

УДК 577.2.616-006

РОЛЬ ЭКСОСОМ И МИКРОВЕЗИКУЛ В ПРОЦЕССЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

© 2013 г. И. Г. Никитина, Е. Ю. Сабирова, В. Л. Карпов, Н. А. Лисицын*, С. Ф. Берестень

Институт молекулярной биологии им В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991

Поступила в редакцию 21.03.2013 г.

Принята к печати 07.05.2013 г.

В обзоре суммированы современные представления о роли опухолевых экзосом и микровезикул в прогрессии, метастазировании и ангиогенезе опухолей, а также в подавлении систем врожденного и приобретенного иммунитета.

Ключевые слова: рак, канцерогенез, экзосомы, микровезикулы, метастазирование, васкуляризация, ангиогенез, наследственный и приобретенный иммунитет.

THE ROLE OF EXOSOMES AND MICROVESICLES IN CARCINOGENESIS, by I. G. Nikitina, E. Yu. Sabirova, V. L. Karpov, N. A. Lisitsyn*, S. F. Beresten (Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; *e-mail: niklisitsyn@yahoo.com). This review summarizes current knowledge on the role of tumor exosomes and microvesicles in progression, metastasis, and angiogenesis of tumors, as well as in suppression of adaptive and innate immunity.

Keywords: cancer, exosomes, microvesicles, metastasis, vascularization, angiogenesis, adaptive and innate immunity.

DOI: 10.7868/S0026898413050169

ВВЕДЕНИЕ

Покрытые мембраной микропузырьки, секретируемые в окружающее пространство прокариотическими и эукариотическим клетками, являются ключевыми медиаторами межклеточной коммуникации [1, 2]. Первоначально секретируемые во внеклеточный матрикс микропузырьки в дальнейшем попадают в кровь, лимфу и другие биологические жидкости и переносятся на значительное расстояние от клетки-донора. Слияние микропузырьков с клеткой-реципиентом приводит к проникновению в ее цитоплазму белков, липидов, мРНК, а также некодирующих РНК клетки-донора, что приводит к “перепрограммированию” клетки-реципиента [3] (подробный перечень молекул, содержащихся в микропузырьках, можно найти в базе данных ExoCarta [4]). Этим действие микропузырьков не ограничивается, поскольку содержащиеся в них металлопептидазы также участвуют в деградации внеклеточного матрикса при перестройке и регенерации тканей [5].

Эукариотические микропузырьки подразделяются на экзосомы (диаметром 40–100 нм), более крупные микровезикулы (100–1000 нм) и апоптотические тельца (1–5 мкм) [6, 7]. Многолетние исследования показали, что микропузырьки иг-

рают важную роль в функционировании адаптивного иммунитета [8, 9], в воспалительных процессах [10, 11] и эмбриогенезе [12]. В норме уровень секреции микропузырьков и их состав меняются в ответ на различные стимулы, например, при изменении концентрации кальция в клетках крови [13], деполяризации нейронов [14], а также сразу после потери клетками способности к адгезии к поверхности чашки Петри в процессе культивирования [15]. Кроме того, уровень секреции и состав микропузырьков заметно изменяются при целом ряде патологий [16, 17]. Выявление тканеспецифичных маркеров микропузырьков, секретируемых в кровотоке пораженными клетками, сможет, по-видимому, найти применение в клинической практике для неинвазивной диагностики и мониторинга целого ряда заболеваний, включая вирусные инфекции [18], нейродегенеративные и сердечно-сосудистые заболевания [19, 20], болезни печени и почек [21], а также различные виды рака [22]. В качестве диагностических маркеров могут использоваться белки и мРНК микропузырьков [23, 24], а также содержащиеся в них микроРНК [25].

Каким образом клетка-реципиент узнает микропузырьки, адресованные ей клеткой-донором,

* Эл. почта: niklisitsyn@yahoo.com

для последующего слияния? Показано, что в процессе узнавания участвуют трансмембранные рецепторы межклеточной адгезии, относящиеся к семействам интегринов, кадгеринов и селектинов [26]. При этом взаимодействующие друг с другом рецепторы, расположенные на поверхности микропузырька и клетки-реципиента, не только принадлежат к одному и тому же семейству, но и имеют одинаковую первичную структуру. Таким образом, процесс узнавания микропузырьков, адресованных клеткой-донором клетке-реципиенту, основан на образовании димеров или олигомеров идентичных молекул (так называемом гомофильном связывании). На следующей стадии происходит слияние микропузырька с клеткой-реципиентом, в результате которого наблюдается частичное перепрограммирование ее метаболизма [27], обусловленное действием двух процессов: 1) прямого влияния содержащихся в микропузырьках молекул белков и транслируемых в цитоплазме клетки-реципиента мРНК [28, 29], а также микроРНК, осуществляющих регуляцию трансляции клеточных мРНК [3]; 2) эпигенетических изменений структуры и функции хроматина в ядре клетки-реципиента, которые передаются дочерним клеткам после клеточного деления [30].

