



Eksozomlar ve Kanserdeki Rollerini

Süreyya Bozkurt

İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D, İstanbul, Türkiye ORCID: 0000-0002-1765-9894

Geliş: 18.12.2017, Revizyon: 28.03.2018, Kabul Tarihi: 02.04.2018

Öz

Eksozomlar, vücutta bulunan hücrelerin neredeyse tamamı tarafından salgılanan, 40-100 nanometre (nm) çapında ve çift fosfolipid tabaka ile çevrili ekstrasellüler veziküllerdir. İçlerinde proteinler, lipitler, çok çeşitli RNA molekülleri ve DNA fragmanları gibi birçok biyomolekül taşırlar. Bu biyomoleküller vasıtasıyla, alıcı hücrelerde gen ifadelerini düzenleyerek, immün regülasyon, hücre farklılaşması, hücreler arası haberleşme, hücre göçü gibi birçok biyolojik fonksiyonda rol alırlar. Tümör kökenli eksozomlar ise içlerinde taşıdıkları biyomoleküller vasıtasıyla kanserin gelişimi ve yayılımına yardım etmek için lokal ve sistemik çevreyi düzenlerler. Eksozom içeriklerinin kanserin tanısında ve hastalık seyrinin izlenmesinde biyobelirteç olarak kullanım potansiyellerini araştıran çalışmalar hızla artmaktadır. Ayrıca son yıllarda kanser tedavisinde eksozomların hedeflendiği ya da kullanıldığı yaklaşımlar da bulunmaktadır. Bu derlemenin amacı eksozomların yapısının, kanser gelişimindeki ve metastazdaki rollerinin ve kanser tedavisindeki kullanım potansiyellerinin ortaya konmasıdır.

Anahtar kelimeler: Eksozomlar, kanser, tümör metastazı.

DOI: 10.5798/dicletip.424986

Yazışma Adresi / Correspondence: Süreyya Bozkurt, İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D Maltepe Mahallesi. Edirne Çırpıcı yolu. No:9 Zeytinburnu/İstanbul, Türkiye e-mail: sureyyabozkurt8@gmail.com

Exosomes and their role in cancer

Abstract

Exosomes are lipid bilayer extracellular vesicles between 40-100 nm in diameter and secreted by nearly all of the cells in the body. They carry many biomolecules inside them such as proteins, lipids, various types of RNA molecules and DNA fragments. They take part in many biological functions including immune regulation, cell differentiation, intercellular communication, cell migration by regulating gene expressions in recipient cells by means of these biomolecules.

Tumor derived exosomes regulate local and systemic environment to promote cancer development and invasion by means of biomolecules they carry. Studies investigating the potential use of exosome contents as biomarkers in cancer diagnosis and prognosis have been increasing rapidly. In recent years, there are also several approaches targeting exosomes or using them in cancer treatment. The purpose of this review is to present exosomes structure, their roles in cancer development and metastasis and their potential use in cancer treatment.

Keywords: Exosomes, cancer, tumor metastasis.

GİRİŞ

Eksozomlar ilk defa 1981 yılında Trams ve arkadaşları tarafından, normal hücrelerin ve kanser hücrelerinin elektron mikroskobu görüntülerinde farkedilmiştir. 1986 yılında ise Johnstone ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir. Eksozomlar hücre biyolojisinde son 30 yılın en önemli buluşlarından biri olarak görülmektedir¹⁻³.

