

## Eksozomlar: Tanı ve Tedavide Kullanılabilen Doğal Nanokesecek Adayları

### *Exosomes: Natural Nanovesicle Candidates Used in the Diagnosis and Treatment*

Tamer Kahraman, Gözde Güçlüler, İhsan Gürsel

Bilkent Üniversitesi, Thorlab, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Fakültesi, Ankara, Türkiye

#### İletişim adresi:

İhsan Gürsel  
Bilkent Üniversitesi, Thorlab, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Fakültesi, 06800 Bilkent, Ankara, Türkiye  
Tel: +90 538 - 648 20 10  
e-posta: ihsangursel@bilkent.edu.tr

©2014 Turkish Journal of Immunology.  
All rights reserved.

doi: 10.5606/tji.2014.323

Geliş tarihi: 18 Temmuz 2014  
Kabul tarihi: 30 Ağustos 2014

Eksozomlar bilinen tüm hücreler tarafından ortama salınan nanokeseceklerdir. 1980'li yıllarda ilk keşiflerini takiben sadece istenmeyen molekülleri hücre dışına atmaktan sorumlu hücre artıkları olarak anılsalar da son 20 yılda yapılan çalışmalar bu keseciklerin önemli fizyolojik görevleri olduğunu ortaya çıkarmıştır. Tüm vücut sıvılarından elde edilebilen bu kesecikler hücreler arası iletişim, sinyal iletimi, genetik materyal transferi ve immünolojik yanıtın düzenlenmesi gibi birçok biyolojik aktivitede önemli rol almaktadır. Eksozomlar çok değişik görevleri nedeni ile hastalık patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Tüm bu görevleri göz önüne alındığında eksozomlar hem tanı hem de tedavide kullanılabilir. Farklı hücrelerden köken alan eksozomların immün baskılayıcı ve etkinleştirici özelliklerinin bulunması otoimmün ve immün baskılama gibi durumlarda, immün işlevin düzenlenmesini sağlayacak terapötik uygulamaları söz konusudur. Bunun yanı sıra, doğal bir nanotaşıyıcı olmalarından dolayı eksozomlar hem adjuvanın hem de antijenin taşınabildiği yeni nesil aşılarda tasarımına olanak sağlamaktadır. Eksozomların tedavi edici uygulamalarının yanı sıra hastalık patogenezlerinde rol almasından dolayı prostat kanseri, glioblastom, akciğer yassı hücreli karsinomu ve hepatoselüler karsinom gibi kanser çeşitlerinin tanısında da kullanılabileceğine dair bulgular vardır.

**Anahtar sözcükler:** Kanser; tanı; eksozom nanokesecekleri; immünite; terapi.

Exosomes are nano-vesicles released by all known cells. Although they were called as residual cells acting as a cleaner of undesired molecules out of cell during the first discovery in 1980s, recent studies have revealed critical physiological tasks of these vesicles over the past 20 years. These vesicles which can be produced by all body fluids play an important role in many biological activities including intracellular communication, signal conduction, genetic material transfer, and regulation of immune response. Due to their several tasks, exosomes play a crucial role in the disease pathogenesis. Considering all these tasks, exosomes can be considered in both diagnosis and treatment. Exosomes originating from distinct cells have immunosuppressive and immunostimulatory features and, thereby, therapeutic attempts which regulate immune function in case of autoimmune and immunosuppression. In addition, thanks to being natural nano-carriers, exosomes may pave the way for the development of new-generation vaccines containing both adjuvant and antigen. Besides therapeutic applications, there are evidences indicating that exosomes can be used in the diagnosis of several cancer forms including prostate cancer, glioblastoma, squamous-cell lung carcinoma and hepatocellular carcinoma, as they play a role in the disease pathogenesis.

**Key words:** Cancer; diagnosis; exosome nano-vesicle; immunity; therapy.

Eksozomlar bilinen tüm hücreler tarafından ortama salınan, boyutları 30 ile 100 nm arasında değişen nano keseciklerdir.<sup>[1]</sup> Eksozomlar kendilerine özgü biyogenez yolları, lipid kompozisyonları, taşıdıkları kargo ve boyutları gibi özellikleriyle diğer hücre dışı keseciklerden farklılık göstermektedir.<sup>[2]</sup> Tüm vücut sıvılarından elde edilebilen bu keseciklerin hücreler arası haberleşme,

sinyal iletimi, genetik malzeme aktarımı ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesi gibi birçok biyolojik işlevde önemli rol üstlendikleri yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.<sup>[3-6]</sup> Eksozomların bu tür görevlerinin olduğunun anlaşılması bu nanokeseceklerin farklı kullanım alanlarının ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. Bu kullanım alanlarından ilki farklı hastalıkların patogenezindeki rollerinden ve

içeriklerinden dolayı hastalık tanısı amaçlı kullanımlarıdır.<sup>[7]</sup> Bir diğeri ise eksozomların, immün düzenlenleyici özelliğinden kaynaklanan; kanser, otoyangısal ve otoimmün hastalıklara karşı, tedavide kullanımları her geçen gün yaygınlaşmaktadır.<sup>[8]</sup>

