توسعه سیستم تحویل دارو مبتنی بر اگزوزوم در درمان سرطان: مطالعه مروری

شمس الدین یوسف آملی[1*]، راضیه یوسفیان مولا[2]، تکتم دیلمی[3]، معصومه دیلمی[3]، زهرا شهاب موحد[3]، مقداد غیاثی[3]

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲. دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران
۳. زیست شناسی گرایش سلولی و مولکولی، بخش تولید، مرکز تحقیقات ژناریا، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۱۰)

چکیده

در عصر حاضر شیوع سرطان در سراسر جهان درحال افزایش است، تاکنون روش‌های زیادی برای درمان و متوقف کردن آن انجام شده است اما مقاومت این بیماری در برابر داروهای ضد سرطان فعلی، نیاز جدیدی به ترکیبات دارویی جدید و سیستم تحویل دارویی را فراهم آورده است. نقص سیستم ایمنی بدن می‌تواند منجر به رشد تومور و پیشرفت آن شود. بنابراین ایمونوتراپی سرطان از جمله مواردی است که سبب جلوگیری از پیشرفت تومور می‌شود، اگزوزوم‌ها حامل‌های نانومتری طبیعی هستند که به طور گسترده‌ای در مایعات بدن توزیع شده‌اند و در فرآیندهای بیماری‌های مختلف، از جمله تومورزایی دخیل هستند. اگزوزوم‌ها دارای مزایای متعددی از جمله غیر سمی و غیر ایمنی‌زا بوده و قابلیت طراحی شدن برای تعیین هدف خاص و تحویل دارو را دارند. که سبب می‌شود تا آنها به عنوان یک نانوساختار قدرتمند برای ارائه داروهای ضد سرطان با هدف درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرند. این روش دچار پیشرفت‌هایی برای تسهیل استفاده از آن در برنامه‌های پزشکی و تکنیک‌های بیوتکنولوژی شده است. در این مطالعه مروری، ما به بررسی توسعه سیستم‌های تحویل دارویی مبتنی بر اگزوزوم در طول زمان و مزایا و عملکردهای آن می‌پردازیم. مطالعات اثربخشی از نانوذرات اگزوزومی با استفاده از سلول‌های سرطانی و مدل‌های بیولوژیکی و همچنین کارآزمایی بالینی نیز مورد بحث قرار گرفته است.

کلیدواژگان

اگزوزوم، درمان سرطان، سیستم تحویل دارو، نانودارو.

* نویسنده مسئول، رایانامه: shams_amoli@yahoo.com

مقدمه

سرطان یک بیماری پیچیده چند عاملی است که نتیجه خروج سلول‌ها از مسیرهای درست تنظیمی، تکثیری وتمایزی است و از جمله عواملی که منجر به بدخیم شدن آن می‌شوند میتوان به غیرحساس شدن به سیگنالهای مهارکننده رشد، اجتناب ازمرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، تهاجم بافتی و متاستاز اشاره کرد. در عصر حاضر، سرطان یکی از داغ ترین مباحث در زمینه زیست شناسی سلولی و مولکولی بوده و تا کنون نیز مطالعات فراوانی در مورد مکانیسم‌های مولکولی آن صورت گرفته و بسیاری از مکانیسم‌ها در خصوص آن شناسایی شده است .اما متاسفانه موفقیت چشمگیری جهت درمان این بیماری بدخیم حاصل نشده است. با توجه به آمار انجمن سرطان U.S.A؛ ۱،۶۸۵،۲۱۰ مورد جدید سرطان و ۵۹۵،۶۹۰ مرگ و میر ناشی از سرطان در سال ۲۰۱۶، رخ داده است[۱و۲]. تاکنون روش‌های درمانی زیادی مانند جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی، ژن‌درمانی برای متوقف‌کردن مسیر توسعه سرطان به کار گرفته شده است، اما این روش‌ها به اندازه کافی کارآمد نیستند تا بتواند تمام نیازهای ریشه‌کنی سرطان را برآورده سازند و این امکان وجود دارد که توده سرطانی مدتی بعد از درمان، دوباره در همان مکان اولیه و یا در مکان‌های دیگری در بدن بروز کند و باعث شکل‌گیری و عود دوباره سرطان بشود و حتی مقاومت دارویی بعد از درمان‌های کلاسیک بروز کند. بنابراین نیاز فوری به مواد و روش‌های جدید وجود دارد تا پزشکان بتوانند این درمان‌های موثر را با بازده بالا و سمیت پایین در زمینه سرطان که در اولویت بیماری‌ها است، انجام دهند. با توجه به مطالعاتی که صورت گرفته نقص سیستم ایمنی بدن منجر به رشد تومور و پیشرفت آن شده است. بنابراین از جمله راه‌های مناسب برای کمک به سیستم ایمنی در مبارزه با گسترش بیماری، ایمونوتراپی سرطان است. ایمونوتراپی از جمله مواردی است که سبب جلوگیری از تومور میشود. ایمونوتراپی دو استراتژی اصلی (فعال یا منفعلانه) برای فعال کردن سیستم ایمنی دارد. استراتژی‌های فعال که در جهت ایجاد پاسخ‌های ایمنی و تحریکات ضد توموری با آنتی‌ژن‌های خاص است تا در نهایت بتوانند درمان‌های موثر سرطان‌ها، اختلالات ایمنی و یا بیماری‌ها را سبب شوند. اما در استراتژی‌های منفعلانه خصوصیات مشخصی از بیولوژی تومور را به کار می‌گیرند که عبارتند از هدف‌گیری تومور توسط نانوپارتیکل‌های حمل کننده (با استفاده از سلول‌های تومور با نفوذپذیری بالا) که قابلیت نفوذ و بقای زیادی دارند [۳و۴]. در اواسط دهه ۱۹۸۰ به صورت منفعلانه نانوپارتیکل‌های حمل‌کننده هدف به سطح کارآزمایی بالینی رسیدند و اولین محصولات مبتنی بر لیپوزوم‌ها و پروتئین‌های پلیمر و پروتئین در اواسط دهه ۱۹۹۰ به بازار عرضه شد[۴]. بعدها، نانوحمل‌کننده‌های درمانی مبتنی بر این استراتژی وارد عرصه شدند و برای استفاده وسیع‌تر و درمان سریع‌تر مورد تایید قرار گرفتند و روش‌های بیشتری به این استراتژی افزوده شد و برای هدف قرار دادن داروها به سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار گرفت. از سیستم‌های تحویل دارویی مبتنی بر فناوری نانو، میتوان به انواع نانوذرات مصنوعی و وزیکول‌های بیولوژیکی اشاره کرد که دارای خاصیت بیولوژیکی برای درمان‌های ناحیه هدف در حالت *in vivo* هستند. در چند سال اخیر، چندین نانوذره مصنوعی به عنوان وزیکول برای تحویل داروهای درمانی به بخش عمده تومور به کار گرفته شده‌اند و مستقیما سایت هدف را مورد اثر قرار داده‌اند (جدول ۱).