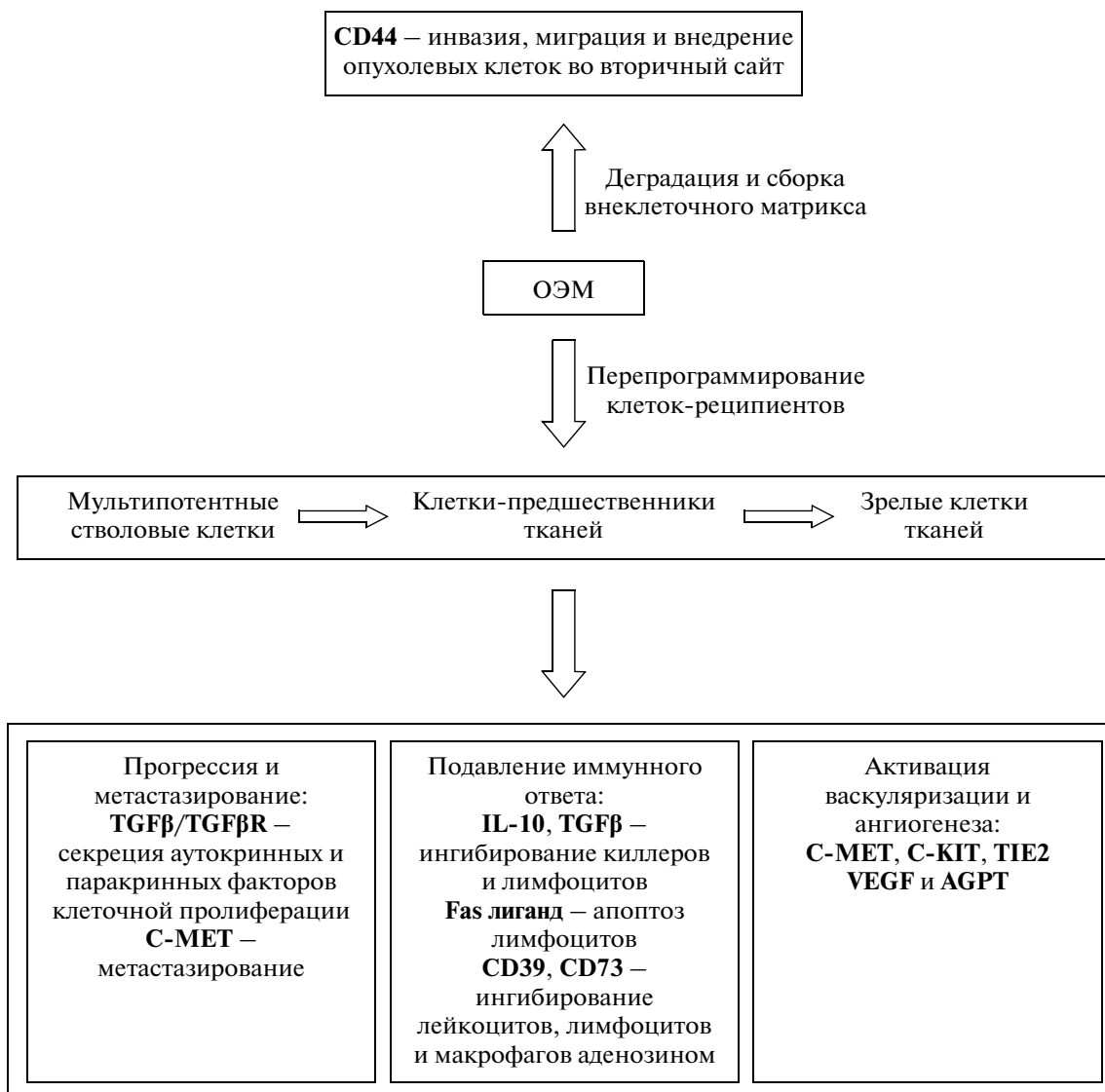
РОЛЬ ОПУХОЛЕВЫХ ЭКЗОСОМ И МИКРОПУЗЫРЬКОВ В ПРОЦЕССАХ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

