵۳). در مرحله نهایی به نظر می‌رسد که پروتئین‌های SNARE^۱ ترکیب MVB ها با غشا پلاسمایی را وساطت می‌کنند. SNARE خانواده‌ای از پروتئین‌ها هستند که ادغام وزیکول‌ها را تنظیم می‌کنند (۵۴). در فرایند ادغام غشا، SNARE های وزیکولی (v-SNAREs) که در MVB ها مستقر شده‌اند، با SNARE های هدف که در سمت داخل سلولی غشا پلاسمایی هستند ارتباط برقرار می‌کنند و یک کمپلکس SNARE را تشکیل دهند (۵۵) (شکل ۲). حضور پروتئین‌های SNARE مانند SNAP-23، VAMP-7 و VAMP-8 در ترکیب کنترل شده با Ca^{2+} از لیزوزوم های ترشحی با PM در انواع سلول‌های مختلف گزارش شده است (۵۶). با این حال، نقش کلیدی پروتئین‌های SNARE در آزاد شدن آگزوزوم‌ها خیلی کم مورد مطالعه قرار گرفته است. Fader و همکاران نشان دادند که VAMP-7 به‌عنوان یک v-SNARE در ترکیب MVB ها با غشای پلاسمایی در آزاد کردن وزیکول‌های خارج سلولی حامل استیل کولین استراز در رده سلولی K562 نقش دارد (۵۷). به نظر می‌رسد که SNARE های مختلفی در فرایند ادغام غشای MVB با غشای

محققان متعددی نشان داده‌اند که محموله‌های آگزوزوم می‌تواند از طریق مکانیسم مستقل از ESCRT بارگیری شود. برای مثال، استافر و همکارانش نشان دادند که تخریب چهار زیرمجموعه از کمپلکس ESCRT بر میزان تشکیل CD63 های MVE تأثیر نمی‌گذارد (۴۰). مشخص شده است که سلول‌های الیگوندندروگلیالی، پروتئین‌های پروتئولید ترشح می‌کنند که وابسته به عملکرد ESCRT نیست، بلکه وابسته به اسفنگومیلیناز، آنزیمی که سرامید ها را می‌سازد، است. در این سلول‌ها، مهار اسفنگومیلیناز منجر به اختلال در سیر تکامل سرامید و کاهش قابل‌توجهی در ترشح آگزوزوم‌ها می‌شود. سرامید برای ایجاد خمیدگی در غشاء MVB ها و برای تولید ILV لازم است (۴۱). برعکس، بعد از مهار فعالیت اسفنگومیلیناز در سلول‌های ملانوم انسان، MVB ها بدون نیاز به مکانیسم وابسته به تتراسپانین CD63 بدون وقفه تولید می‌شوند (۴۲). بنابراین، مسیر ترکیبی از آگزوزوم‌ها، مسیر اندولیزوزومال نامیده می‌شود. تشکیل آگزوزوم‌ها به شدت وابسته به سرامید است، چون ساخت، بارگیری و آزاد سازی آگزوزوم‌ها عمدتاً به‌وسیله سرامید های تولید شده در نتیجه فعالیت اسفنگومیلیناز انجام می‌شود (۴۳). همزمان، ادگار و همکاران تأیید کردند که CD63 نقش مهمی در شکل گیری MVB ها در بسیاری از سلول‌ها مانند آنچه در سلول‌های HeLa دیده شد، دارد (۴۴). پیش از این معلوم شده بود که در سلول‌های ملانوسیتی، ورود PMEL (پروتئین ملانوزومی) به ILV ها نیاز به پروتئین ubiquitination و زیرمجموعه‌های ESCRT مانند TSPAN8 ندارد. این تتراسپانین می‌تواند هر دو نسخه پروتئین رونوشت و غشایی را از اینتگرال های VCAM-1 و $\alpha 4$ درون آگزوزوم‌های ترشحی به‌وسیله سلول‌های آدنوکارسینوما ی پانکراس موش اصلاح کند (۴۴، ۴۵). پروتئین‌های تتراسپین شامل CD9، CD63، CD81 و CD82 و پروتئین‌های شوک گرمایی مانند HSP70 و HSP90 هستند که در اکتوزوم ها قرار دارند و گاهی به‌عنوان نشانگرهای این ساختارها استفاده می‌شوند. به دلیل عملکرد احتمالی آن در ارائه آنتی ژن، بسیاری از آگزوزوم‌ها دارای مولکول‌های MHC کلاس I و II هستند (۴۶). به‌طور مشابه، القاء CD82 و CD9 در سلول‌های HEK293 باعث ترشح آگزوزوم حامل β -کاتنین در روش وابسته به سرامید می‌شود (۴۷). بعضی از متخصصین، نقش اساسی سرامید در سیر تکامل آگزوزوم در سلول‌های سرطانی را تأیید کرده‌اند (۴۸). پیشنهاد شده است که سرامید می‌تواند درهم آمیختگی میکرودمین های کوچک به درون دومین‌های بزرگ را القا کند و باعث تحریک جوانه زدن شود (۴۹).

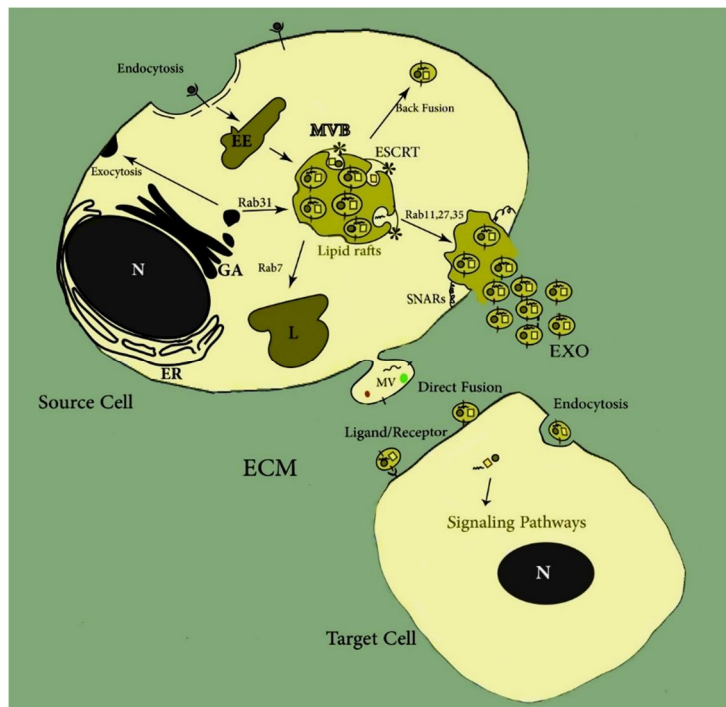
1 Soluble NSF Attachment Protein Receptor

سلولی بدون وارد شدن به داخل سلول از طریق مولکول‌های سطحی با مولکول‌های سطحی غشای سلول هدف واکنش می‌دهند. برای مثال وزیکول‌های خارج سلولی مشتق شده از سلول‌های دندریتی در سطح خود مولکول ICAM-1 دارند که به مولکول LFA1-R در غشای سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن متصل می‌شود و سیگنالینگ سلولی را آغاز می‌کند (۲۷) و یا لنفوسیت‌های T را فعال می‌کند (۲۷، ۲۸). در نهایت در مسیر ادغام مستقیم لایه‌های فسفولیپیدی غشاهای سلول و وزیکول‌های خارج سلولی باهم ادغام می‌شوند و وزیکول‌ها محتویات خود را به سیتوپلاسم سلول آزاد می‌کنند. این مسیر مشابه ادغام غشاها است و پروتئین‌های مختلفی مثل Rab-GTPase و SNARs نقش دارند (۲۶، ۵۸). بنابراین شناسایی روش‌های جذب EVs می‌تواند در طراحی سیستم‌های دارورسانی کمک کننده باشد.