جدول ۱- نمونه‌های حاکی از نانو حمل‌کننده‌ها و ترکیبات دارویی مبتنی بر نانو در سرطان‌های مختلف.

نانوحمل کننده‌ها	ترکیب دارویی	سایت هدف	نوع بیماری	منبع
Polymer–protein conjugate	Hedgehog pathway inhibitor (HPI	ALDH, CD133	Brain tumor	[۶و۷]
liposomes	F3 peptide, γ-secretase inhibitors (GSIs), Tamoxifen, Paclitaxel	Nucleolin, CD44	Paclitaxel Triple negative breast cancer (TNBC)	[۸]
niosomes	5′-fluorouracil	H3K9	colorectal, head neck, esophageal, and gastric cancers	[۹]
micelles	phenformin, gemcitabine, thioridazine	ALDH1A1, CD44	Breast cancer, lung cancer	[۱۰]
albumin-bound paclitaxel nanoparticles	Paclitaxel	Nucleolin, CD44	breast cancer	[۱۱و۱۲]
Radio-immunoconjugate	iodine 131–tositumomab	CD20	non-Hodgkin's lymphoma	[۱۳]
Gold nanoparticles	Doxorubicin	TGF-β, acid-labile hydrazone bond	Breast cancer	[۱۴]

همچنین نانوذرات دارای ویژگی‌های آزاد کننده دارویی هستند که باعث ایجاد یک غلظت بالایی از داروهای مرتبط در اطراف تومور و افزایش کارآیی ضد سرطانی می‌شوند[۵]. از جمله عواملی که شاهد پیشرفت آن بوده‌ایم اگزوزوم‌ها هستند. که به عنوان نانو وزیکول برای انتقال ژن و دارودرمانی استفاده می‌شوند[۱۵]. اگزوزوم‌ها وزیکول‌های اندوزومی ۳۰ تا ۱۰۰ نانومتری هستند که برای اولین بار توسط Trams و همکاران توضیح داده شد. و سپس توسط جانستون[1] و همکارانش در سال ۱۹۸۷ تایید شد که سطوح بالایی از پروتئین انتقالی متصل به ذرات کوچک (اگزوزوم) مشاهده شد، و نشان دادند که رتیکولوسیت‌ها با از بین بردن پروتئین‌های غیر ضروری (به ویژه گیرنده‌های انتقالی) به واسطه آزادسازی اگزوزوم، به اریتروسیت بالغ می‌شوند[۱۸-۱۶]. به طور کلی این اگزوزوم‌ها توسط انواع سلول‌های پستانداران به محیط خارج سلولی در هر دو شرایط پاتولوژیک و فیزیولوژیکی آزاد می‌شوند[۱۹]. غشاهای بدون محتوای یوکاریوتی (به اصطلاح گوست[2]) قابلیت بیولوژیک و زیست سازگاری بالایی دارند و غیر سمی، غیرمحرک ایمنی بوده و عمر طولانی ای در گردش خون دارند، اما متأسفانه ظرفیت آنها برای بارگیری دارو محدود بوده و تغییر شکل در حین حمل و نقل اغلب باعث انسداد ناپایدار و نشت مواد می‌شود که سبب محدود کردن مصارف بالینی شده است[۲۱و۲۰]. اما اگزوزوم‌ها از سلول‌های زنده ترشح می‌شوند، و خصوصیاتی مانند بیو سازگار، غیر