Радикальное повышение уровня секреции микропузырьков происходит при возникновении опухолей. При этом опухолевые экзосомы и микровезикулы (ОЭМ) приобретают способность к связыванию как со зрелыми клетками нескольких типов, так и с их предшественниками, проникающими в очаги воспаления и поражения. Наиболее часто при изучении роли ОЭМ в процессах перепрограммирования клеток используется экспериментальный подход, основанный на анализе результатов слияния ОЭМ с клеточными культурами. Многолетние исследования показали, что очищенные из культуральной среды ОЭМ, продуцируемые опухолевыми клетками, индуцируют преимущественную дифференцировку зрелых стромальных (мезенхимных) клеток и их предшественников в миофибробласты [31, 32]. Одной из причин изменения направления клеточной дифференцировки считается проникновение в клетку-реципиент комплексов трансформирующего фактора роста β (TGF- β) с его рецептором, находящихся на поверхности ОЭМ. Последующая активация сигнальных путей клетки-реципиента приводит к фосфорилированию факторов транскрипции семейства SMAD и эпигенетически наследуемым изменениям структуры хроматина, в результате чего повышается уровень экспрессии генов, ко-

дирующих α -актин гладкой мускулатуры (ACTA2) и фактор роста фибробластов (FGF2). В результате слияния стромальных клеток с ОЭМ инициируется массовая секреция аутокринных факторов, стимулирующих рост и пролиферацию клеток-реципиентов, а также паракринных факторов, стимулирующих пролиферацию опухолевых клеток [27, 33] (рисунок).

Недавно было показано, что ОЭМ сливаются со стволовыми некроветворными клетками-предшественниками костного мозга, которые перемещаются под действием хемоаттрактантов по кровеносной и лимфатической системам к районам воспаления, поражения или регенерации мышц, печени, легких и других органов [34]. В результате слияния генерируются сигналы, необходимые для выживания и размножения раковых клеток, значительно удаленных от первичной опухоли. Ключевая роль ОЭМ в процессе метастазирования установлена экспериментально. В хвостовую вену мышей вводили клетки метастатической меланомы мыши (линия B16-F10) или происходящей из нее линии, не секретирующей ОЭМ [28] (секреция ОЭМ подавлялась в результате ингибирования синтеза белка Rab27A, необходимого для образования ОЭМ, с помощью трансфекции клеток малой интерферирующей РНК). Оказалось, что количество метастатических фокусов в легких мышей, которым ввели трансфицированные опухолевые клетки, секретирующие лишь небольшое количество ОЭМ, было намного меньше, чем при введении стандартной линии клеток. В результате дальнейшего анализа был идентифицирован ключевой индуктор перепрограммирования клеток-предшественников костного мозга клетками злокачественной меланомы — онкобелок с-MET, резкое снижение уровня синтеза которого в результате трансфекции опухолевых клеток малой интерферирующей РНК предотвращало развитие метастазирования [28].

Важный вклад в изучение роли ОЭМ в процессе канцерогенеза внес эксперимент, основанный на сравнительном анализе результатов слияния ОЭМ, секретируемых клетками опухолей эпителиального происхождения и стволовыми опухолевыми клетками мезенхимной природы [35]. Эксперимент показал, что внутривенное введение мышам SCID с иммунодефицитом ОЭМ, секретируемых мезенхимными стволовыми CD105⁺-клетками рака почки человека (но не обычными, нестволовыми клетками рака почки эпителиальной природы), перед инъекцией самих стволовых опухолевых клеток резко увеличивает количество метастатических фокусов в легких мышей. Из этого можно сделать вывод, что движущей силой процесса метастазирования, по-видимому, является миграция мезенхимных стволовых опухолевых клеток во вторичный сайт роста (метастатическую нишу), стромальные клетки которого подвергаются предварительному



Роль ОЭМ в процессе канцерогенеза (жирным выделены белки ОЭМ, участие которых в этом процессе показано экспериментально).

перепрограммированию в результате слияния с ОЭМ, секретируемых стволовыми раковыми клетками первичной опухоли. Аналогичная картина наблюдалась и при сравнении эффективности двух вышеуказанных типов ОЭМ в процессе активации ангиогенеза (см. последний раздел), что указывает на ключевую роль стволовых опухолевых клеток в процессе канцерогенеза.