Eksozomların, özellikle lipid içinde çözünen ilaçlar ve genetik materyaller için taşıyıcı kesecik ve antijen ile adjuvanın birlikte taşınabildiği aşı taşıyıcıları olarak kullanımı tedavi edici uygulamalarının en önemlileridir. Eksozomlar yapıları gereği yapay taşıyıcılara göre önemli faydalar içermektedir. Doğal olmaları en önemli faydaları olmakla birlikte, hücre dışı ortama salınan eksozomların serum,<sup>[9]</sup> plazma,<sup>[10]</sup> idrar,<sup>[11]</sup> amniyotik sıvı,<sup>[11]</sup> sinoviyal sıvı,<sup>[12]</sup> anne sütü<sup>[13]</sup> ve tükürük<sup>[13]</sup> gibi vücut sıvılarından toplanabilmeleri hem düzgün biyodağılımlarının olduğunu hem de vücut sıvılarında kararlı bir yapıya sahip olduklarını göstermektedir. Ayrıca çok küçük olmaları sayesinde her türlü vücut engelinden geçebilmektedirler. Bu faydaları göz önüne alındığında farklı yükleme yöntemleri kullanılarak eksozomların tedavi edici amaçlı kullanımları yaygınlaşmaktadır.

Eksozomların tanısal amaçlı kullanımları daha çok yeni bir yöntem olmakla birlikte önemli bir yenilikçi gizli güç içermektedir. Günümüzde birçok hastalık için duyarlılığı ve özgünlüğü düşük tanı yöntemleri bulunmaktadır. Eksozomların genetik malzeme, özellikle de micro-ribonükleid asit (miRNA), taşımaları ve tüm vücut sıvılarından ayrıştırılabilmeleri yeni, özgül ve girişimsel olmayan tanı yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

### Eksozomların Biyogenezi, Yapısı ve Kargosu

Eksozomlar, endozomların olgunlaşmaları sırasında endozom zarının kendi içine doğru kıvrılmasıyla oluşur. İçerisinde birçok nanokesecik barındıran bu oluşuma çok kesecikli yapılar denmektedir (MVB: multivesicular bodies). Bu çok-kesecikli endozomun hücre zarı ile birleşip içerisindeki kargoyu dış ortama salması ile birlikte eksozomlar vücut sıvılarına yayılmaktadır.<sup>[14]</sup> Bu oluşum yolağı nedeni ile diğer hücre kökenli keseciklerden ayrılmakla birlikte taşıdığı kargo ve yapısı bakımından daha türdeş bir toplum oluşturmaktadır.

Yapılan çalışmalar eksozom içeriğinin hem hücreden hücreye hem de hücrenin o andaki durumuna göre değişiklik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte farklı hücre kökenli eksozomlar belli ortak proteinleri de ifade etmektedir. Bu proteinler arasında CD9, CD37, CD53, CD63, CD81 ve CD82 tetraspanin molekülleri öne çıkmaktadır.<sup>[15]</sup> Eksozomlar ayrıca MVB oluşumunda rol alan Alix ve TSG101 (tumor susceptibility gene 101), Rab11, HSP70 (heat shock proteins 70) ve 90, Annexin 1 ve 2 ile ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) proteinlerini de ifade etmektedir.<sup>[16]</sup> Eksozomların membran

yapısında bulunan lipid raftlar içerisindeki kolesterol, fosfatidilkolin, fosfatidilserin ve diğliseritler tüm eksozomlarda bulunan ortak lipid molekülleridir.<sup>[17]</sup>

Eksozomları bu kadar popüler yapan aslında protein ve lipid taşımaları değildir. Hepatit C virüsü ile enfekte olmuş hasta kanları ile yapılan çalışmalarda hasta eksozomlarının virüs zar proteinlerine ait haberci RNA (mRNA)<sup>[18]</sup> bulunması ve mast hücresi kökenli eksozomlarda miRNA<sup>[19]</sup> bulunduğu saptanması bu alana olan ilginin artmasına neden olmuştur. Normal koşullarda eksozomlar genomik DNA içermiyor olsalar da yapılan bir çalışmada glioblastoma ve astrositoma hücrelerinden salınan eksozomların mitokondriyal DNA taşıdıkları belirtilmiştir.<sup>[20]</sup>