پلاسمایی درگیراند و هنوز مشخص نیست که آیا پروتئین‌های SNARE یکسان در سلول‌های مختلف با MVB های مختلف درگیر اند یا نه.

روش‌های جذب وزیکول‌های خارج سلولی:

بعد از اینکه وزیکول‌های خارج سلولی به محیط خارج سلولی آزاد شدند توسط یک سری مکانیسم‌هایی به سلول‌های هدف می‌رسند و محتویات خود را آزاد می‌کنند. به دلیل ناهمگونی در وزیکول‌های خارج سلولی و نوع سلول‌های هدف، دانشمندان ۳ روش جذب برای آن‌ها در نظر گرفته‌اند (شکل ۲) (۱) مسیر داخل شدن (۲) مسیر واکنش رسپتور-لیگاند (۳) مسیر ادغام مستقیم (۲۴). در مسیر داخل شدن سلول‌های هدف وزیکول‌های خارج سلولی را از طریق مسیرهای اندوسیتوزی مثل اندوسیتوز وابسته به کلاترین، کاولین^۲، ماکروپینوسیتوز^۳، فاگوسیتوز و خم شدگی لیپید رفت‌ها دریافت می‌کنند. در مسیر واکنش رسپتور-لیگاند وزیکول‌های خارج



شکل (۲): نحوه تشکیل، ترشح و جذب آگزوزوم. آگزوزوم‌ها از طریق جوانه زدن به سمت داخل MVB تشکیل می‌شوند. آگزوزوم‌ها از طریق هر دو مسیر وابسته به ESCRT و غیر وابسته به ESCRT ساخته می‌شوند. محتویات آگزوزوم‌ها از مسیر اندوسیتوز، دستگاه گلژی و محصولات داخل سیتوپلاسم تأمین می‌شود. Rab پروتئین‌ها انتقال داخل سلولی MVB و اقباط آن را میانجگری می‌کنند. MVB براساس ترکیبات غشای خود و یا به سری مکانیسم‌های ناشناخته می‌تواند مسیر ترشحی، لیزوزومی و ادغام مستقیم را انتخاب کند. آگزوزوم‌ها بعد از ترشح می‌توانند از طریق ۳ مسیر (۱) اندوسیتوز (۲) لیگاند-رسپتور و (۳) ادغام مستقیم به سلول هدف برسند. بعد از رسیدن آگزوزوم‌ها به سلول هدف موجب تغییرات در عملکرد، رشد، سرنوشت، مورفولوژی می‌شوند. MVBs به صورت جوانه زدن و ریزشی از غشای سلول‌ها آزاد می‌شوند.

ECM: Extracellular Matrix; EE: Early Endosome; ER: Endoplasmic Reticulum; EXO: Exosome; GA: Golgi Apparatus; L: Lysosome; MV: Microvesicle; MVB: Multivesicular Body; N: Nucleus

اگزوزوم‌ها و اهداف درمانی:

درمانی بررسی شده است. برای مثال پیوند MSCs موجب بهبودی و بازسازی استخوان در مدل‌های حیوانی می‌شود (۶۹). علاوه بر مدل‌های حیوانی، اثرات درمانی این سلول‌ها در درمان بیماری استئوئوسیز ایمپرکتا^۴ در کودکان به اثبات رسیده است (۵). بنابراین MSCs نقش بسیار مهمی در ترمیم و بازسازی بیماری‌ها و ضایعات استخوان دارند (۷۰). علاوه بر این، در مدل‌های حیوانی انفارکتوس قلب و ضایعه مغزی مشخص شده است که این سلول‌ها به محل زخم مهاجرت کرده و بازسازی بافت را انجام می‌دهند (۷۱، ۷۲). با این حال، بررسی نشان می‌دهد که زمانی که این سلول‌ها تزریق شوند، تعدادی کمی از آن‌ها به محل هدف می‌رسند و بیشتر آن‌ها در مویرگ‌های شش به دام می‌افتند (۷۳) و همچنین اثرات درمانی این سلول‌ها کوتاه مدت است (۷۴، ۷۵). مشاهدات نشان می‌دهد که مکانیسم‌هایی به‌غیر از تمایز و جایگزینی مستقیم سلول‌های بنیادی تزریق‌شده به بافت‌های آسیب‌دیده، نقش اساسی در ترمیم اندام ایفا نماید (۷۶)، که این مکانیسم‌های جایگزین اغلب تحت عنوان اثرات پاراکرین شناخته می‌شود و عامل اثرات مثبت سلول درمانی در نظر گرفته می‌شوند (۷۷). این دیدگاه کاملاً با این حقیقت سازگاری دارد که سلول‌های زنده در اندام‌ها از طریق مکانیسم‌های سلول-سلول و سلول-ماتریکس خارج سلولی و همچنین با مولکول‌های شیمیایی خارج سلولی که سلول ترشح می‌کند ارتباط برقرار می‌کنند (۷۸). این عوامل آزادشده ممکن است بر موارد زیر تأثیر بگذارد: الف- بر همان سلولی که مولکول را تولید کرده است (سیگنال‌دهی اتوکراین)، ب- بر سلول‌های هدف در فاصله نزدیک (سیگنال‌دهی پاراکراین) یا ج- بر سلول‌های هدف در فاصله دور (سیگنال‌دهی اندوکراین) (۷۸، ۷۹).

شواهد روزافزون نشان می‌دهد که اثرات پاراکراین در حقیقت نقش عمده‌ای در سلول درمانی در زمینه پزشکی بازساختی ایفا می‌کند که در آن سلول‌های بنیادی و یا سلول‌های پیشساز متمایزتر برای ترمیم اندام‌های آسیب‌دیده از جمله قلب، کلیه یا بافت‌های عصبی استفاده می‌شود (۷۶). سلول‌های بنیادی سیتوکین‌ها، کموکین‌ها، فاکتورهای رشد بسیار و سایر مولکول‌های کوچک زیست-فعال که فعالیت و عملکرد سلول‌ها را به روش اتوکراین و پاراکراین تنظیم می‌کند را ترشح می‌کنند (۷۹). در این راستا، سلول‌ها علاوه بر تولید سیتوکین‌های مختلف، انواع بیومولکول‌های

مطالعات گذشته نشان می‌دهد که سلول درمانی یا پیوند سلول بنیادی منجر به بروز اثرات مفید در محل پیوند می‌شود. این اکتشافات راهی را برای کاربرد سلول‌های بنیادی در پزشکی گشوده و در چند دهه گذشته پیشرفت کرده است (۵۹). یکی از آشناترین و رایج‌ترین کاربردهای سلول‌های بنیادی در زمینه سلول درمانی، پیوند سلول‌های بنیادی خون ساز^۱ به مغز استخوان است. سلول‌های بنیادی خون ساز از بخش استیج ایلیاک استخوان لگن و نیز از گردش خون قابل استخراج هستند. این سلول‌ها قابلیت خودنوزایی و تقسیم و تمایز به سایر رده‌های سلول‌های خونی را دارند. در این زمینه سالانه حدود ۲۵۰۰ مورد پیوند سلول‌های بنیادی خون ساز برای درمان بیماری‌هایی مثل لنفوما، لوکمیا، بیماری‌های نقض سیستم ایمنی، نقض‌های متابولیکی مادرزادی^۲، هموگلوبینوپاتی^۳ و سندروم بیش تکثیری مغز استخوان^۴ در دنیا به‌صورت اتولوگ و آلوژنیک انجام می‌گیرد (۶۰).