Важную роль в инвазии опухоли в сопредельные ткани и последующем проникновении опухолевых клеток в кровотоки играет индуцируемая опухолевыми клетками и секретируемыми ими ОЭМ деграляция внеклеточного матрикса металлопептидазами [36–38]. Следует отметить, что при внедрении опухолевой клетки из кровотока во вторичный сайт в процессе метастазирования происходит обратный процесс локальной сборки

внеклеточного матрикса из растворимых компонентов, содержащихся в тканевой жидкости. Недавно установлено, что сборка внеклеточного матрикса опосредуется трансмембранным рецептором металлопептидаз CD44, представленным на поверхности опухолевых клеток и секретируемых ими ОЭМ. При этом генетический нокаут CD44 приводит к резкому снижению инвазивности опухолей поджелудочной железы и частоты их метастазирования [39].

ПОДАВЛЕНИЕ СИСТЕМ ВРОЖДЕННОГО И ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА И ИЗБЕГАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА

Многочисленные эксперименты показали, что подавление обеих систем иммунитета обу-

словлено слиянием ОЭМ с клетками иммунной системы (лейкоцитами, лимфоцитами, макрофагами и дендритными клетками) и их предшественниками, в результате чего инициируется целый ряд процессов [40, 41]. Во-первых, подавляется активация и пролиферация как естественных киллерных клеток (НК-киллеров), так и цитотоксических Т-лимфоцитов в ответ на воздействие интерлейкина 2 (IL-2) [42] (рисунок). В этом случае ингибирование клеточной активности определяется, по-видимому, действием содержащегося в ОЭМ иммуносупрессорного противовоспалительного цитокина IL-10 и TGF- β , а, возможно, и кодирующих их мРНК, транслируемых в цитоплазме клетки-реципиента [43]. Во-вторых, в результате действия Fas-лиганда, представленного на поверхности ОЭМ, индуцируется апоптоз цитотоксических Т-лимфоцитов [44]. Наконец, еще один механизм подавления иммунной системы состоит в локальном гидролизе АТФ белками CD39 и CD73, расположенными на поверхности ОЭМ, с образованием аденозина, супрессирующего функционирование лейкоцитов, макрофагов и лимфоцитов, на поверхности которых находятся рецепторы аденозина (в норме такой механизм локальной супрессии иммунного ответа осуществляется регуляторными Т-лимфоцитами) [45].

Интересно, что слияние ОЭМ с антигенпредставляющими дендритными клетками и макрофагами, активированными сигналами системы врожденного иммунитета, приводит к прямо противоположному результату: активации этих клеток и пролиферации лимфоцитов [46]. При этом в опухолевых клетках запускаются механизмы избегания системы приобретенного иммунитета, основанные на ингибировании дифференцировки моноцитов в дендритные клетки [40, 47]. Эти механизмы основаны также на активации регуляторных Т-клеток, супрессирующих иммунный ответ, и их предшественников, опосредуемой белком теплового шока Hsp72, который содержится в ОЭМ [48, 49].

Недавно было показано, что важную роль в активации антигенпредставляющих клеток играют микроРНК, содержащиеся в ОЭМ [50]. Так, слияние ОЭМ, очищенных из сыворотки крови больных раком легкого, с первичными культурами макрофагов приводило к активации системы врожденного иммунитета в результате присоединения микроРНК miR-21 и miR-29a, содержащихся в ОЭМ, к Toll-подобному рецептору TLR8, который локализуется на мембране эндосом макрофагов. Результаты, полученные в культуре клеток, были подтверждены в опытах *in vivo* (в этих опытах в хвостовую вену мышей вводили клетки мышечной карциномы легких Льюиса). В качестве контроля использовали опухолевые клетки, в которых функционирование микроРНК miR-21

и miR-29a подавлялось в результате трансфекции антисмысловой РНК. Таким образом, была подтверждена важная роль ОЭМ в инициации каскада прометастатических воспалительных процессов, инициируемых вследствие связывания микроРНК ОЭМ с TLR-рецепторами макрофагов. Этот результат открывает новые возможности в терапии опухолей [50].

АКТИВАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ И АНГИОГЕНЕЗА

Прогрессию опухолей, размер которых достиг 1 мм, ограничивает активация процесса новообразования сосудов из циркулирующих в кровотоке ангиобластов (васкуляризация), а также роста и разветвления уже существующих сосудов (ангиогенез). Показано, что слияние ОЭМ с клетками-предшественниками эндотелия (ангиобластами) приводит к локальной активации обоих процессов, что позволяет увеличить доставку в опухоль кислорода и питательных веществ [35, 51]. Анализ белкового состава ОЭМ, секретируемых опухолевыми клетками в культуральную среду, привел к идентификации ряда активаторов пролиферации и миграции эндотелиальных клеток. В список идентифицированных активаторов входят: 1) белки семейства фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) и ангиопоэтина [32, 35]; 2) фактор роста фибробластов (FGF) и гепарин-связывающий фактор роста эпидермиса (Hb-EGF, heparin-binding EGF-like growth factor) [35]; 3) белок SDF-1 (хемоаттрактант эндотелиальных клеток и их предшественников) [32]; 4) проангиогенный комплекс факторов свертывания крови TF и VIIa [51] и 5) матриксные металлопептидазы MMP2 и MMP9 [35].

Показано, что миграция эндотелиальных клеток в район опухолевой гипоксии значительно усиливается в результате индуцируемых слиянием с ОЭМ изменений в содержании белков межклеточной адгезии [52, 53] и ингибирования сигнального пути Notch [54]. Наконец, изучение слияния ОЭМ, секретируемых клетками меланомы, с ангиобластами выявило эпигенетически наследуемое (в результате метилирования промотора или перестройки хроматина) повышение уровня экспрессии протоонкогенов *c-Met* и *c-Kit*, а также гена, кодирующего рецептор ангиопоэтинов Tie2, в клетках-предшественниках эндотелия, мигрирующих в опухоль из костного мозга (рисунок) [28].

В результате слияния ОЭМ с находящимися в опухоли зрелыми эндотелиальными клетками и их предшественниками наблюдается локальная индукция процесса ангиогенеза [35, 54]. Активация ангиогенеза была обнаружена при сравнении количества сосудов, которые образовались после подкожной имплантации мышам SCID клеток пуповинной вены человека (HUVEC) и тех же