### Eksozomların Fizyolojik Görevleri

Eksozomların vücut dengesinin korunmasında önemli ve farklı görevleri bulunmaktadır. 1980'li yıllarda eksozomların hücrenin fazla proteinlerinin hücre dışına taşınmasından sorumlu olduğu düşünülmüştür. Bunda eksozomların alyuvar olgunlaşması sırasında transferrin reseptörünün atılması için kullanıldığının gösterilmesi önemli rol oynamıştır.<sup>[21]</sup> Benzer şekilde etkinleşmiş Wnt proteinlerinin hücre dışına taşınması görevi de eksozomlar tarafından üstlenilmektedir.<sup>[22]</sup> Eksozomlar kullanılarak proteinlerin hücreden uzaklaştırılması farklı hastalıklarda da görülmektedir. Deli Dana (BSE) hastalığı olan bireylerde yapılan bir çalışmada prion proteininin (cellular prion protein; PrPC) etkinleşmiş trombositlerin yüzeyinden salınan eksozomlarda olduğu saptanmıştır.<sup>[23]</sup> Romatoid artritli hastalarda da benzer bir durum sinoviyal fibroblast hücreleri tarafından TNF reseptör I'in salımı için kullanılmaktadır.<sup>[24]</sup>

Hücrelerden dış ortama salınan eksozomlar mRNA ve miRNA moleküllerini sadece taşımakla kalmayıp bu moleküller sayesinde alıcı hücrenin transkriptomunu da değiştirebilmektedir. Bu işleve en iyi örnek glioblastoma hücreleri tarafından salınan eksozomların RNA kargolarının alındıkları beyin endotel hücrelerinde proteine dönüştükleri ve tümör mikro çevresinin düzenlenmesinde rol oynadıkları gösterilmiştir. Aynı şekilde glioblast kökenli eksozomlar glioblast hücrelerinin büyümesini de tetiklemektedir.<sup>[25]</sup>

Eksozomlar tüm bu rollerinin yanı sıra immün yanıtlarda önemli görevler üstlenmekte ve immün homeostazi sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar farklı hücre kökenli eksozomların bağışıklık hücreleri üzerinde birden fazla etki gösterebilen (pleiotropik) hem baskılayıcı hem de etkinleştirici etki gösterdikleri saptanmıştır.

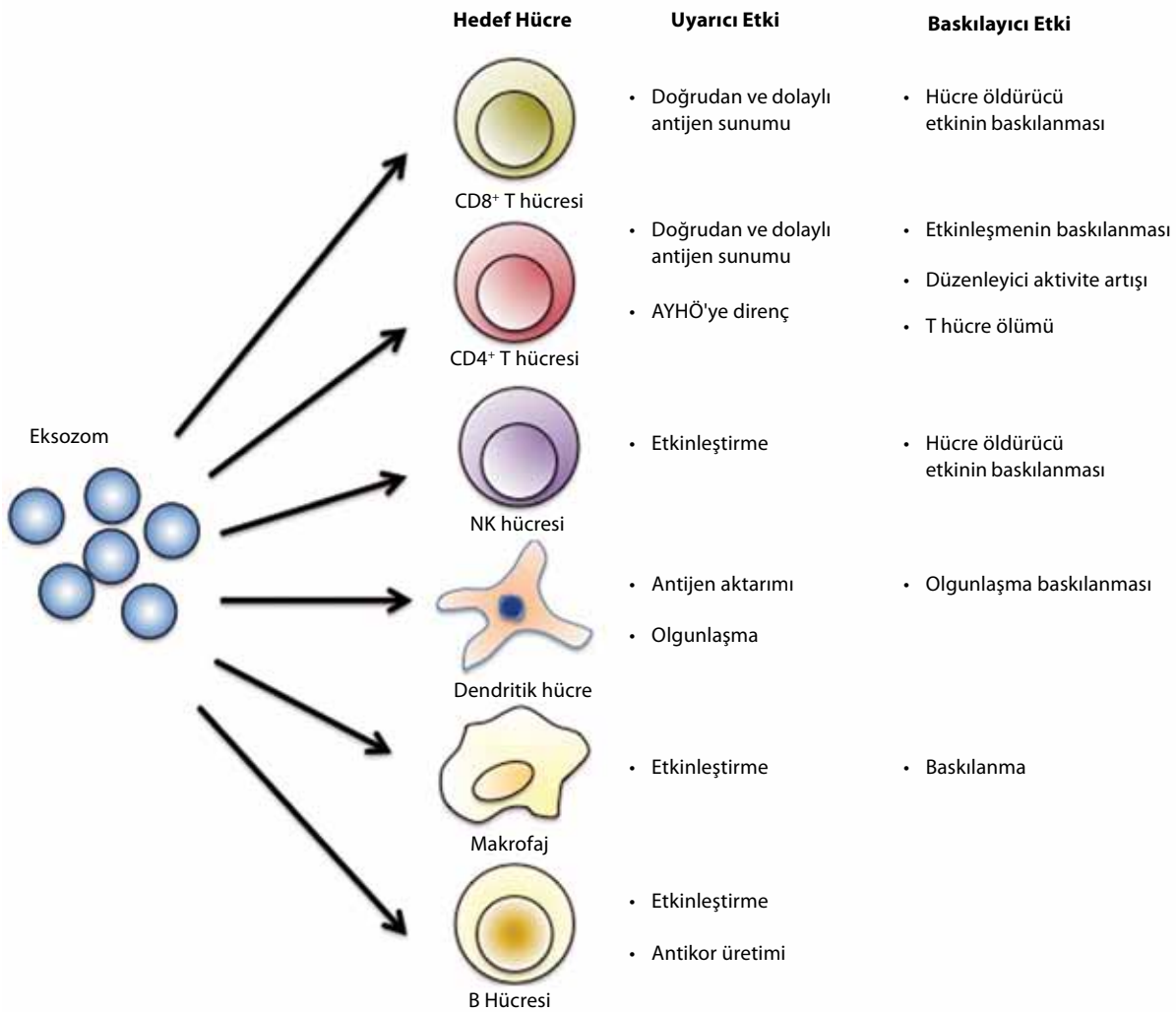
Yapılan çalışmalar tümörlerden salınan eksozomların CD95 ligandı (CD95L veya FasL) ya da galectin 9 moleküllerini yüzeylerinde ifade etmeleri nedeni ile