علاوه بر این، استفاده از سلول‌های بنیادی مثل سلول‌های بنیادی/پیشساز مزانشیم، سلول‌های تک هسته‌ای مغز استخوان و سلول‌های بنیادی قلبی برای پیوند در اندام‌های مختلف از جمله سیستم قلبی عروقی انجام شده است (۶۱-۶۳). برای مثال Orlic و تیم تحقیقاتی‌اش نشان دادند که وقتی سلول‌های بنیادی مغز استخوان c-kit⁺ را به‌طور آلوژنیک به داخل بافت قلب موش‌های دچار انفارکتوس تزریق شوند، موجب بازسازی ماهیچه قلب و بهبودی عملکرد قلب می‌شوند (۶۴). بعد از آن محققان اثرات مفید سلول درمانی را در مطالعات بالینی در بیماران دچار بیماری‌های قلبی عروقی نشان دادند (۶۵، ۶۶). در زمینه درمان بیماری‌های عصبی با سلول‌های بنیادی مطالعات زیادی به‌صورت آزمایشگاهی و بالینی انجام گرفته است. در این مطالعات از سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های بنیادی عصبی، سلول‌های بنیادی مزانشیم و سلول‌های بنیادی چندتوان القایی برای درمان بیماری‌هایی مثل پارکینسون، هانگینتون و آلزایمر استفاده شده است (۶۷). با این حال برخی مشکلات مثل ملاحظاتی اخلاقی، ایمنی زایی، خطر تومورزایی، و تشکیل سلول‌های ناخواسته در این زمینه وجود دارد (۶۸). سلول‌های بنیادی مزانشیم (MSCs)^۵ یک نوع دیگر از سلول‌های بنیادی هستند که اثرات درمانی آن‌ها در مطالعات سلول

4 Myeloproliferative Syndromes

5 Mesenchymal Stem Cells

6 Osteogenesis Imperfecta

1 Hematopoietic Stem Cell

2 Congenital Metabolic Defects

3 Hemoglobinopathies

زیستی را در قالب وزیکول‌های اگزوزومی برای برقراری ارتباط با سایر سلول‌ها و همچنین اثر بر فرایندهای زیستی به فضای خارج سلولی ترشح می‌کنند. همان طوری که اشاره شد اگزوزوم‌ها حاوی انواع مختلف پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و چربی هستند و می‌توانند در سراسر بدن انتشار یابند (۸۰). علاوه بر این، مطالعات گذشته نشان داده‌اند که اگزوزوم‌های سلول‌های بنیادی مثل سلول‌های بنیادی مزانشیم اثرات مفیدی در درمان بیماری‌های مختلف دارند و به جای سلول درمانی می‌توان از اگزوزوم درمانی استفاده کرد (۸۱). این ویژگی‌های اگزوزوم توجه محققین در زمینه نانو تکنولوژی پزشکی را به خود جلب کرده است و دانشمندان را به استفاده از اگزوزوم درمانی به جای سلول درمانی ترغیب کرده است

(۸۲). به‌طور کلی مطالعات در زمینه کاربرد اگزوزوم‌ها بیشتر به کاربرد اگزوزوم‌ها به‌عنوان نشانگر زیستی و به‌عنوان حامل عوامل درمانی در پیش‌بینی و درمان بیماری‌های مختلف مثل انواع سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی، بیماری‌های کلیوی، بیماری‌های کبد و متابولیکی، بیماری‌های شش، ناهنجاری‌های سیستم ایمنی، بیماری‌های استخوان و بیماری‌های عصبی متمرکز شده است. باید توجه داشت که بیشتر مطالعات کاربرد درمانی اگزوزوم‌ها در مراحل اولیه و پاراکلینیکی است و این مطالعات در مدل‌های حیوانی و *in vitro* در حال بررسی است (۹، ۸۳). جدول ۳ کاربرد اگزوزوم‌ها را به‌صورت طبقه بندی شده نشان می‌دهد.

جدول (۳): طبقه بندی کاربردهای اگزوزوم‌ها

منبع	مدل‌های بیماری	کاربرد اگزوزوم‌ها
(۸۴، ۸۳)	انواع بیماری‌های سرطان و غیر سرطان	نشانگر زیستی
(۹)	سرطان سروگردن، سرطان پستان، سرطان کبد، سرطان گلیوبلاستوما، بیماری آلزایمر، نارسایی قلب و بیماری التهاب	حامل عوامل دارویی
(۸۵)	انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های زخم، بیماری‌های استخوان، بیماری‌های کلیوی، بیماری‌های متابولیکی، بیماری‌های عصبی	اگزوزوم درمانی

دانش کاربرد درمانی و بالینی اگزوزوم‌ها در حال افزایش است و شامل استفاده از اگزوزوم‌ها به‌عنوان نشانگر زیستی بیماری‌های مختلف می‌باشد. همچنین اگزوزوم‌ها می‌توانند به‌عنوان حامل عوامل درمانی در درمان بیماری‌ها در کارآزمایی‌های بالینی به کار روند. در این راستا، با جستجوی کلمه کلیدی اگزوزوم در پایگاه کارآزمایی‌های بالینی (<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=exosome&cntry=&state=&city=&dist=> تا ماه April سال ۲۰۱۹

تعداد ۹۹ مطالعه در رابطه با اگزوزوم‌ها ثبت شده است. از میان مطالعات ثبت شده بیشترین تعداد (۵۲ مطالعه) در رابطه با مطالعات پایه‌ای در زمینه زیست‌شناسی اگزوزوم‌ها است و کم‌ترین آن‌ها (به تعداد ۳) در زمینه استفاده از اگزوزوم‌ها به‌عنوان حامل دارو ثبت شده است. نتایج آنالیز و طبقه بندی مطالعات درمانی بالینی وابسته به اگزوزوم در جدول ۴ آورده شده است. در ادامه این بخش ما به نقش کاربردی اگزوزوم‌ها در زمینه ۱- نشانگر زیستی و ۲- حامل عوامل درمانی می‌پردازیم.

جدول (۴): کاربردهای بالینی اگزوزوم‌ها

بیماری‌ها	تعداد برحسب درصد	تعداد	کاربرد اگزوزوم‌ها
بیشتر سرطان	۵۱/۵۱	۵۱	مطالعات پایه‌ای
بیشتر سرطان	۳۸/۳۸	۳۸	نشانگر زیستی
سکته مغزی، زخم، سندرم تخمدان پلی کیستیک، عفونت، دیابت نوع ۱، بیماری شکستگی ماکولای شبکیه، سرطان سروگردن	۷/۰۷	۷	درمانی
سرطان	۳/۰۳	۳	حامل عوامل دارویی

اگزوزوم‌ها به‌عنوان نشانگر زیستی:

تمام مولکول‌های موجود در اگزوزوم‌ها می‌توانند به‌طور بالقوه برای تشخیص بیماری استفاده شوند. اگزوزوم‌ها منابع غنی از

محتویات اگزوزومها منحصرأً miRNA نبوده و پروتئین‌های مختلفی دارند که نشان‌دهنده شرایط سلول است. فاکتورهای رونویسی که در EVهای ادرار افراد بیمار دچار زخم حاد کلیوی (AKI) به‌عنوان نشانگر زیستی این بیماری شناخته شده‌اند (۹۲). پروتئین‌های مختلف اگزوزومها می‌توانند به‌عنوان عامل تشخیص اولیه تومورها مورد استفاده قرار گیرند (۹۳). در یک مطالعه، آنالیز پروتئومیک اگزوزومهای ادراری منجر به شناسایی هشت نشانگر زیستی پروتئینی برای غربالگری و کنترل سرطان‌های مثانه- صفراوی شد (۹۴). Jakabsen و همکاران با آنالیز پروتئینی اگزوزومهای مشتق شده از سلول‌های سرطانی شش پیشنهاد کردند که پروتئین‌های سطحی اگزوزوم مثل CD317 و EGFR می‌توانند به‌عنوان بیومارکر این سرطان در نظر گرفته شوند (۹۵). همچنین پروتئین‌هایی مثل CEA, Survivin, Survivin-2B, و Tumor antigen 15- هم به‌عنوان نشانگر زیستی در سرطان پستان معرفی شده‌اند (۹۶). بنابراین، این حقیقت که پروفایل miRNAها و پروتئین‌های اگزوزومی نشان‌دهنده پروفایل بافت منشاشان هستند می‌تواند به‌عنوان بیومارکر تشخیصی برای بیماری‌های سرطان و غیرسرطان بدون استفاده از نمونه بافت سرطانی باشد.