клеток, предварительно обработанных *in vitro* ОЭМ, секретируемых опухолями почек человека. При этом показано, что резкая активация ангиогенеза происходит лишь при слиянии с ОЭМ, секретируемыми мезенхимными, мультипотентными стволовыми опухолевыми CD105⁺-клетками, но не ОЭМ, секретируемыми обычными опухолевыми клетками эпителиальной природы [35, 55].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Быстро развивающаяся область изучения ОЭМ в последние годы привела к объяснению важных аспектов процесса канцерогенеза. Использование полученных результатов в клинической практике может привести к заметному усовершенствованию существующих способов диагностики, прогнозирования и послеоперационного мониторинга различных видов опухолей, а также расширения арсенала методов персонализированной медицины.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (субсидия № 81.02) и Российского фонда фундаментальных исследований (11-04-12082-офи-м-2011, 11-04-12145-офи-м-2011 и 13-04-00653).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nieuwland R., Sturk A. 2010. Why do cells release vesicles? *Thromb. Res.* **125**(Suppl 1), S49–51.
- Silverman J.M., Reiner N.E. 2011. Exosomes and other microvesicles in infection biology: organelles with unanticipated phenotypes. *Cell Microbiol.* **13**(1), 1–9.
- Batagov A.O., Kuznetsov V.A., Kurochkin I.V. 2011. Identification of nucleotide patterns enriched in secreted RNAs as putative cis-acting elements targeting them to exosome nano-vesicles. *BMC Genomics.* **12**(Suppl 3), S18.
- Mathivanan S., Fahner C.J., Reid G.E., Simpson R.J. 2012. ExoCarta 2012: database of exosomal proteins, RNA and lipids. *Nucl. Acids Res.* **40** (Database issue), D1241–1244.
- Roberson C.D., Atay S., Gercel-Taylor C., Taylor D.D. 2010–2011. Tumor-derived exosomes as mediators of disease and potential diagnostic biomarkers. *Cancer Biomark.* **8**(4–5), 281–291.
- György B., Szabó T.G., Pásztói M., Pál Z., Misják P., Aradi B., László V., Pállinger E., Pap E., Kittel A., Nagy G., Falus A., Buzás E.I. 2011. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol. Life Sci.* **68**(16), 2667–2688.
- Lai C.P., Breakefield X.O. 2012. Role of exosomes/microvesicles in the nervous system and use in emerging therapies. *Front Physiol.* **3**, 228.
- Vincent-Schneider H., Stumppner-Cuvelette P., Lanckar D., Pain S., Raposo G., Benaroch P., Bonnerot C. 2002. Exosomes bearing HLA-DR1 molecules need dendritic cells to efficiently stimulate specific T cells. *Int. Immunol.* **14**(7), 713–722.
- Théry C., Duban L., Segura E., Véron P., Lantz O., Amigorena S. 2002. Indirect activation of naïve CD4⁺ T cells by dendritic cell-derived exosomes. *Nat. Immunol.* **3**(12), 1156–1162.
- Bhatnagar S., Shinagawa K., Castellino F.J., Schorey J.S. 2007. Exosomes released from macrophages infected with intracellular pathogens stimulate a proinflammatory response *in vitro* and *in vivo*. *Blood.* **110**(9), 3234–3244.
- Kim S.H., Lechman E.R., Bianco N., Menon R., Keravala A., Nash J., Mi Z., Watkins S.C., Gambotto A., Robbins P.D. 2005. Exosomes derived from IL-10-treated dendritic cells can suppress inflammation and collagen-induced arthritis. *J. Immunol.* **174**(10), 6440–6448.
- Liégeois S., Benedetto A., Garnier J.M., Schwab Y., Labouesse M. 2006. The V0-ATPase mediates apical secretion of exosomes containing Hedgehog-related proteins in *Caenorhabditis elegans*. *J. Cell Biol.* **173**(6), 949–961.
- Savina A., Furlán M., Vidal M., Colombo M.I. 2003. Exosome release is regulated by a calcium-dependent mechanism in K562 cells. *J. Biol. Chem.* **278**(22), 20083–20090.
- Fauré J., Lachenal G., Court M., Hirrlinger J., Chatelard-Causse C., Blot B., Grange J., Schoehn G., Goldberg Y., Boyer V., Kirchhoff F., Raposo G., Garin J., Sadoul R. 2006. Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Mol. Cell Neurosci.* **31**(4), 642–648.
- Koumangoye R.B., Sakwe A.M., Goodwin J.S., Patel T., Ochieng J. 2011. Detachment of breast tumor cells induces rapid secretion of exosomes which subsequently mediate cellular adhesion and spreading. *PLoS One.* **6**(9), e24234.
- Anderson H.C., Mulhall D., Garimella R. 2010. Role of extracellular membrane vesicles in the pathogenesis of various diseases, including cancer, renal diseases, atherosclerosis, and arthritis. *Lab. Invest.* **90**(11), 1549–1557.
- van der Pol E., Böing A.N., Harrison P., Sturk A., Nieuwland R. 2012. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles. *Pharmacol. Rev.* **64**(3), 676–705.
- Lenassi M., Cagney G., Liao M., Vaupotic T., Bartholomeeusen K., Cheng Y., Krogan N.J., Plemenitas A., Peterlin B.M. 2010. HIV Nef is secreted in exosomes and triggers apoptosis in bystander CD4⁺ T cells. *Traffic.* **11**(1), 110–122.
- Vingtdeux V., Sergeant N., Buée L. 2012. Potential contribution of exosomes to the prion-like propagation of lesions in Alzheimer's disease. *Front Physiol.* **3**, 229.
- Kuwabara Y., Ono K., Horie T., Nishi H., Nagao K., Kinoshita M., Watanabe S., Baba O., Kojima Y., Shizuta S., Imai M., Tamura T., Kita T., Kimura T. 2011. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage. *Circ. Cardiovasc. Genet.* **4**(4), 446–454.
- Bala S., Petrasek J., Mundkur S., Catalano D., Levin I., Ward J., Alao H., Kodys K., Szabo G. 2012. Circulating microRNAs in exosomes indicate hepatocyte injury and inflammation in alcoholic, drug-induced, and inflammatory liver diseases. *Hepatology.* **56**(5), 1946–1957.
- Rak J. 2010. Microparticles in cancer. *Semin. Thromb. Hemost.* **36**(8), 888–906.