T lenfositlerin programlı ölüme girmesine neden oldukları gösterilmiştir.<sup>[26]</sup> Bunun yanı sıra bu tip eksozomların interlökin 2 (IL-2) tarafından sitotoksik T lenfositler (CTL) ve doğal öldürücü (Natural Killer; NK) hücrelerinin IL-2 molekülüne yanıtını engeller iken düzenleyici T hücrelerinin IL-2 kaynaklı çoğalmasını etkilememektedir.<sup>[27]</sup> Tümör kökenli eksozomlar immün hücreler üzerinde; CD8+ T hücrelerinin ve NK hücrelerinin sitotoksik etkilerinin azalması, miyeloid öncül hücrelerin dendritik hücrelere farklılaşmasını engellemekle birlikte miyeloid kökenli baskılayıcı hücrelerin (MDSC) oluşmasını tetiklemektedir.<sup>[28]</sup> Sonuç olarak tümör kökenli eksozomlar tümör mikro çevresinde anti-tümör immün tepkilerin oluşmasını engellemektedir.

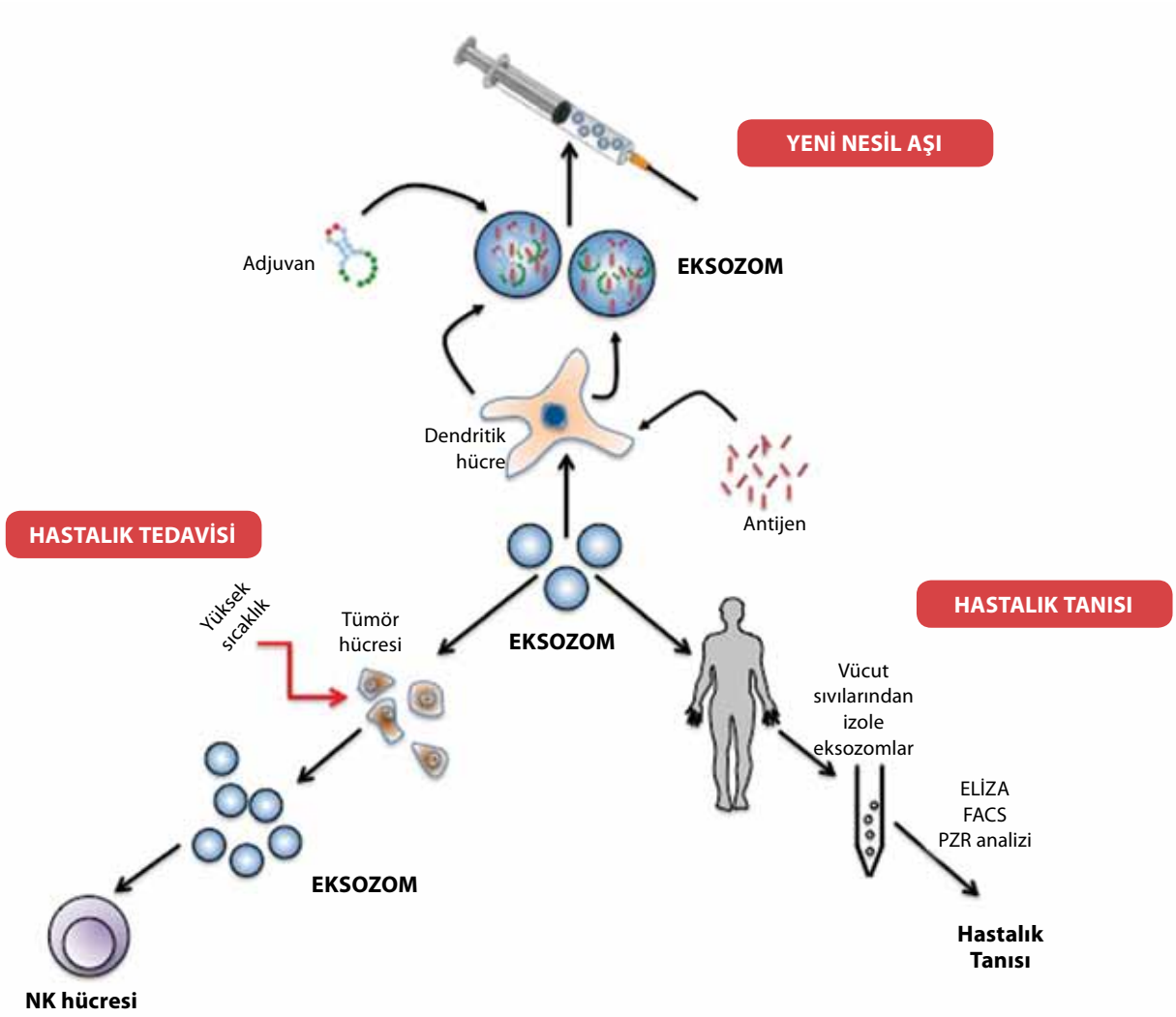
Eksozomların immün baskılayıcı rollerinin yanı sıra immün hücrelerini etkinleştiren işlevleri de bulunmaktadır. Örneğin, etkinleşmiş platelet hücrelerinin ortama saldıgı eksozomlar kan hücrelerinin çoğalmasında ve

kemotaksislerinde, monositlerin etkinleşmelerinde ve CD40L/CD40 yolağı aracılığı ile B hücrelerinin etkinleşmesinde görev almaktadırlar.