اگزوزومها به‌عنوان وزیکول‌های منتقل کننده دارو:

اگزوزومها می‌توانند به‌عنوان حامل دارو یا عوامل زیستی برای درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار گیرند (جدول ۳ و ۴). Shetam و همکارانش پیشنهاد کردند که ترکیب اگزوزوم و siRNA یک ابزار مفید برای دست کاری ژن هدف در جمعیت ناهمگنی از سلول‌ها است. بنابراین، استفاده از اگزوزومها به‌عنوان شاتل لیگو نوکلئوتید در محیط‌های مختلف باید دقیقاً مورد توجه قرار گیرد (۹۷). اگزوزومها به سرعت در سرتاسر مایعات زیستی بدن مانند خون، ادرار، مایع برونشیول و غیره پخش می‌شوند (۹۸). آن‌ها می‌توانند از طریق گیرنده‌ها و غشاهای پلاسمایی به داخل سلول‌های هدف وارد شوند و محموله خود را به درون سیتوپلاسم سلول‌های هدف تحویل دهند و موجب القای پاسخ‌های سلولی شوند.

برای مثال، اگزوزومهای سلول‌های ارائه دهنده آنتی ژن (سلول‌های دندریت) می‌توانند پاسخ ایمنی سلولی را با انتقال مولکول‌های MHC کلاس I و کمپلکس II به سلول‌های T و سلول‌های ایمنی تعدیل کنند (۹۷، ۹۹). در سال‌های اخیر، مطالعات مختلف نشان داده است که تحویل دارو با استفاده از اگزوزوم برای بیماری‌های مختلف مفید است. با استفاده از اگزوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین^۱ یا نانو وزیکول‌های وابسته به اگزوزوم، رشد سلول‌های سرطانی کولون و پستان با موفقیت مهار شدند (۱۰۰).

نشانگرهای زیستی بالقوه را حمل می‌کنند، ترشح اگزوزومها به فضای خارج سلولی فرصت مناسبی برای بررسی در مایعات بدن مانند خون، ادرار و آسیست بدخیم را فراهم می‌آورد (۶). اگزوزومها به‌طور گسترده‌ای در بیماران سرطان ریوی و ملانوما حضور دارند (۸۶). نقش دوگانه اگزوزومها به‌عنوان نشانگر زیستی و پیام‌رسان فرصت‌هایی به‌دست آورده که تا محققین حالت زمانی- مکانی سلولی را اندازه بگیرند و نگاه دقیق‌تری به نقش اگزوزومها در پزشکی بپردازند (۱۷). جداسازی اگزوزومها و شناسایی محتویات آن‌ها موجب شده است که از اگزوزومها به‌عنوان نشانگر زیستی برای شرایط پاتولوژیکی یا شدت یا مرحله یک بیماری استفاده کرد. اگزوزومها به‌طور گسترده در بیماری‌های سرطان به‌عنوان نشانگر زیستی استفاده می‌شوند (جدول ۳ و ۴). این مطالعات محدود به سرطان نبوده و مطالعات مشابهی در رابطه با پروتئوم اگزوزوم‌های سایر سلول‌ها و مایعات زیستی انجام شده است. بررسی و درک نقش اگزوزوم‌های سیستم قلب و عروق در فیزیولوژی قلب و عروق منجر به کشف نشانگر زیستی اگزوزومی در بیماری‌های قلبی و عروقی شده است (۸۷). مثال دیگر از بیماری‌های غیر سرطانی می‌توان به بیماری آسم اشاره کرد. بررسی اگزوزوم‌های جدا شده از این بیماران الگوی بیان متفاوت در محتویات miRNAها نشان داد. پروفایل بیانی کل ۲۴ miRNA تغییر یافته بود به‌طوری که از بین آن‌ها اعضای خانواده let-7 و miRNA-200 نسبت به نمونه‌ای سالم بطور خیلی معنی‌داری کاهش بیان داشتند. محققین اظهار داشتند که این الگو می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی به کار برده شود (۸۸). بنابراین کاهش یا افزایش محتویات اگزوزومها می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی در شرایط پاتولوژیکی در نظر گرفته شود. در زمینه بیماری‌های سرطان، miRNA-18a که عضو انکوژن از شاخه miR-17-92 است و با اگزوزومها منتقل می‌شود و مشخص شده است که مقدار این مولکول در افراد سرطانی بیشتر از افراد سالم است (۸۹). miRNA-145 اگزوزومی که سرکوب‌گر تومور است، سطح بیان آن در سرطان بدخیم تیروئید کم است (۹۰). علاوه بر این، الگوی بیان miRNA اگزوزومها می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی برای تشخیص زودهنگام سرطان‌های مختلف به کار رود برای مثال در زمینه سرطان پستان که یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها است، محققین پیشنهاد کرده‌اند که بیان miRNAهای اگزوزومی مثل miR-1246, miR-10, miR-21, miR-182, miR-373 می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی در مراحل اولیه پیشرفت سرطان به کار برده شوند (۹۱).

¹ Doxorubicin

پروستات برساند و سلول‌های مادری تومور را به سمیت حساس کنند (۱۰۳). Kim و همکارانش نشان دادند که آگزوزوم‌های غنی از PTX موجب افزایش سرکوب تومور و کاهش مقاومت سلول‌های سرطانی در مدل موش سرطان ریه می‌شود (۱۱۰). این نتایج نشان می‌دهد که آگزوزوم‌ها می‌توانند کاندید مهم برای حمل عوامل دارویی مورد استفاده قرار بگیرند.

مزایای آگزوزوم‌ها در مقایسه با وزیکول‌های دیگر در انتقال عوامل درمانی:

آگزوزوم‌ها شباهت زیادی با وزیکول‌های انتقالی دارند و دارای یک غشای لیپیدی-زیستی هستند که هسته آبی را پوشش می‌دهد (۱۱۱). همچنین حاوی هر دو مواد هیدروفیلی و لیپوفیلی هستند و محموله‌های خود را به اهداف مورد نظر می‌رسانند (۳۴). این ویژگی‌ها آگزوزوم‌ها را قادر می‌سازد که نسبت به برخی از محدودیت‌های لیپوزوم‌ها فائق آیند (۱۱۲). آگزوزوم‌ها به راحتی می‌توانند در مایعات بدن پخش شوند و برای مدت طولانی در گردش خون باقی بمانند و از سدهای فیزیولوژیکی عبور کرده و داخل سلول شوند (۸۲). آگزوزوم‌هایی که حاوی حجم زیادی از مولکول‌های زیستی هستند، پاسخ‌های ایمنی را تحریک نکرده و به جای بافت‌های هدف در کبد یا ریه انباشته نمی‌شوند (۱۱۳).

مدل‌های تجویز آگزوزوم:

براساس نوع بیماری، آگزوزوم‌ها با روش‌های مختلفی تجویز می‌شوند. دسترسی آسان به مقادیر زیادی از آگزوزوم‌ها باید در طراحی آزمایش‌های بالینی سنجیده شود. مسیرهای تجویز باید به درستی انتخاب شوند به‌خصوص این‌که برای دستیابی به مزایای درمانی مؤثر در تومورهای پنهان این روش‌ها باید بهینه شده باشند (۱۱۴). در بعضی از آزمایش‌ها، راه‌های مختلف برای افزایش راندمان تحویل دارو برای یک بیماری خاص مورد استفاده قرار گرفته است. در یک آزمایش، هر دو روش تزریق داخل وریدی و داخل بینی در بیماری پارکینسون مدل موش استفاده شد (۱۱۰). در جدول شماره ۵ روش‌های استفاده شده در مطالعات تجویز آگزوزوم‌ها همراه با مقایسه معایب و مزایای آن‌ها آورده شده است.