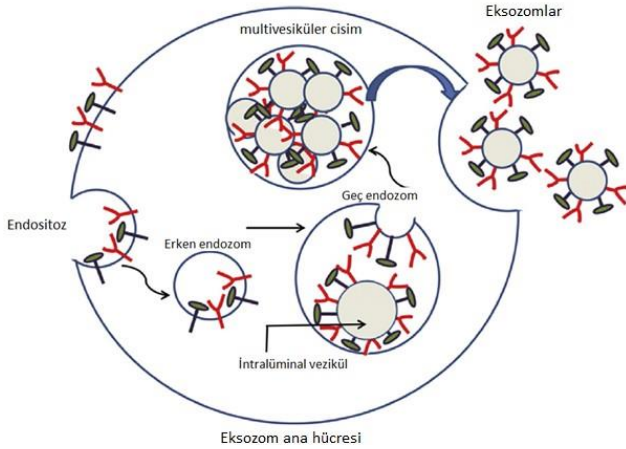
Eksozomlar hücreler tarafından salgılanan ekstrasellüler veziküllerin, bilinen en küçük grubunu oluştururlar. Veziküller 40-100 nm çapında ve çift fosfolipid tabaka ile çevrilidirler. Vücutta bulunan hemen hemen tüm hücreler tarafından salınırlar⁴. Kanda, idrarda, amniyotik sıvıda, anne sütünde, serum, plazma gibi bütün vücut sıvılarında bulunurlar⁵. İçlerinde proteinler, lipitler, mRNA'lar (mesajcı RNA), miRNA'lar (mikro RNA), lncRNA'lar (uzun kodlama yapmayan RNA) ve DNA fragmenleri gibi birçok biyomolekül taşırlar.

Eksozomların içerikleri, bunları salgılayan hücrelerin kökeni ve patofizyolojisi ile yakından ilgilidir. Isı-şok proteinleri, hücre iskelet sistemi proteinleri, tetraspanin ailesine dahil olan proteinler tüm eksozomlarda görülür^{6,7}. Özellikle CD9 ve CD63 tetraspaninler eksozomları diğer ekstrasellüler veziküllerden ayırmada kullanılan membran proteinleridir.

Eksozomlarda bu genel proteinlerin yanı sıra köken aldıkları hücrelere spesifik olan proteinler de yer almaktadır. Örneğin dendritik hücrelerden köken alan eksozomlarda CD80, CD86 yüzey antijenleri bulunurken, kanser hücrelerinden köken alan eksozomlarda çeşitli tümör antijenleri bulunmaktadır. Eksozomların lipid içeriği, hücre membranının lipid içeriğinden farklıdır, eksozomları çevreleyen lipid tabakada sfingomyelin, seramid, kolesterol ve gliserolfosfolipidler, hücre membranına göre daha fazla bulunmaktadır. Bu lipid kompozisyonu hem eksozom stabilitesinin korunmasında hem de hücre tarafından eksozomun salınmasında kolaylık sağlar⁸. Eskiden eksozomların sadece hücrelerden istenmeyen atıkların uzaklaştırılmasında görev yapan veziküller olduğu düşünülüyordu. Ancak bugün gelinen noktada artık biliniyor ki eksozomlar, içerdikleri biyomoleküllerin hücreler arasında taşınmasına aracılık eden veziküllerdir. Bu biyomoleküller vasıtasıyla alıcı hücrede gen ifadeleri düzenlenir. Bu yolla eksozomların immün regülasyon, hücre farklılaşması, hücreler arası haberleşme, hücre göçü gibi birçok biyolojik fonksiyonda rol alırlar^{3,9}.

Eksozombiyogenezi

Eksozomlar endozomlardan köken alırlar. Eksozom biyogenezinde ilk adım plazma membranının içeri doğru girinti yaparak endozom oluşturmaktır. Bu işlem seramid tarafından indüklenir. Erken endozom geç endozoma doğru olgunlaşırken endozom membranının bir seri içe doğru girintiler yapması ve bunların kapanması ile birçok intralüminal veziküller oluşur. Bu noktada endozomlar 'multiveziküler cisimcikler (Multi vesicular bodies: MVB)' adını alırlar. MVB'lerin plazma membranı ile kaynaşması sonucu eksozomlar hücre dışına salınırlar (Şekil 1)¹⁰.



Şekil 1. Eksozombiyogenezi ve salınımı (Ref. 10'dan alınmıştır).

Eksozom içine alınacak moleküllerin sınıflandırılması

Eksozom içerisine alınacak moleküllerin herhangi bir seçilime maruz kalıp kalmadıkları sorusuna cevap arayan çalışma sonuçları göstermiştir ki, biyomoleküller eksozom içine tesadüfi bir alımdan ziyade spesifik bir seçim ile alınmaktadır. Biyomoleküllerin eksozom içine alınmasından sorumlu bugüne kadar tanımlanmış 3 mekanizma vardır.