<sup>[3]</sup> Bu sayede B hücrelerinin CD4+ T hücrelere olan gereksinimleri ortadan kalkmaktadır. Hücre içi patojenler tarafından enfekte olmuş makrofaj hücreleri tarafından salınan eksozomlar patojene ait pro-yanğısal moleküller içerdiklerinden dolayı rezervör makrofajları pro-yanğısal sitokin salımı için uyarmaktadır. Özellikle, *Mycoplasma arginini* veya *Mycoplasma orale* tarafından enfekte olan makrofajlar tarafından salınan pro-yanğısal eksozomlar B- ve T-hücrelerinin poliklonal etkinleşmelerine neden olmaktadır.<sup>[29]</sup> Eksozomlar ile farklı hücreler arasındaki etkileşim Şekil 1'de özetlenmiştir.

Eksozomların köken aldıkları hücrelerin durumuna göre gösterdikleri pleiotropik etkiler bu doğal nanokesciklerin farklı biyomedikal uygulamalarının ortaya çıkmasını sağlamaktadır. İmmün kararlı dengenin



**Şekil 1.** Eksozomların kökenine göre farklı hücreler üzerindeki etkileri. AYHÖ: Aktivasyon yolu hücre ölümü.



**Şekil 2.** Eksozomların potansiyel biyomedikal uygulamaları.

sağlanmasında etkili olan eksozomların uygun bir şekilde seçilmesi hem otoimmün hem de immün yetersizlik durumlarında tedavi amaçlı kullanımlarını ortaya çıkarır iken, immün hücrelerini etkilemeleri daha etkin aşılardan geliştirilmesinin de önünü açmaktadır. Eksozomların fizyolojik görevlerinin yanı sıra yukarıda belirtildiği gibi patolojik mekanizmalarda da yer almaları eksozom tabanlı tanı yöntemlerinin oluşmasını sağlamaktadır (Şekil 2).