23. Friel A.M., Corcoran C., Crown J., O'Driscoll L. 2010. Relevance of circulating tumor cells, extracellular nucleic acids, and exosomes in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* **123**(3), 613–625.
24. Klein-Scory S., Kübler S., Diehl H., Eilert-Micus C., Reinacher-Schick A., Stühler K., Warscheid B., Meyer H.E., Schmiegel W., Schwarte-Waldhoff I. 2010. Immunoscreeing of the extracellular proteome of colorectal cancer cells. *BMC Cancer.* **10**, 70.
25. Krutovskikh V.A., Herceg Z. 2010. Oncogenic microRNAs (OncomiRs) as a new class of cancer biomarkers. *Bioessays.* **32**(10), 894–904.
26. Pluskota E., Woody N.M., Szpak D., Ballantyne C.M., Soloviev D.A., Simon D.I., Plow E.F. 2008. Expression, activation, and function of integrin alphaMbeta2 (Mac-1) on neutrophil-derived microparticles. *Blood.* **112**(6), 2327–2335.
27. Kharaziha P., Ceder S., Li Q., Panaretakis T. 2012. Tumor cell-derived exosomes: a message in a bottle. *Biochim. Biophys. Acta.* **1826**(1), 103–111.
28. Peinado H., Alečković M., Lavotshkin S., Matei I., Costa-Silva B., Moreno-Bueno G., Hergueta-Redondo M., Williams C., García-Santos G., Ghajar C., Nitoro-Hoshino A., Hoffman C., Badal K., Garcia B.A., Callahan M.K., Yuan J., Martins V.R., Skog J., Kaplan R.N., Brady M.S., Wolchok J.D., Chapman P.B., Kang Y., Bromberg J., Lyden D. 2012. Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *Nat. Med.* **18**(6), 883–891.
29. Hong B.S., Cho J.H., Kim H., Choi E.J., Rho S., Kim J., Kim J.H., Choi D.S., Kim Y.K., Hwang D., Gho Y.S. 2009. Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells. *BMC Genomics.* **10**, 556.
30. Quesenberry P.J., Aliotta J.M. Cellular phenotype switching and microvesicles. 2010. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **62**(12), 1141–1148.
31. Webber J., Steadman R., Mason M.D., Tabi Z., Clayton A. 2010. Cancer exosomes trigger fibroblast to myofibroblast differentiation. *Cancer Res.* **70**(23), 9621–9630.
32. Cho J.A., Park H., Lim E.H., Lee K.W. 2012. Exosomes from breast cancer cells can convert adipose tissue-derived mesenchymal stem cells into myofibroblast-like cells. *Int. J. Oncol.* **40**(1), 130–138.
33. Cho J.A., Park H., Lim E.H., Kim K.H., Choi J.S., Lee J.H., Shin J.W., Lee K.W. 2011. Exosomes from ovarian cancer cells induce adipose tissue-derived mesenchymal stem cells to acquire the physical and functional characteristics of tumor-supporting myofibroblasts. *Gynecol. Oncol.* **123**(2), 379–386.
34. Friedenstein A.J., Deriglasova U.F., Kulagina N.N., Panasuk A.F., Rudakowa S.F., Luriá E.A., Ruadkow I.A. 1974. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the *in vitro* colony assay method. *Exp. Hematol.* **2**(2), 83–92.
35. Grange C., Tapparo M., Collino F., Vitillo L., Damasco C., Deregis M.C., Tetta C., Bussolati B., Camussi G. 2011. Microvesicles released from human renal cancer stem cells stimulate angiogenesis and formation of lung premetastatic niche. *Cancer Res.* **71**(15), 5346–5356.
36. Janowska-Wieczorek A., Wysoczynski M., Kijowski J., Marquez-Curtis L., Machalinski B., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. 2005. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int. J. Cancer.* **113**(5), 752–760.
37. Yang C., Robbins P.D. 2011. The roles of tumor-derived exosomes in cancer pathogenesis. *Clin. Dev. Immunol.* **2011**, 842849.
38. Ge R., Tan E., Sharghi-Namini S., Asada H.H. 2012. Exosomes in cancer microenvironment and beyond: have we overlooked these extracellular messengers? *Cancer Microenviron.* **5**(3), 323–332.
39. Jung T., Castellana D., Klingbeil P., Cuesta Hernández I., Vitacolonna M., Orlicky D.J., Roffler S.R., Brodt P., Zöller M. 2009. CD44v6 dependence of premetastatic niche preparation by exosomes. *Neoplasia.* **11**(10), 1093–1105.
40. Clayton A. 2012. Cancer cells use exosomes as tools to manipulate immunity and the microenvironment. *Oncimmunology.* **1**(1), 78–80.
41. Filipazzi P., Bürdek M., Villa A., Rivoltini L., Huber V. 2012. Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression. *Semin. Cancer Biol.* **22**(4), 342–349.
42. Clayton A., Mitchell J.P., Court J., Mason M.D., Tabi Z. 2007. Human tumor-derived exosomes selectively impair lymphocyte responses to interleukin-2. *Cancer Res.* **67**(15), 7458–7466.
43. Szczepanski M.J., Szajnik M., Welsh A., Whiteside T.L., Boyiadzis M. 2011. Blast-derived microvesicles in sera from patients with acute myeloid leukemia suppress natural killer cell function via membrane-associated transforming growth factor-beta1. *Haematologica.* **96**(9), 1302–1309.
44. Abusamra A.J., Zhong Z., Zheng X., Li M., Ichim T.E., Chin J.L., Min W.P. 2005. Tumor exosomes expressing Fas ligand mediate CD8+ T-cell apoptosis. *Blood Cells Mol. Dis.* **35**(2), 169–173.
45. Clayton A., Al-Taei S., Webber J., Mason M.D., Tabi Z. 2011. Cancer exosomes express CD39 and CD73, which suppress T cells through adenosine production. *J. Immunol.* **187**(2), 676–683.
46. Marton A., Vizler C., Kusz E., Temesfoi V., Szathmary Z., Nagy K., Szegletes Z., Váro G., Siklos L., Katona R.L., Tubak V., Howard O.M., Duda E., Minarovits J., Nagy K., Buzas K. 2012. Melanoma cell-derived exosomes alter macrophage and dendritic cell functions *in vitro*. *Immunol. Lett.* **148**(1), 34–38.
47. Zhang H.G., Grizzle W.E. 2011. Exosomes and cancer: a newly described pathway of immune suppression. *Clin. Cancer Res.* **17**(5), 959–964.
48. Szajnik M., Czystowska M., Szczepanski M.J., Mandapathil M., Whiteside T.L. 2010. Tumor-derived microvesicles induce, expand and up-regulate biological activities of human regulatory T cells (Treg). *PLoS One.* **5**(7), e11469.
49. Chalmin F., Ladoire S., Mignot G., Vincent J., Bruchard M., Remy-Martin J.P., Boireau W., Rouleau A., Simon B., Lanneau D., De Thonel A., Multhoff G., Hamman A., Martin F., Chauffert B., Solary E., Zitvogel L.,