1. Mekanizma: ESCRT (Endosomal Sorting Complexes Required for Transport)'ye bağlı mekanizma:

Bu mekanizma ile vezikül içine übikütilenmiş proteinlerin alımı yapılır. ESCRT'de birbiri ile koordineli olarak çalışan birçok protein alt grubu görev alır. ESCRT-0 übikütilenmiş proteinleri tanır ve bunları endozomal membrana toplar. ESCRT-0, ESCRT-1'i bu da ESCRT-2'yi bölgeye çeker. Bölgede bu şekilde toplanan ESCRT-1 ve 2 membran tomurcuklanmasını tetikler. Alix proteini ise yapıyı sabitler. ESCRT-3 ise tomurcuklanan vezikülün membrandan ayrılmasını sağlar¹¹.

2. Mekanizma: Tetraspanin ve lipid bağımlı mekanizma:

Bu mekanizmada tetraspanin protein ailesi ve farklı lipid molekülleri görev alır. Tetraspaninler diğer transmembran proteinleri ve lipitlerle etkileşime girerek bunları belli bir membran bölgesine toplar (yapı iskelesi-scaffold olarak iş görür). Tetraspaninlerin sitozolde bulunan kargoyu spesifik bir seçimle vezikül içine aldığı düşünülmektedir¹². Örneğin CD63 tetraspanin proteininin spesifik olarak Epstein-Barr virüsü proteinini yüklediği tespit edilmiştir¹³. Farklı lipid molekülleri de farklı roller oynar. Örneğin seramid endozomal membranın kendiliğinden içeriye çökmesine sebep olurken, diaçilgliserol (DAG), Sfingozin 1 fosfat (S1P) eksozom biyogenezinde rol alır. Fosfolipaz D (PLD) ise eksozom salınımında rol alır.

3. Mekanizma: RNA moleküllerinin eksozomlar içine alınmasına dair hipotetik model:

Eksozomlar içerisindeki miRNA miktarının ve içeriğinin köken aldıkları hücreye göre farklılık göstermesi, miRNA'ların eksozomlar içine seçilerek alındığını düşündürmektedir. Örneğin T hücrelerinden salınan eksozomlarda bir grup miRNA'nın spesifik bir motif taşıdığı (GGAG) ve bu motifin A2B1 ribonükleoprotein tarafından tanındığı tespit edilmiştir. miRNA'lardan başka

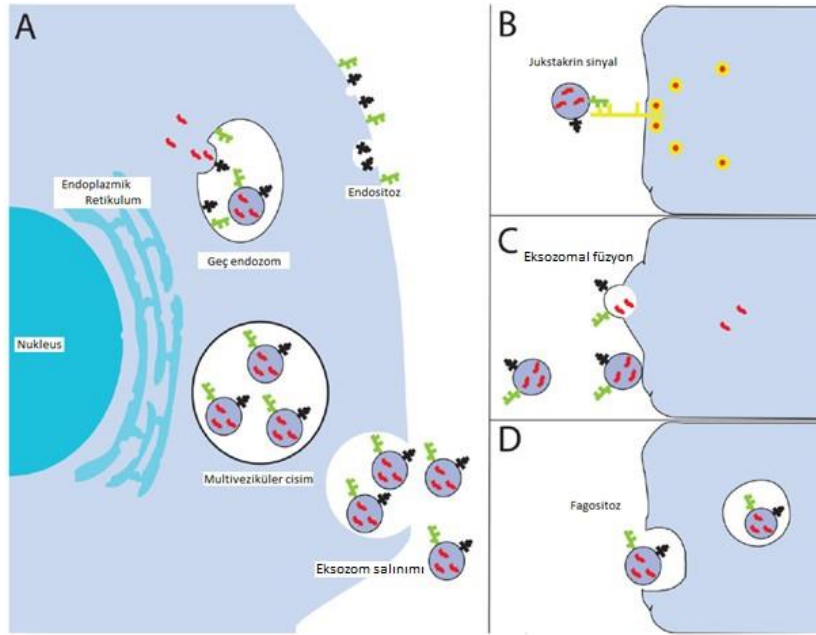
mRNA'ların ve kodlama yapmayan diğer RNA moleküllerinin de (rRNA gibi) seçilerek alındığı düşünülmekte ancak mekanizmalar henüz bilinmemektedir.