### Eksozomların Tedavi Amaçlı Kullanımları

Taşıdıkları kargo, bağışıklığı düzenleyici rolleri ve hücreler arası iletişimi sağlamaları, bu nanokesecciklerin tedavi amaçlı kullanımlarının mümkün olduğunu ortaya koymaktadır. Eksozomların hali hazırda doğal taşıyıcı olarak var olması, biyodağılımının ve plazmadaki kararlılığının yüksek olması, onları tedavi

edici uygulamalar için uygun bir aday yapmaktadır. Eksozomların tedavi edici uygulamalarını ikiye ayırmak mümkündür; (i) eksozomları kendi başlarına kullanmak ya da (ii) eksojenik bir moleküle taşıyıcı olacak şekilde tasarlamak.

Yapılan çalışmalar dendritik hücre kökenli eksozomların bağışıklayıcı oldukları savını güçlendirmektedir. Dendritik hücre kökenli ve tümör peptid-majör doku uygunluk kompleksi (MHC) barındıran eksozomların enjeksiyonu tümör reddini sağlamaktadır.<sup>[30]</sup> Antijen ile olgunlaştırılmış dendritik hücre kökenli eksozomların erkek fareden alınıp dişi fareye enjeksiyonu hızlı yama kaybına neden olmaktadır.<sup>[31]</sup> Bu olgu da eksozomların *in vivo* naif CD4+ T hücrelerini etkileyerek etkin CD4+ T hücrelerine dönüşmelerini sağladığını göstermektedir.

Yakın geçmişte eksozomların antijenlerden bağımsız *in-vivo* uyarıcı etkilerini de vurgulayan yayınlar bildirilmiştir.<sup>[32,33]</sup> Farelerde yapılan çalışmalarda dendritik hücre kökenli eksozomların lenf düğümlerinde NK hücrelerinin toplanması ve çoğalmasında rol aldıkları gösterilmiştir.<sup>[34]</sup> Ayrıca melanomalı hastalarda hücre yüzeyi doğal öldürücü grup 2 D üyesi (Natural killer group 2, member D; NKG2D) ifadesini NK ve T hücrelerine yeniden ifade ettirebildiklerinden tümörler tarafından baskılanan hücrel sitotoksik etkinleşmeyi de geri kazandırmaktadır (Şekil 2).

*In vivo* immün etkinleşme özelliklerinin yanında eksozomların *in vivo* hoşgörüyü yaratan özellikleri de klinik açıdan önemlidir. Daha önce belirtildiği üzere olgunlaşmış dendritik hücre kökenli eksozomlar immün etkinleşmede rol alır iken etkinleşmiş dendritik hücre kökenli eksozomlar ise daha çok immün baskılanmasında rol almaktadır. Bu tip baskılayıcı eksozomların yama kaybını<sup>[35]</sup> (graft rejection) ve septik şok modelinde yangıyı engellediği bilinmektedir.<sup>[32]</sup> Ayrıca CD95L+ ve IL10+ dendritik hücre kökenli eksozomların artirit modelinde eklem bölgelerindeki enflamasyonu özgül bir şekilde engellediği gösterilmiştir.<sup>[33]</sup>

Son olarak epitel kökenli eksozomların hoşgörüyü yaratan etkileri de bulunmaktadır. Alerjene maruz bırakılmış farelerin akciğer epitelinden salınan ve bronkoalveolar lavaj sıvısından izole edilen eksozomların allojenik aktarımı alıcı farede de aynı alerjene karşı tolerans gelişmesini sağlamaktadır.<sup>[36]</sup>

Eksozomların modifiye edilerek bir ilaca ya da düzenleyici moleküle taşıyıcı olarak kullanılması da yukarıda bahsedilen uygulamalardan farklı tedavi edici sistemlerdir. Bunlardan bir tanesi suda çözünürlüğü az olan kurkumin ilacına taşıyıcı olarak kullanılmasıdır. Kurkuminin EL-4 hücre hattından elde edilen eksozomlarla birlikte formüle edilerek fareye enjekte edildiğinde ilacın antiyangısal etkisini artırdığı bildirilmiştir.<sup>[37]</sup> Ayrıca eksozomlar kurkuminin beyin-kan engelini aşarak endotoksin ile tetiklenmiş beyin enflamasyonunu engelleyebildiği gösterilmiştir.<sup>[38]</sup> Benzer bir durum küçük müdahale edici RNA (siRNA)<sup>[39]</sup> ve miRNA<sup>[40]</sup>\_ENREF\_58 yüklenmiş eksozomların nakledilen tümörün büyümesini engellediği gösterilmiştir (Şekil 2).