- Garrido C., Ryffel B., Borg C., Apetoh L., Rébé C., Ghiringhelli F. 2010. Membrane-associated Hsp72 from tumor-derived exosomes mediates STAT3-dependent immunosuppressive function of mouse and human myeloid-derived suppressor cells. *J. Clin. Invest.* **120**(2), 457–471.
50. Fabbri M., Paone A., Calore F., Galli R., Gaudio E., Santhanam R., Lovat F., Fadda P., Mao C., Nuovo G.J., Zanesi N., Crawford M., Ozer G.H., Wernicke D., Alder H., Caligiuri M.A., Nana-Sinkam P., Perrotti D., Croce C.M. 2012. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **109**(31), E2110–2116.
51. Svensson K.J., Kucharzewska P., Christianson H.C., Sköld S., Löfstedt T., Johansson M.C., Mörgelin M., Bengzon J., Ruf W., Belting M. 2011. Hypoxia triggers a proangiogenic pathway involving cancer cell microvesicles and PAR-2-mediated heparin-binding EGF signaling in endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **108**(32), 13147–13152.
52. Taverna S., Flugy A., Saieva L., Kohn E.C., Santoro A., Meraviglia S., De Leo G., Alessandro R. 2012. Role of exosomes released by chronic myelogenous leukemia cells in angiogenesis. *Int. J. Cancer.* **130**(9), 2033–2043.
53. Park J.E., Tan H.S., Datta A., Lai R.C., Zhang H., Meng W., Lim S.K., Sze S.K. 2010. Hypoxic tumor cell modulates its microenvironment to enhance angiogenic and metastatic potential by secretion of proteins and exosomes. *Mol. Cell Proteomics.* **9**(6), 1085–1099.
54. Sheldon H., Heikamp E., Turley H., Dragovic R., Thomas P., Oon C.E., Leek R., Edelmann M., Kessler B., Sainson R.C., Sargent I., Li J.L., Harris A.L. 2010. New mechanism for Notch signaling to endothelium at a distance by Delta-like 4 incorporation into exosomes. *Blood.* **116**(13), 2385–2394.
55. Bruno S., Bussolati B., Grange C., Collino F., Graziano M.E., Ferrando U., Camussi G. 2006. CD133+ renal progenitor cells contribute to tumor angiogenesis. *Am. J. Pathol.* **169**(6), 2223–2235.