Eksozomun hücre dışına salınımında Rab GTPazlar (farklı hücre tiplerinde farklı Rab'lar) hücre iskelet sistemi proteinleri, moleküler motor proteinleri ve SNARE proteinleri rol alır. Eksozom salınımı, hücre içi Ca²⁺ seviyesi, hücre içi ve dışı pH gradienti, hipoksi gibi faktörlerden etkilenmektedir. Yüksek Ca²⁺ seviyesi ve hipoksik koşullarda eksozom salınımının arttığı belirtilmektedir¹⁴.

Eksozomların hedef hücre tarafından alınma yolları

Eksozomlar hedef hücelere farklı yollar ile alınabilirler.

1. Eksozom üzerindeki ligand, hedef hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanabilir.
2. Eksozom, üzerinde bulunan adezyon molekülleri aracılığı ile hedef hücre membranına füzyon yapabilir.
3. Eksozom hedef hücre tarafından fagosite edilebilir.
4. Reseptör aracılı endositoz ile hedef hücre içine alınabilir [Şekil 2]¹⁵.



Şekil 2. Eksozomların hedef hücre tarafından alınma yolları (Ref. 15'den alınmıştır).

Tümör kökenli eksozomların morfolojisi ve moleküler içeriği

Tümör hücrelerinden salınan eksozomlar taşıdıkları spesifik miRNA'ları, proteinleri dolaşıma ve tümör mikroçevresine sokarlar. Böylece tümör hücrelerinin hem kendi aralarında hem de mikroçevrede bulunan diğer hücreler ile haberleşmesini sağlarlar¹⁶. Farklı tipte tümör hücrelerinden elde edilen

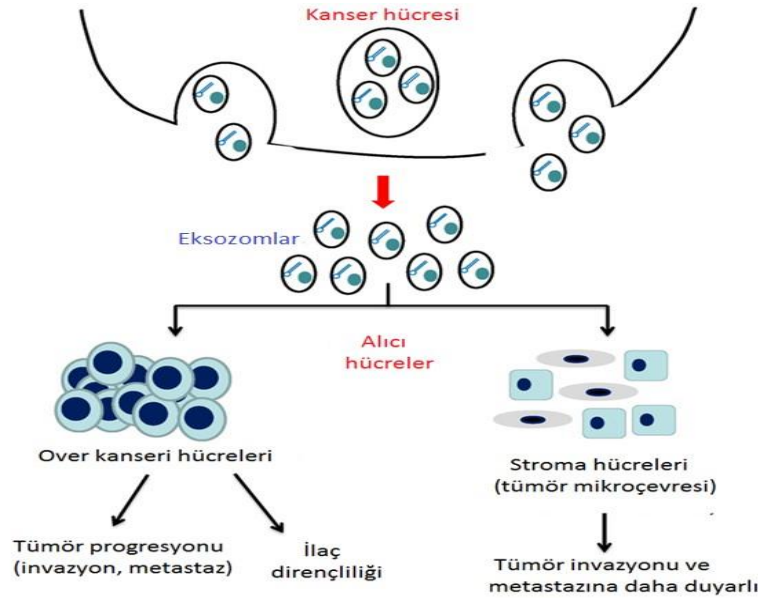
eksozomlarda farklı hücrelere sahip biyomoleküller tespit edilmiştir. Kanser hücrelerinden salınan eksozomlar, normal hücrelerden salınan eksozomlarda bulunan ısı-şok proteinleri, tetraspaninler gibi proteinlerin yanı sıra eksozomun köken aldığı kanser hücrelerine spesifik proteinleri de içerirler. Örneğin mide, yumurtalık ve meme kanser hücrelerinden salınan eksozomlar HER-2

(Human Epidermal receptor-2) proteini taşırlar. Ayrıca tümör tiplerine spesifik olarak farklı transkripsiyon faktörleri de taşıyabilirler. Örneğin tümör hücrelerinin çoğalmasında aracılık eden HIF-1 α (Hypoxia inducible factor-1 α) transkripsiyon faktörü gibi. Kanser kökenli eksozomlarda bulunan bir diğer protein matriks metalloproteinaz 2 (MMP2)'dir. MMP2 tümör hücrelerinin göç etmesini ve metastazı kolaylaştırmak amacıyla ekstrasellüler matriksin yıkımında rol alan bir kollajenaz enzimidir¹⁷.