(۱۰۱). در سال‌های اخیر، مطالعات مختلف نشان داده است که تحویل دارو از طریق آگزوزوم برای بیماری‌های مختلف مفید است. با استفاده از آگزوزوم‌های مملو از دوکسوروبیسین یا نانوزویکول‌های شبه آگزوزوم، رشد سلول‌های سرطانی کولون و پستان با موفقیت مهار شده‌اند (۱۰۰، ۱۰۲). براساس نوع سلول، آگزوزوم‌ها دارای ویژگی‌ها و قابلیت‌های منحصر به فرد هستند. به‌عنوان مثال، آگزوزوم‌های مشتق شده از سلول سرطانی می‌توانند به‌طور مستقیم باکلی تاکسل (PTX) را به سلول‌های اولیه سرطان پروستات برسانند و سلول‌های مادری تومور را حساس کنند (۱۰۳). مزایای آگزوزوم‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی به‌طور فزاینده‌ای در حال گزارش است. سلول‌های بنیادی مزانشیم مهندسی شده با PTX می‌توانند به‌طور مؤثری آگزوزوم‌های غنی از PTX را تحویل داده و منجر به مهار رشد سلول تومور در محیط آزمایشگاه شوند (۱۰۴). بارگذاری آگزوزوم‌ها با ترکیبات ضد سرطان، نتایج امید بخشی را به‌دست آورده است. در یک آزمایش، دوکسوروبیسین و PTX به‌طور همزمان در آگزوزوم‌ها بارگذاری شدند و به سلول‌های سرطانی زونگرافت درون مغز Zebra ماهی تزریق شدند. یافته‌ها نشان داد که رشد تومور کاهش یافت (۱۰۵). علاوه بر توالی‌های فاماکولوژیک و نوکوتیدی خاص، برخی از محققان از اسانس‌های گیاهی برای بارگذاری استفاده کردند. آگزوزوم‌های حاوی کورکومین موجب کند شدن التهاب مغزی ناشی از لیپو پلی ساکارید در موش شدند (۱۰۶، ۱۰۷). آگزوزوم‌های سلول‌های بنیادی جنینی موش از قبل بارگیری شده با کورکومین^۳ وقتی با عروق عصبی کشت شوند موجب بروز پاسخ‌های رگ‌سازی و بازسازی به دنبال آسیب ایسکمی-رپرفوزیون در مدل موش می‌شوند (۱۰۸). تنظیم رونویسی و کنترل بیان ژن از دیگر مزایای آگزوزوم‌ها می‌باشد. لوناوات و همکاران نشان دادند که آگزوزوم‌های بارگذاری شده با siRNAها موجب کنترل بیان ژن در محیط آزمایشگاهی می‌شوند (۱۰۹). براساس نوع سلول، آگزوزوم‌ها دارای ویژگی‌ها و قابلیت‌های منحصر به فرد هستند. به‌عنوان مثال، آگزوزوم‌های مشتق شده از سلول سرطانی می‌تواند به‌طور مستقیم داروی ضد سرطان PTX را به سلول‌های مرکزی اولیه سرطان

جدول (۵): مدل‌های تجویز آگزوزوم

روش‌های تجویز آگزوزوم	نوع بیماری	محتویات آگزوزوم	ویژگی روش	معایب
	مدل سرطان (۱۰۰)	دوکسوروبیسین		
تزریق داخل وریدی	مدل بیماری پارکینسون (۱۱۰)	آنزیم کاتالاز	آسان	ولی میزان بالایی از آگزوزوم و به دام افتادن در اندام‌های دیگر بدن
	مدل موش سالم (۱۱۵)	لوسیفراز		

3 Curcumin

2 Paclitaxel

روش‌های تجویز آگزوزوم	نوع بیماری	محتویات آگزوزوم	ویژگی روش	معیاب
	مدل موش ترانسژن (۱۱۶)	siRNA		
	مدل رت سالم (۱۱۷)	گیرنده آلفا فولات		
تزریق مستقیم به بافت	سرطان (۱۱۸)	علامت فلونئورسنت	کارآمد	تهاجمی
تزریق داخل صفاقی	مدل بیماری عفونت خون (۱۰۷)	کور کومین	آسان	انتشار در گستره صفاقی
تزریق داخل بینی	مدل بیماری پارکینسون (۱۱۰)	کور کومین	آسان	راندمان پایین
تجویز دهانی	مدل نارسایی قلب (۱۱۸)	علامت فلونئورکروم	آسان	حذف توسط سیستم گوارش

بحث و نتیجه‌گیری

مکانیسم‌های پیچیده و مولکول‌های زیستی متعددی در ساخته شدن و بارگیری آگزوزوم‌ها درگیر هستند. پس از سپری شدن سه دهه از معرفی آگزوزوم‌ها، پیشرفت‌های زیادی در تعیین زیست‌شناسی و عملکرد آن‌ها انجام شده است. با کشف آگزوزوم‌ها راه امید بخشی برای درمان بیماری‌های مختلف به وجود آمد. در حقیقت، آگزوزوم‌ها مولکول‌های زیستی را منتقل می‌کنند بنابراین می‌توان با دستکاری محموله‌های زیستی از آن‌ها به عنوان عامل درمانی در بهبودی بیماری‌های مختلف استفاده کرد. علاوه بر این می‌توان با بارگذاری داروها به آگزوزوم‌ها به طور هدفمند سلول‌های سرطانی را از بین برد. یکی دیگر از کاربرد آگزوزوم‌ها استفاده از آن‌ها به عنوان نشانگر زیستی است. این نانوذرات اطلاعات مربوط به سلول‌های مادر را حمل می‌کنند بنابراین با آنالیز آگزوزوم‌ها در نمونه‌های زیستی می‌توانیم از وضعیت بیماری مطلع شویم و از

این ویژگی برای پیش‌بینی بیماری‌ها استفاده کنیم. استفاده بهینه از آگزوزوم‌ها در اهداف درمانی بالینی، مستلزم دانش و دید قوی و گسترده در مورد واکنش‌های آبشارهای سیگنالینگ مولکولی و در مورد پروفایل حمل شده با آگزوزوم است و اختصاصیت و حساسیت روش‌های استفاده از آگزوزوم‌ها به عنوان نشانگر زیستی و حامل دارو در بخش بالین هنوز به اثبات نرسیده است و لازم است اثرات سوی آگزوزوم‌ها در بخش درمان در مطالعات دیگر مورد بررسی قرار گیرد. علیرغم پیشرفت‌های بزرگ در این زمینه، هنوز تعدادی سؤال بدون پاسخ وجود دارد که می‌تواند جزو موضوعات مورد تحقیق آینده قرار گیرد. اول این که تکنیک‌های مناسب و ایمن برای تولید مقدار زیادی آگزوزوم در جهت استفاده در درمان چیست؟ دوم این که کدام نوع سلول‌ها به عنوان سلول‌های اهدا کننده آگزوزوم برای اهداف درمانی مناسب هستند؟ و سوم این که ایمنی آگزوزوم‌ها در مطالعات انسانی در چه حدی است؟

References:

- Singh AB, Harris RC. Autocrine, paracrine and juxtacrine signaling by EGFR ligands. *Cell Signal* 2005;17(10): 1183-93.
- Pisitkun T, Shen R-F, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101(36): 13368-73.
- Ludwig A-K, Giebel B. Exosomes: small vesicles participating in intercellular communication. *Int J Biochem Cell Biol* 2012;44(1): 11-5.
- Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvald JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007;9(6): 654.
- Rajendran L, Honsho M, Zahn TR, Keller P, Geiger KD, Verkade P, et al. Alzheimer's disease β -amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci* 2006;103(30): 11172-7.
- Kowal J, Tkach M, Thery C. Biogenesis and secretion of exosomes. *Curr Opin Cell Biol* 2014;29: 116-25.
- Yu X, Harris SL, Levine AJ. The regulation of exosome secretion: a novel function of the p53 protein. *Cancer Res* 2006;66(9): 4795-801.
- Lai RC, Yeo RWY, Tan KH, Lim SK. Exosomes for drug delivery—a novel