### Eksozomların Tanı Amaçlı Kullanımları

Eksozomların hastalık patolojilerinde önemli rolünün olduğunun ve düzenleyici moleküllerin hücreler arası aktarımının yapıldığının anlaşılmasıyla birlikte bu nanokeseceklerin hastalık tanısında da kullanılacağı fikri önem kazanmıştır. Eksozomların içerisine mRNA ve miRNA molekülleri verici hücrede seçici bir şekilde yüklenmekte olup bu kesecikler tüm vücut

sıvılarından elde edilebilmektedir. Bu özellikler vücut sıvılarından elde edilen eksozomlar kullanılarak hastalığın tanısında yeni nesil özgün ve girişimsel olmayan tanı kitlerinin geliştirilebileceğini göstermektedir (Şekil 2).

Eksozomların tanısal anlamda kullanımına yönelik en önemli kanıtlar prostat kanseri ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Prostat kanseri hücre hatları ve primer dokulardan yapılan çalışmalarda belirlenen prostat kanseri belirteçlerin aynı zamanda plazma ve serumdan elde edilen eksozomlarda da bulunduğu gösterilmiştir. Daha önce belirlenen prostat kanseri belirteçleri olan miR21, 107, 141, 181a-2, 301a, 326, 331-3p, 625 ve 2110 moleküllerinin ifade düzeyleri hücrelere paralel bir şekilde onlardan salınan eksozomlarda da değişiklik göstermektedir.<sup>[41]</sup> Prostat kanserinin yanı sıra glioblastoma,<sup>[25]</sup> akciğer yassı hücreli karsinomu<sup>[42]</sup> ve hepatoselüler karsinom<sup>[43]</sup> gibi kanser tiplerinin tanısında da eksozomların kullanılabilmesine dair çalışmalar bulunmaktadır.

Sonuç olarak, nonakesecikler önemli fizyolojik görevlere sahip olmakla birlikte köken aldığı hücreye ve durumuna göre farklı tip ve etkide eksozomun ortama salınması, eksozomların biyomedikal kullanımını hem tedaviye yönelik hem de tanıya yönelik uygulamalarda mümkün kılmaktadır. Ancak günümüzde eksozomların klinikte kullanımının önünde vücut sıvılarından heterojen bir popülasyon olarak eldesi, eksozomlara protein ve RNA sınıflandırmasının tam olarak ne şekilde oluştuğuna dair mekanizmaların halen iyice anlaşılabilmesi ve yeterli duyarlılıkta tekniklerin mevcut olmaması gibi bazı engeller bulunmaktadır. Eksozom biyolojisinin daha iyi anlaşılması bu sorunların aşılıp yeni tedavi edici yaklaşımların gelişmesini sağlayacaktır. Aynı zamanda özellikle daha duyarlı miRNA saptamasını sağlayacak tekniklerin gelişmesi ile birlikte eksozomal miRNA'ların hastalık tanısındaki olası gücü artabilecek ve klinikte daha etkin ve yaygın kullanılmaya başlanacaktır.

### Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

### Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

### KAYNAKLAR

1. Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol* 2002;2:569-79.



2. Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol* 2009;9:581-93.
3. Théry C. Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications. *F1000 Biol Rep* 2011;3:15.
4. Février B, Raposo G. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol* 2004;16:415-21.
5. Mittelbrunn M, Gutiérrez-Vázquez C, Villarroya-Beltri C, González S, Sánchez-Cabo F, González MÁ, et al. Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. *Nat Commun* 2011;2:282.
6. Simons M, Raposo G. Exosomes--vesicular carriers for intercellular communication. *Curr Opin Cell Biol* 2009;21:575-81.
7. Duijvesz D, Luider T, Bangma CH, Jenster G. Exosomes as biomarker treasure chests for prostate cancer. *Eur Urol* 2011;59:823-31.
8. Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, Betts C, Lakhani S, Wood MJ. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol* 2011;29:341-5.
9. Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008;110:13-21.
10. Caby MP, Lankar D, Vincendeau-Scherrer C, Raposo G, Bonnerot C. Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int Immunol* 2005;17:879-87.
11. Keller S, Rupp C, Stoeck A, Runz S, Fogel M, Lugert S, et al. CD24 is a marker of exosomes secreted into urine and amniotic fluid. *Kidney Int* 2007;72:1095-102.
12. Skriner K, Adolph K, Jungblut PR, Burmester GR. Association of citrullinated proteins with synovial exosomes. *Arthritis Rheum* 2006;54:3809-14.
13. 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;9:9.
14. Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol* 1983;97:329-39.
15. Escola JM, Kleijmeer MJ, Stoorvogel W, Griffith JM, Yoshie O, Geuze HJ. Selective enrichment of tetraspan proteins on the internal vesicles of multivesicular endosomes and on exosomes secreted by human B-lymphocytes. *J Biol Chem* 1998;273:20121-7.
16. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol* 2013;200:373-83.
17. Laulagnier K, Motta C, Hamdi S, Roy S, Fauvel F, Pageaux JF, et al. Mast cell- and dendritic cell-derived exosomes display a specific lipid composition and an unusual membrane organization. *Biochem J* 2004;380:161-71.
18. Masciopinto F, Giovani C, Campagnoli S, Galli-Stampino L, Colombatto P, Brunetto M, et al. Association of hepatitis C virus envelope proteins with exosomes. *Eur J Immunol* 2004;34:2834-42.
19. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007;9:654-9.
20. 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;21:708-21.
21. Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell* 1983;33:967-78.
22. Gross JC, Chaudhary V, Bartscherer K, Boutros M. Active Wnt proteins are secreted on exosomes. *Nat Cell Biol* 2012;14:1036-45.
23. Robertson C, Booth SA, Beniac DR, Coulthart MB, Booth TF, McNicol A. Cellular prion protein is released on exosomes from activated platelets. *Blood* 2006;107:3907-11.
24. Zhang HG, Liu C, Su K, Yu S, Zhang L, Zhang S, et al. A membrane form of TNF-alpha presented by exosomes delays T cell activation-induced cell death. *J Immunol* 2006;176:7385-93.
25. Skog J, Würdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Sena-Esteves M, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol* 2008;10:1470-6.
26. Andreola G, Rivoltini L, Castelli C, Huber V, Perego P, Deho P, et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles. *J Exp Med* 2002;195:1303-16.
27. Clayton A, Mitchell JP, Court J, Mason MD, Tabi Z. Human tumor-derived exosomes selectively impair lymphocyte responses to interleukin-2. *Cancer Res* 2007;67:7458-66.
28. Valenti R, Huber V, Filipazzi P, Pilla L, Sovena G, Villa A, 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;66:9290-8.
29. Quah BJ, O'Neill HC. Mycoplasma contaminants present in exosome preparations induce polyclonal B cell responses. *J Leukoc Biol* 2007;82:1070-82.
30. Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, Wolfers J, Flament C, Tenza D, et al. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med* 1998;4:594-600.
31. Segura E, Nicco C, Lombard B, Véron P, Raposo G, Batteux F, et al. ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T-cell priming. *Blood* 2005;106:216-23.
32. Miksa M, Wu R, Dong W, Komura H, Amin D, Ji Y, et al. Immature dendritic cell-derived exosomes rescue septic animals via milk fat globule epidermal growth factor-factor VIII [corrected]. *J Immunol* 2009;183:5983-90.
33. Kim SH, Bianco N, Menon R, Lechman ER, Shufesky WJ, Morelli AE, et al. Exosomes derived from genetically modified DC expressing FasL are anti-inflammatory and immunosuppressive. *Mol Ther* 2006;13:289-300.
34. Viaud S, Terme M, Flament C, Taieb J, André F, Novault S, et al. Dendritic cell-derived exosomes promote natural killer cell activation and proliferation: a role for NKG2D ligands and IL-15Ralpha. *PLoS One* 2009;4:e4942.
35. Pêche H, Heslan M, Usal C, Amigorena S, Cuturi MC. Presentation of donor major histocompatibility complex antigens by bone marrow dendritic cell-derived exosomes modulates allograft rejection. *Transplantation* 2003;76:1503-10.
36. Prado N, Marazuela EG, Segura E, Fernández-García H, Villalba M, Théry C, et al. Exosomes from bronchoalveolar fluid of tolerized mice prevent allergic reaction. *J Immunol* 2008;181:1519-25.
37. 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;18:1606-14.
38. 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;19:1769-79.
  39. Akao Y, Iio A, Itoh T, Noguchi S, Itoh Y, Ohtsuki Y, et al. Microvesicle-mediated RNA molecule delivery system using monocytes/macrophages. *Mol Ther* 2011;19:395-9.
  40. 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.
  41. Hessvik NP, Sandvig K, Llorente A. Exosomal miRNAs as Biomarkers for Prostate Cancer. *Front Genet* 2013;4:36.
  42. Aushev VN, Zborovskaya IB, Laktionov KK, Girard N, Cros MP, Hecceg Z, 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.
  43. 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.