Eksozomlar içerisinde, proteinlerden başka, kanser tiplerine spesifik olarak bulunan çeşitli onkojenik veya tümör baskılayıcı özellikte miRNA'lar da tespit edilmiştir. Örneğin miR200 meme kanser hücrelerinden köken alan eksozomlarda tespit edilmişken, miR105 meme, yumurtalık, gastrik ve prostat kanser hücrelerinden salınan eksozomlarda bulunmuştur. Bu miRNA onkojenik özellikte olup metastaz, invazyon, tümör gelişimi gibi

birçok olayda rol almaktadır. miR494'ün ise meme ve küçük hücreli akciğer kanserlerinde tümörün büyümesini, hayatta kalmasını ve hücre göçünü desteklediği belirtilmektedir. Buna karşın prostat, meme ve beyin tümör hücresi kökenli eksozomlarda tespit edilen miR34a'ların tümör baskılayıcı özellikte olup apoptozu arttırdığı belirlenmiştir. Eksozom salınımı hipoksik tümör mikro çevresinden etkilenir. Normoksik koşullarda geç endozomlar lizozomlarla birleşme eğiliminde iken hipoksik koşullarda geç endozomlar lizozomlar ile birleşmekten kaçarlar ve MVB'ler plazma membranı ile birleşirler, böylece eksozomlar tümör hücresinden salınırlar¹⁸. Meme kanser hücreleri ile yapılan bir çalışmada hipoksi seviyesi arttıkça eksozom salınımının da arttığı belirlenmiştir¹⁹.

Tümör kökenli eksozomlar kanserin gelişimi ve yayılımına yardım etmek için lokal ve sistemik çevreyi düzenlerler.



Şekil 3. Eksozomların kanser hücresi ve tümör mikroçevresi üzerine etkileri (Ref. 21'den alınmıştır).

Tümörler heterojen bir hücre popülasyonu içerirler. Tümörlü dokuda tümör hücrelerinin yanı sıra mezenşimal kök hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar, immün sistem hücreleri gibi farklı hücreler bulunabilir. Tümör hücrelerinin hem kendi aralarında hem de bu hücrelerle karşılıklı haberleşmesi, tümörü başlatan hücrelerin hayatta kalma, çoğalma, invazyon ve metastaz yapma özelliklerini desteklemektedir.

Eksozomlar aracılığı ile gerçekleşen bu kompleks haberleşme ağı ile kanser hücreleri immün sistemden kaçabilmekte, immün sistem hücrelerini baskılayabilmekte, tümör mikro çevresinde anjiogenezi arttırmakta, ilaç direnci kazanmakta, invazyon ve metastaz yapma yetenekleri elde etmektedirler [Şekil 3]^{15,20,21}.

Eksozomlar ve metastaz

Kanser hücrelerinin metastaz yapabilmesi için hücrelerin, hücre dışı matriksiinvaze ederek sistemik dolaşıma veya lenfatik dolaşıma katılmaları gerekir. Metastaz çok etkenli bir süreçtir. Kanser hücreleri ile birlikte mikroçevre, sitokinler, stromal hücreler ve immün sistem hücreleri de bu sürece dahil olurlar. Hücrelerin metastatik özellik kazanabilmesi için epitelyal-mezenkimal dönüşüm gereklidir. Bu sayede hücreler invazyonve göç yetenekleri kazanırlar^{22,23}.

Eksozomlar metastaz sürecinin birçok noktasında yer alırlar. Metastatik tümör hücrelerinden salınan eksozomlarda metastazı destekleyen biyomoleküller tespit edilmiştir. Örneğin epitelyal-mezenkimal geçişte etkili olan Wnt-Beta katenin yolağı bileşenleri veya hücre dışı matriksi değiştiren MatriksMetalloproteinaz enzimleri (MMP) gibi. Eksozomlar içinde taşınan ve metastatik süreçte rol alan bir diğer protein grubu ise integrinlerdir. Bu proteinler metastatik organın hedeflenmesinde rol alırlar. Yapılan çalışmalarda, metastatik tümör hücrelerinden salınan eksozomların metastatik olmayan tümör hücrelerine çeşitli onkogen ve onkogenik

proteinleri transfer etme yolu ile bu hücreleri de metastatik hale getirdikleri tespit edilmiştir²⁴.