- application for the mesenchymal stem cell. *Biotechnol Adv* 2013;31(5): 543-51.
9. van den Boorn JG, Daßler J, Coch C, Schlee M, Hartmann G. Exosomes as nucleic acid nanocarriers. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65(3): 331-5.
 10. Lässer C. Exosomal RNA as biomarkers and the therapeutic potential of exosome vectors. *Expert Opin Biol Ther* 2012;12(sup1): S189-S97.
 11. Camussi G, Deregibus MC, Bruno S, Cantaluppi V, Biancone L. Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication. *Kidney Int* 78(9): 838-848. 12.
 12. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol* 2013;200(4): 373-83.
 13. Lässer C, Théry C, Buzás EI, Mathivanan S, Zhao W, Gho YS, et al. The International Society for Extracellular Vesicles launches the first massive open online course on extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles; eCollection* 2016.
 14. Crescitelli R, Lässer C, Szabo TG, Kittel A, Eldh M, Dianzani I, et al. Distinct RNA profiles in subpopulations of extracellular vesicles: apoptotic bodies, microvesicles and exosomes. *J Extracell Vesicles* 2013;2(1): 20677.
 15. Canbay A, Taimr P, Torok N, Higuchi H, Friedman S, Gores GJ. Apoptotic body engulfment by a human stellate cell line is profibrogenic. *Lab Invest* 2003;83(5): 655.
 16. Sluijter JP, Verhage V, Deddens JC, van den Akker F, Doevendans PA. Microvesicles and exosomes for intracardiac communication. *Cardiovasc Res*. 2014;102(2): 302-311.
 17. Johnstone RM, Adam M, Hammond J, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem* 1987;262(19): 9412-20.
 18. Mathivanan S, Simpson RJ. ExoCarta: a compendium of exosomal proteins and RNA. *Proteomics*. 2009;9(21): 4997-5000.
 19. Simons M, Raposo G. Exosomes-vesicular carriers for intercellular communication. *Curr Opin Cell Biol* 2009;21(4): 575-81.
 20. Caby M-P, Lankar D, Vincendeau-Scherrer C, Raposo G, Bonnerot C. Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int Immunol* 2005;17(7): 879-87.
 21. Andre F, Scharz NE, Movassagh M, Flament C, Pautier P, Morice P, et al. Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *Lancet* 2002.360(9329): 295-305.
 22. Lässer C, Alikhani VS, Ekström K, Eldh M, Paredes PT, Bossios A, et al. Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: uptake by macrophages. *J Transl Med*.2011;9(1): 9.
 23. Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol* 2009;9(8): 581.
 24. Conde-Vancells J, Rodriguez-Suarez E, Embade N, Gil D, Matthiesen R, Valle M, et al. Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes. *J Proteome Res* 2008;7(12): 5157-66.
 25. Chaput N, Théry C, editors. Exosomes: immune properties and potential clinical implementations. *Semin Immunol*; Springer; 2011.
 26. Keller S, Sanderson MP, Stoeck A, Altevogt P. Exosomes: from biogenesis and secretion

- to biological function. *Immunol Lett* 2006;107(2): 102-8.
27. Kleijmeer M, Ramm G, Schuurhuis D, Griffith J, Rescigno M, Ricciardi-Castagnoli P, et al. Reorganization of multivesicular bodies regulates MHC class II antigen presentation by dendritic cells. *J Cell Biol* 2001;155(1): 53-64.
 28. Johnstone RM. Exosomes biological significance: a concise review. *Blood Cells Mol Dis* 2006;36(2): 315-21.
 29. Möbius W, Ohno-Iwashita Y, Donselaar EGv, Oorschot VM, Shimada Y, Fujimoto T, et al. Immunoelectron microscopic localization of cholesterol using biotinylated and non-cytolytic perfringolysin O. *J Histochem Cytochem* 2002;50(1): 43-55.
 30. White IJ, Bailey LM, Aghakhani MR, Moss SE, Futter CE. EGF stimulates annexin I-dependent inward vesiculation in a multivesicular endosome subpopulation. *The EMBO Journal* 2006;25(1): 1-12.
 31. Hurley JH, Hanson PI. Membrane budding and scission by the ESCRT machinery: it's all in the neck. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010;11(8): 556.
 32. Stuffers S, Sem Wegner C, Stenmark H, Brech A. Multivesicular endosome biogenesis in the absence of ESCRTs. *Traffic* 2009;10(7): 925-37.
 33. Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, Conrad R. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *BBA – Biomembranes* 2012;1820(7): 940-8.
 34. Henne WM, Stenmark H, Emr SD. Molecular mechanisms of the membrane sculpting ESCRT pathway. *Csh Perspect Biol* 2013;5(9): a016766.
 35. Abrami L, Brandi L, Moayeri M, Brown MJ, Krantz BA, Leppla SH, et al. Hijacking multivesicular bodies enables long-term and exosome-mediated long-distance action of anthrax toxin. *Cell Rep* 2013;5(4): 986-96.
 36. Baietti MF, Zhang Z, Mortier E, Melchior A, Degeest G, Geeraerts A, et al. Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat Cell Biol* 2012;14(7): 677.
 37. Gruenberg J, Stenmark H. The biogenesis of multivesicular endosomes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5(4): 317.
 38. Sahu R, Kaushik S, Clement CC, Cannizzo ES, Scharf B, Follenzi A, et al. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Dev Cell* 2011. 20(1): 131-9.
 39. Hanson PI, Cashikar A. Multivesicular body morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2012;28: 337-62.
 40. Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, Rajendran L, Wenzel D, Wieland F, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science* 2008;319(5867): 1244-7.
 41. Van Niel G, Charrin S, Simoes S, Romao M, Rochin L, Saftig P, et al. The tetraspanin CD63 regulates ESCRT-independent and-dependent endosomal sorting during melanogenesis. *Dev Cell* 2011;21(4): 708-21.
 42. Butler JS. The yin and yang of the exosome. *Trends Cell Biol* 2002;12(2): 90-6.
 43. Edgar JR, Eden ER, Futter CE. Hrs-and CD63-dependent competing mechanisms make different sized endosomal intraluminal vesicles. *Traffic* 2014;15(2): 197-211.
 44. Nazarenko I, Rana S, Baumann A, McAlear J, Hellwig A, Trendelenburg M, et al. Cell surface tetraspanin Tspan8 contributes to molecular pathways of exosome-induced