Yapılan bir çalışmada metastatik tümör hücreleri tarafından salınan eksozomların yüzeyinde CD39+/CD73+ enzimleri tespit edilmiştir. CD39 bir ektoATPaz olup ATP'denadenozin oluşumunu indüklemektedir. CD73 ise bir 5'- ektonükleotidaz'dır ve AMP'denadenozin oluşumunu sağlar²⁵.ATP'nin bol olduğu tümör mikro çevresinde eksozomlarca taşınan bu enzimlerin adenozin oluşumunu uyardıkları bulunmuştur. Adenozinimmün hücrelerin anti-tümör fonksiyonlarını baskılamakta, lenf noduna girişi kolaylaştırarak metastazı uyarmaktadır²⁶.

Tümör kökenli eksozomlar ilaç dirençliliğine yol açabilir.

Tümörlerin radyoterapi ve kemoterapiye dirençliliği kanser tedavisinde ciddi bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Tümör kökenli eksozomların istenmeyen becerilerinden biri de ilaç dirençliliğine katkıda bulunmalarıdır. Örneğin sisplatin dirençli over kanseri hücrelerinden salınan eksozomlarda bulunan Anneksin A3 proteinin ilaç dirençliliği ile ilintisi tespit edilmiştir²⁷. Over, prostat, meme kanser hücreleri ile yapılan hücre kültürü çalışmalarında da ilaca dirençli olan tümör hücrelerinden salınan eksozomlar içerisindeki spesifik miRNA'ların ve MDR-1 gibi proteinlerin, duyarlı hücreleri de dirençli hale getirdiği gösterilmiştir²⁸. Örneğin yapılan bir çalışmada adriamisin dirençli meme kanser hücrelerinden salınan ve içlerinde miR100, miR20 ve miR30a taşıyan eksozomların, duyarlı olan meme kanser hücrelerinde ilaç dirençliliği geliştirdiği belirlenmiştir²⁹.

Eksozomların tanı ve hastalık seyrinin izlenmesindeki rolleri

Eksozomlar kanserin tanısında, tedaviye verilen cevabın ve prognozun izlenmesinde potansiyel biyobelirteçler olma

özelliğindedirler. Çünkü eksozomlar köken aldıkları kanser hücrelerini yansıtır. Ayrıca hemen tüm vücut sıvılarından elde edilebilmeleri sebebi ile de “sıvı biyopsiler” olarak adlandırılmaktadırlar³⁰.Yapılan bir çalışmada, normal prostat epitel hücreleri ile prostat kanser hücrelerinden kaynaklanan eksozomlar karşılaştırılmış ve prostat kanser hücrelerinde biyobelirteç olabilecek dört protein tespit edilmiştir. Araştırmacılar tespit edilen bu dört proteinden ikisinin daha önce hiç rapor edilmediğini belirtmektedirler³¹.Bir diğer çalışmada ise, metastatik olan ve olmayan prostat kanser hastalarının serum miRNA kompozisyonları karşılaştırılmış ve sonuçta gruplar arasında 16 miRNA'nın farklı ifadelendiği bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada sağlıklı kişilerin serum eksozomları ile prostat kanser hastalarının serum eksozomları arasında da 12 miRNA'nın farklı ifadelendiği belirlenmiştir³².Glioblastoma hastaları ile yapılan bir çalışmada ise serum kökenli eksozomlardan elde edilen miR21 seviyesinin sağlıklı kişileri hasta bireylerden %87 sensitivite ve %93 spesifite ile ayırdığı bulunmuştur. miR21 onkogenik özellikte olup; p53, PTEN gibi birçok tümör baskılayıcı geni hedeflemektedir³³. Bir başka çalışmada da glioblastoma hasta serumlarından elde edilen eksozomlarda mutant EGFRvIII'ü kodlayan mRNA tespit edilmiştir³⁴. Eksozom içerisinde bulunan moleküllerin hastaları farklı risk gruplarına göre sınıflandırmada da faydalı olabileceği belirtilmektedir.

Eksozomların kanser tedavisinde olası kullanım yolları

Son yıllarda eksozom ile çalışan araştırmacıların üzerinde durdukları konulardan biri de eksozomların kanser tedavisinde kullanım potansiyellerinin araştırılmasıdır. Özellikle kanser gelişimine katkısı olan eksozomların hedef alınmasının kullanıldığı tedavi yaklaşımları üzerinde çalışılmaktadır. Eksozomlar kanser hücrelerinin gelişimi için lokal ve sistemik çevreyi modifiye ettikleri için

bunların salınımının engellenmesinin bir tedavi yaklaşımı olarak düşünülebileceği belirtilmektedir. Örneğin bir çalışmada seramid oluşumunu engelleyen bir inhibitör kullanılarak eksozom oluşumunun azaltılması hedeflenmiştir³⁵. Bir diğer çalışmada eksozom salınımı hücre içi Ca²⁺ miktarının artması ile tetiklendiği için Ca²⁺ kanallarının amiloride ile baskılanması sonucu eksozom oluşumunun azalması hedeflenmiştir³⁶. Kanın filtre edilmesi (özellikle ilaç toksisite riski olduğu durumlarda) ile eksozom salınımının azaltılmasına yönelik çalışmalar da bulunmaktadır.

Kanser tedavisinde, eksozomların hedeflenmelerinin yanı sıra tedavi amaçlı olarak direkt kullanıldıkları çalışmalar da bulunmaktadır. Eksozomlar doğal lipozom özelliği taşıdıkları, nanoboyutta oldukları ve kanda büyük ölçüde stabil kaldıkları için ilaçların kanser hücrelerine spesifik olarak iletilmesinde avantajlı olabilecekleri düşünülmektedir. Ancak bu yaklaşımda cevaplanması gerekli birtakım sorular bulunmaktadır; Örneğin donör hücre tipinin ne olacağı, terapötik kargonun ne olacağı (miRNA veya ilaç vs.) ve eksozom içine ne yolla yüklenip ve nasıl hedeflenecekleri cevaplanması gereken sorular arasında gözükmektedir¹⁰.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazar çıkar çatışması olmadığını bildirmiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma her hangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The author declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Trams EG, Lauter CJ, Salem Jr N, Heine U. Exfoliation of membrane ectoenzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim Biophys Acta*. 1981; 645: 63-70.
2. Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem*. 1987; 262: 9412-20.
3. Xu W, Yang Z, Lu N. From pathogenesis to clinical application: insights into exosomes as transfer vectors in cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016; 35: 156-168.
4. Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: Where we are and where we need to go. *Cell*. 2016; 164: 1226-32.
5. Yuana Y, Sturk A, Nieuwland R. Extracellular vesicles in physiological and pathological conditions. *Blood Rev*. 2013; 27: 31-9.
6. Staubach S, Razawi H, Hanisch FG. Proteomics of MUC1-containing lipid rafts from plasma membranes and exosomes of human breast carcinoma cells MCF-7. *Proteomics*. 2009; 9: 2820-35.
7. Yim N, Ryu SW, Choi K, et al. Exosome engineering for efficient intracellular delivery of soluble proteins using optically reversible protein-protein interaction module. *Nat Commun*. 2016; 7: 12277-86.
8. Subra C, Laulagnier K, Perret B, et al. Exosome lipidomics unravels lipid sorting at the level of multivesicular bodies. *Biochimie*. 2007; 89: 205-12.
9. Wang J, Sun X, Zhao J, et al. Exosomes: A Novel Strategy for Treatment and Prevention of Diseases. *Front Pharmacol*. 2017; 8: 300-313.
10. Whiteside TL. Tumor-Derived Exosomes and Their Role in Cancer Progression. *Adv Clin Chem*. 2016; 74: 103-41.
11. Henne WM, Buchkovich NJ, Emr SD. The ESCRT pathway. *Dev Cell*. 2011; 21: 77-91.
12. Yanez-Mo M, Barreiro O, Gordon-Alonso M, Sala-Valdes M, Sanchez-Madrid F. Tetraspanin-enriched microdomains: a functional unit in cell plasma membranes. *Trends Cell Biol*. 2009; 19: 434-46.