- endothelial cell activation. *Cancer Res* 2010; 0008-5472 .CAN-09-2470.
45. Lorentzen E, Conti E. The exosome and the proteasome: nano-compartments for degradation. *Cell* 2006;125(4): 651-4.
 46. Chairoungdua A, Smith DL, Pochard P, Hull M, Caplan MJ. Exosome release of β -catenin: a novel mechanism that antagonizes Wnt signaling. *J Cell Biol* 2010;190(6): 1079-91.
 47. Dreux M, Garaigorta U, Boyd B, Décembre E, Chung J, Whitten-Bauer C, et al. Short-range exosomal transfer of viral RNA from infected cells to plasmacytoid dendritic cells triggers innate immunity. *Cell Host Microbe* 2012;12(4): 558-70.
 48. Stoorvogel W. Resolving sorting mechanisms into exosomes. *Cell Res* 2015;25(5): 531.
 49. Strauss K, Goebel C, Runz H, Möbius W, Weiss S, Feussner I, et al. Exosome secretion ameliorates lysosomal storage of cholesterol in Niemann-Pick type C disease. *J Biol Chem* 2010; jbc. M110. 134775.
 50. Ghossoub R, Lembo F, Rubio A, Gaillard CB, Bouchet J, Vitale N, et al. Syntenin-ALIX exosome biogenesis and budding into multivesicular bodies are controlled by ARF6 and PLD2. *Nat Commun* 2014;5: 3477.
 51. Tanaka N, Kyuuma M, Sugamura K. Endosomal sorting complex required for transport proteins in cancer pathogenesis, vesicular transport, and non-endosomal functions. *Cancer Sci* 2008;99(7): 1293-303.
 52. Hutagalung AH, Novick PJ. Role of Rab GTPases in membrane traffic and cell physiology. *Physiol Rev* 2011;91(1): 119-49.
 53. Fader CM, Sánchez DG, Mestre MB, Colombo MI. TI-VAMP/VAMP7 and VAMP3/cellubrevin: two v-SNARE proteins involved in specific steps of the autophagy/multivesicular body pathways. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793(12): 1901-16.
 54. Puri N, Roche PA. Mast cells possess distinct secretory granule subsets whose exocytosis is regulated by different SNARE isoforms. *Proc Natl Acad Sci* 2008;105(7): 2580-5.
 55. Rao SK, Huynh C, Proux-Gillardeaux V, Galli T, Andrews NW. Identification of SNAREs involved in synaptotagmin VII-regulated lysosomal exocytosis. *J Biol Chem* 2004;279(19): 20471-9.
 56. Chaineau M, Danglot L, Galli T. Multiple roles of the vesicular-SNARE TI-VAMP in post-Golgi and endosomal trafficking. *FEBS letters* 2009;583(23): 3817-26.
 57. Willms E, Johansson HJ, Mäger I, Lee Y, Blomberg KEM, Sadik M, et al. Cells release subpopulations of exosomes with distinct molecular and biological properties. *Sci Rep* 2016;6: 22519.
 58. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004;428(6983): 664.
 59. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2006;354(17): 1813-26.
 60. Marbán E. A mechanistic roadmap for the clinical application of cardiac cell therapies. *Nat Biomed Eng* 2018;2(6): 353.
 61. Laflamme MA, Chen KY, Naumova AV, Muskheli V, Fugate JA, Dupras SK, et al. Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts. *Nat Biotechnol.* 2007;25(9): 1015.
 62. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells

- differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002;105(1): 93-8.
63. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410(6829): 701.
 64. Fisher SA, Doree C, Mathur A, Taggart DP, Martin-Rendon E. Stem cell therapy for chronic ischaemic heart disease and congestive heart failure. *Cochrane Database Syst Rev* 2016(12).
 65. Mathur A, Fernández-Avilés F, Dimmeler S, Hauskeller C, Janssens S, Menasche P, et al. The consensus of the Task Force of the European Society of Cardiology concerning the clinical investigation of the use of autologous adult stem cells for the treatment of acute myocardial infarction and heart failure: update 2016. *Eur Heart J* 2017;38(39): 2930-5.
 66. Sakthiswary R, Raymond AA. Stem cell therapy in neurodegenerative diseases: From principles to practice. *Neural Regen Res* 2012;7(23): 1822.
 67. Schwarz SC, Schwarz J. Translation of stem cell therapy for neurological diseases. *Transl Res* 2010;156(3): 155-60.
 68. Arinze TL, Peter SJ, Archambault MP, Van Den Bos C, Gordon S, Kraus K, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect. *JBJS* 2003;85(10): 1927-35.
 69. Elbuluk A, Einhorn TA, Jorio R. A comprehensive review of stem-cell therapy. *JBJS Rev* 2017;5(8): e15.
 70. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004;95(1): 9-20.
 71. Kraitchman DL, Tatsumi M, Gilson WD, Ishimori T, Kedziorek D, Walczak P, et al. Dynamic imaging of allogeneic mesenchymal stem cells trafficking to myocardial infarction. *Circulation* 2005;112(10): 1451.
 72. McBride C, Gaupp D, Phinney D. Quantifying levels of transplanted murine and human mesenchymal stem cells in vivo by realtime PCR. *Cytotherapy* 2003;5(1): 7-18.
 73. Al-Khaldi A, Al-Sabti H, Galipeau J, Lachapelle K. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells: improved blood flow in a chronic limb ischemia model. *Ann Thorac Surg* 2003;75(1): 204-9.
 74. Rojas M, Xu J, Woods CR, Mora AL, Spears W, Roman J, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. *American journal of respiratory cell and molecular biology. Am J Respir Cell Mol Biol* 2005. 33(2): 145-52.
 75. Rogers TB, Pati S, Gaa S, Riley D, Khakoo AY, Patel S, et al. Mesenchymal stem cells stimulate protective genetic reprogramming of injured cardiac ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2011;50(2): 346-56.
 76. Nascimento DS, Mosqueira D, Sousa LM, Teixeira M, Filipe M, Resende TP, et al. Human umbilical cord tissue-derived mesenchymal stromal cells attenuate remodeling after myocardial infarction by proangiogenic, antiapoptotic, and endogenous cell-activation mechanisms. *Stem Cell Res Ther* 2014;5(1): 5.
 77. Korf-Klingebiel M, Kempf T, Sauer T, Brinkmann E, Fischer P, Meyer GP, et al. Bone marrow cells are a rich source of growth factors and cytokines: implications for cell

- therapy trials after myocardial infarction. *Eur Heart J* 2008;29(23): 2851-8.
78. Angoulvant D, Ivanov F, Ferrera R, Matthews PG, Nataf S, Ovize M. Mesenchymal stem cell conditioned media attenuates in vitro and ex vivo myocardial reperfusion injury. *J Heart Lung Transplant* 2011;30(1): 95-102.
79. Ruivo CF, Adem B, Silva M, Melo SA. The biology of cancer exosomes: insights and new perspectives. *Cancer Res.* 2017;77(23): 6480-6488.
80. Lakhali S, Wood MJ. Exosome nanotechnology: an emerging paradigm shift in drug delivery. *Bioessays* 2011;33(10): 737-41.
81. Salehi M, Sharifi M. Exosomal miRNAs as novel cancer biomarkers: Challenges and opportunities. *J Cell Physiol* 2018;233(9): 6370-80.
82. Antimisiaris S, Mourtas S, Marazioti A. Exosomes and Exosome-Inspired Vesicles for Targeted Drug Delivery. *Pharmaceutics* 2018;10(4): 218.
83. Yu B, Zhang X, Li X. Exosomes derived from mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci* 2014;15(3): 4142-57.
84. Properzi F, Logozzi M, Fais S. Exosomes: the future of biomarkers in medicine. *Biomark Med* 2013;7(5): 769-78.
85. Yamashita T, Takahashi Y, Takakura Y. Possibility of Exosome-Based Therapeutics and Challenges in Production of Exosomes Eligible for Therapeutic Application. *Biol Pharm Bull* 2018;41(6): 835-42.
86. Schreiber G, Bol KF, Westdorp H, Wimmers F, Aarntzen EH, Duiveman-de Boer T, et al. Effective clinical responses in metastatic melanoma patients after vaccination with primary myeloid dendritic cells. *Clin Cancer Res* 2016;22(9): 2155-66.
87. Cosme J, Liu PP, Gramolini AO. The cardiovascular exosome: current perspectives and potential. *Proteomics* 2013;13(10-11): 1654-9.
88. Levänen B, Bhakta NR, Paredes PT, Barbeau R, Hiltbrunner S, Pollack JL, et al. Altered microRNA profiles in bronchoalveolar lavage fluid exosomes in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131(3): 894-903. e8.
89. Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Morimura R, Hirajima S, Tsujiura M, et al. Circulating miR-18a: a sensitive cancer screening biomarker in human cancer. *in vivo* 2014;28(3): 293-7.
90. Boufrajech M, Zhang L, Jain M, Patel D, Ellis R, Xiong Y, et al. miR-145 suppresses thyroid cancer growth and metastasis and targets AKT3. *Endocr Relat Cancer* 2014;21(4): 517-31.
91. He Y, Deng F, Yang S, Wang D, Chen X, Zhong S, et al. Exosomal microRNA: a novel biomarker for breast cancer. *Biomark Med* 2018;12(2): 177-88.
92. Salih M, Zietse R, Hoorn EJ. Urinary extracellular vesicles and the kidney: biomarkers and beyond. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014;306(11): F1251-F9.
93. Butz H, Nofech-Mozes R, Ding Q, Khella HW, Szabó PM, Jewett M, et al. Exosomal microRNAs are diagnostic biomarkers and can mediate cell-cell communication in renal cell carcinoma. *Eur Urol Focus* 2016;2(2): 210-18.
94. Turay D, Khan S, Diaz Osterman CJ, Curtis MP, Khaira B, Neidigh JW, et al. Proteomic profiling of serum-derived exosomes from ethnically diverse prostate cancer patients. *Cancer Investig* 2016;34(1): 1-11.