13. Verweij FJ, van Eijndhoven MA, Hopmans ES, et al. LMP1 association with CD63 in endosomes and secretion via exosomes limits constitutive NF-kappaB activation. *EMBO J*. 2011; 30: 2115-29.
14. 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.
15. Kahlert C, Kalluri R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91: 431-7.
16. Wang Z, Chen JQ, Liu JL, Tian L. Exosomes in tumor microenvironment: novel transporters and biomarkers. *J Transl Med*. 2016; 14: 297-306.
17. Wang M, Ji S, Shao G, et al. Effect of exosome biomarkers for diagnosis and prognosis of breast cancer patients. *Clin Transl Oncol* 2017; doi: 10.1007/s12094-017-1805-0.
18. Neviani P, Fabbri M. Exosomal microRNAs in the Tumor Microenvironment. *Front Med (Lausanne)*. 2015; 2: 47-53.
19. King HW, Michael MZ, Gleadle JM. Hypoxic enhancement of exosome release by breast cancer cells. *BMC Cancer*. 2012; 12: 421-31.
20. Li W, Li C, Zhou T, et al. Role of exosomal proteins in cancer diagnosis. *Mol Cancer*. 2017; 16: 145.
21. Dorayappan KDP, Wallbillich JJ, Cohn DE, Selvendiran K. The biological significance and clinical applications of exosomes in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2016; 142: 199-205.
22. Zhang HG, Grizzle WE. Exosomes: a novel pathway of local and distant intercellular communication that facilitates the growth and metastasis of neoplastic lesions, *Am J Pathol*. 2014; 184: 28-41.
23. Lynch C, Panagopoulou M, Gregory CD. Extracellular Vesicles Arising from Apoptotic Cells in Tumors: Roles in Cancer Pathogenesis and Potential Clinical Applications. *Front Immunol*. 2017; 8: 1174.
24. Syn N, Wang L, Sethi G, Thiery JP, Goh BC. Exosome-Mediated Metastasis: From Epithelial-Mesenchymal Transition to Escape from Immunosurveillance. *Trends Pharmacol Sci*. 2016 Jul; 37:606-17.
25. Schuler PJ, Saze Z, Hong CS, et al. Human CD4(+) CD39(+) regulatory T cells produce adenosine upon co-expression of surface CD73 or contact with CD73(+) exosomes or CD73(+) cells, *Clin. Exp. Immunol*. 2014; 177: 531-43.
26. Muller-Haegle S, Muller L, Whiteside TL. Immunoregulatory activity of adenosine and its role in human cancer progression. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014; 10: 897-914.
27. Yin J, Yan X, Yao, Y, et al. Secretion of annexin, A3 from ovarian cancer cells and its association with platinum resistance in ovarian cancer patients, *J.Cell Mol.Med*. 2012; 16: 337-48.
28. Amorim M, Fernandes G, Oliveira P, Martins-de-Souza D, Dias-Netoand E, Nunes D. The overexpression of a single oncogene (ERBB2/HER2) alters the proteomic landscape of extracellular vesicles. *Proteomics*. 2014; 14: 1472-9.
29. Mao L, Li J, Chen WX, et al. Exosomes decrease sensitivity of breast cancer cells to adriamycin by delivering microRNAs. *Tumor Biol*. 2016; 37: 5247-56.
30. Fujita Y, Yoshioka Y, Ochiya T. Extracellular vesicle transfer of cancer pathogenic components. *Cancer Sci*. 2016; 107: 385-90.

31. Duijvesz D, Burnum-Johnson KE, Gritsenko MA, et al. Proteomic profiling of exosomes leads to the identification of novel biomarkers for prostate cancer. *PLoS One*. 2013; 8: e82589.
32. Bryant RJ, Pawlowski T, Catto JW, et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer. *Br J Cancer*. 2012; 106: 768-74.
33. Lee TJ, Yoo JY, Shu D, et al. RNA Nanoparticle-Based Targeted Therapy for Glioblastoma through Inhibition of Oncogenic miR-21. *Mol Ther*. 2017; 25: 1544-55.
34. Graner MW, Alzate O, Dechkovskaia AM, et al. Proteomic and immunologic analyses of brain tumor exosomes. *FASEB J*. 2009; 23: 1541-57.
35. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Takeshita F, Matsuki Y, Ochiya T. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. *J Biol Chem*. 2010; 285: 17442-52.
36. 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: 457-71.