95. Jakobsen KR, Paulsen BS, Bæk R, Varming K, Sorensen BS, Jørgensen MM. Exosomal proteins as potential diagnostic markers in advanced non-small cell lung carcinoma. *J Extracell Vesicles* 2015;4(1): 26659.
96. Khan S, Bennit HF, Turay D, Perez M, Mirshahidi S, Yuan Y, et al. Early diagnostic value of survivin and its alternative splice variants in breast cancer. *BMC Cancer* 2014;14(1): 176.
97. Shtam TA, Kovalev RA, Varfolomeeva EY, Makarov EM, Kil YV, Filatov MV. Exosomes are natural carriers of exogenous siRNA to human cells in vitro. *Cell Commun Signal* 2013;11(1): 88.
98. Theodoraki M-N, Yerneni SS, Hoffmann TK, Gooding WE, Whiteside TL. Clinical significance of PD-L1+ exosomes in plasma of head and neck cancer patients. *Clin Cancer Res* 2018;24(4): 896-905.
99. André F, Chaput N, Scharz NE, Flament C, Aubert N, Bernard J, et al. Exosomes as potent cell-free peptide-based vaccine. I. Dendritic cell-derived exosomes transfer functional MHC class I/peptide complexes to dendritic cells. *J Immunol* 2004;172(4): 2126-36.
100. Tian Y, Li S, Song J, Ji T, Zhu M, Anderson GJ, et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy. *Biomaterials* 2014;35(7): 2383-90.
101. Smyth T, Kullberg M, Malik N, Smith-Jones P, Graner MW, Anchordoquy TJ. Biodistribution and delivery efficiency of unmodified tumor-derived exosomes. *J Control Release* 2015 .199: 145–55
102. Jang SC, Kim OY, Yoon CM, Choi D-S, Roh T-Y, Park J, et al. Bioinspired exosome-mimetic nanovesicles for targeted delivery of chemotherapeutics to malignant tumors. *ACS nano* 2013;7(9): 7698-710.
103. Saari H, Lazaro-Ibanez E, Viitala T, Vuorimaa-Laukkanen E, Siljander P, Yliperttula M. Microvesicle-and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of Paclitaxel in autologous prostate cancer cells. *J Control Release* 2015;220: 727-37.
104. Pascucci L, Coccè V, Bonomi A, Ami D, Ceccarelli P, Ciusani E, et al. Paclitaxel is incorporated by mesenchymal stromal cells and released in exosomes that inhibit in vitro tumor growth: a new approach for drug delivery. *J Control Release* 2014;192: 262-70.
105. Yang T, Martin P, Fogarty B, Brown A, Schurman K, Phipps R, et al. Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in Danio rerio. *Pharm Res* 2015;32(6): 2003-14.
106. Zhuang X, Xiang X, Grizzle W, Sun D, Zhang S, Axtell RC, et al. Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *Mol Ther* 2011;19(10): 1769-79.
107. Sun D, Zhuang X, Xiang X, Liu Y, Zhang S, Liu C, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Mol Ther* 2010;18(9): 1606-14.
108. Kalani A, Chaturvedi P, Kamat PK, Maldonado C, Bauer P, Joshua IG, et al. Curcumin-loaded embryonic stem cell exosomes restored neurovascular unit following ischemia-reperfusion injury. *Int J Biochem Cell Biol* 2016;79: 360-369.
109. Lunavat TR, Jang SC, Nilsson L, Park HT, Repiska G, Lässer C, et al. RNAi delivery by

- exosome-mimetic nanovesicles–Implications for targeting c-Myc in cancer. *Biomaterials* 2016;102: 231-8.
110. Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, Gupta R, Plotnikova EG, He Z, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *J Control Release* 2015;207: 18-30.
111. Thakur BK, Zhang H, Becker A, Matei I, Huang Y, Costa-Silva B, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Res* 2014;24(6): 766.
112. Kooijmans SA, Vader P, van Dommelen SM, van Solinge WW, Schiffelers RM. Exosome mimetics: a novel class of drug delivery systems. *Int J Nanomedicine*.2012;7: 1525.
113. Théry C, Amigorena S, Raposo G, Clayton A. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. *Curr Protoc Stem Cell Biol* 2006;30(1): 3.22.
114. Ohno S-i, Takanashi M, Sudo K, Ueda S, Ishikawa A, Matsuyama N, et al. Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver antitumor microRNA to breast cancer cells. *Mol Ther* 2013;21(1): 185-191.
115. Takahashi Y, Nishikawa M, Shinotsuka H, Matsui Y, Ohara S, Imai T, et al. Visualization and in vivo tracking of the exosomes of murine melanoma B16-BL6 cells in mice after intravenous injection. *J Biotechnol* 2013;165(2): 77-84.
116. Cooper JM, Wiklander PO, Nordin JZ, Al-Shawi R, Wood MJ, Vithlani M, et al. Systemic exosomal siRNA delivery reduced alpha-synuclein aggregates in brains of transgenic mice. *Mov Disord* 2014;29(12): 1476-1485.
117. Grapp M, Wrede A, Schweizer M, Hüwel S, Galla H-J, Snaidero N, et al. Choroid plexus transcytosis and exosome shuttling deliver folate into brain parenchyma. *Nat Commun* 2013;4: 2123.
118. Lionetti V, Bianchi G, Recchia FA, Ventura C. Control of autocrine and paracrine myocardial signals: an emerging therapeutic strategy in heart failure. *Heart Fail Rev* 2010;15(6): 531-542.

EXTRACELLULAR VESICLES AND THEIR THERAPEUTIC APPLICATIONS: A REVIEW

Reza Rahbarghazi¹, Jafar Rezaie²

Received: 09 Feb, 2019; Accepted: 27 Apr, 2019

Abstract

Background & Aims: Extracellular vesicles are double phospholipid layer vesicles releasing from several cells. These particles contain bio-molecules including mRNA, miRNA, DNA, proteins, and lipids which play a pivotal role in the cell to cell communication. Once delivered, they participate to change target cell function, fate, morphology, differentiation, and growth. The present study is a review article conducted to study the molecular mechanisms involved in the exosomes biogenesis and their therapeutic applications.

Materials & Methods: In the present study, the articles indexed in Scopus, ISI, and PubMed databases were reviewed. Keywords such as extracellular vesicles, exosome, ESCRT, and MVB were used to search the studies. An assembly of 118 articles related to exosome published from 2000 to 2018, were studied.

Results: Exosomes, nano-vesicles ranging from 30-120 nm, are a subfamily of extracellular vesicles secreting from almost cells. The interacted molecular mechanisms involve in the formation, secretion, and uptake of these vesicles. Previous studies showed that exosomes have a pivotal role in the physiological and pathophysiological condition. The findings suggest that exosomes could be used as biomarkers and shuttles of therapeutic agents, especially in the case of diagnosis and therapy of diseases.

Conclusion: Exosomes actively participate in the control of biological processes. They can serve as a tool for diagnosis and therapy of various diseases. In spite of the progress in the biology of exosomes and their application, there are still more questions about their application.

Keywords: Extracellular vesicles; Exosome; Biomarker; Drug delivery

Address: Solid Tumor Research Center, Cellular and Molecular Medicine Institute, Urmia University of Medical Sciences, Shafa St., Ershad Blvd., Urmia, Iran

Tel: +989148548503

Email: J.rezaie88@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2019; 30(3): 206 ISSN: 1027-3727

¹ Department of Applied Cell Sciences, Stem Cell Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

² Solid Tumor Research Center, Cellular and Molecular Medicine Institute, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)