سیتوتوکسیک، ایمنی‌زایی کم، تولید آسان، ماندگاری بالا، و ظرفیت بارگذاری زیادی دارند[۲۲ و ۲۳]. اگزوزوم‌ها دارای توانایی‌های منحصر به فرد در انتقال RNA و پروتئین‌ها هستند. آنها واسطه‌های مهم ارتباطات بین‌سلولی و تنظیم‌کننده‌های سلولی هستند و ویژگی‌های تغییر یافته آنها در بسیاری از بیماری‌ها، مانند سرطان، نشان می‌دهد که اگزوزوم‌ها برای اهداف تشخیصی و درمانی اهمیت دارند[۲۴]. در چندین دهه اخیر برای درک رفتارهای اگزوزوم و توانایی آنها در تحویل دارو تحقیقات مختلفی صورت گرفته است. برای بهبود سیستم تحویل دارویی اگزوزوم دستکاری‌های مختلفی بر روی اگزوزوم‌های طبیعی، به خصوص بر روی کلاس جدیدی از اگزوزوم انجام گرفته است(جدول ۲).

1. Johnstone
2. Ghost

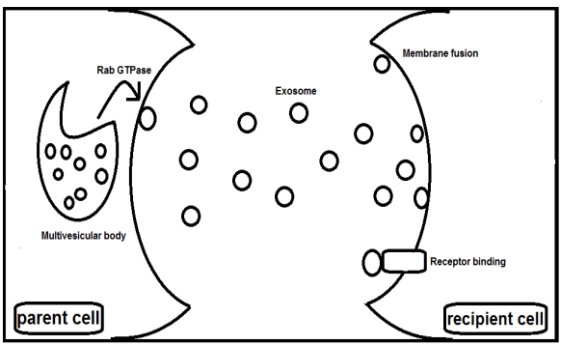
جدول ۲- بررسی قیاسی برای توسعه سیستم‌های تحویل دارو مبتنی بر نانو

منبع	هدف	توضیحات	توسعه سیستم‌های تحویل دارو
[۲۵-۲۷]	Biological fluids ,Culture medium	اگزوزوم‌ها بدون دستکاری به کار گرفته می‌شوند	تولید اولیه
[۲۸-۲۹]	miRNA -mRNA – si RNA-- Proteins -Drugs	در اگزوزوم دستکاری بیوتکنولوژی و مهندسی زیستی اعمال می‌شود	تولیدات بعدی
[۳۰]	Cell lines -Stem cells -Tumor tissues	اگزوزوم‌ها به طور مستقیم از سلول‌ها به طریق روش‌های تقلیدی و مصنوعی تولید می‌شود.	تولیدات جدید

هدف از این بررسی، ارائه یک مرور جامع از تمام مطالعات مربوط به اگزوزوم در تحویل دارو و ارزیابی ارتباطات آینده از نظر زیست‌شناسی در درمان سرطان است. توجه‌ایی ویژه بر توسعه ترکیباتی که موفق به تحویل دارو مبتنی بر اگزوزوم بوده‌اند که از جمله روش‌های انتخاب سلول‌های اهداکننده، محموله‌های درمانی، استفاده از پپتیدهای هدف‌گیری، روش بارگذاری و مسیرهای مدیریتی در از بین بردن تمام پتانسیل‌های لاینحل در سیستم تحویل دارو برای استفاده بالینی در آینده می‌باشد.

بیوژنز اگزوزوم

اگزوزوم‌ها وزیکول‌های حباب شکل اندوژنیک هستند که از جوانه زدن در تقسیم اندوزوم در طول بلوغ اندوزوم، از انذوزوم اولیه تا ثانویه به شکل وزیکول‌های چندتایی[1] تشکیل می‌شوند[۳۱]. در داخل سلول، اگزوزوم‌ها در ابتدا توسط یک فرآیند نفوذ به غشاهای اندوزومی ایجاد می‌شوند تا وزیکول‌های مولکولی را ایجاد کنند[۳۲](شکل ۱).



شکل ۱- بیوژنز اگزوزوم[2]

شکل‌گیری اگزوزوم‌ها با جوانه‌زدن داخل غشاء اندوزومال برای ایجاد وزیکول‌های اگزوزوم در سیتوپلاسم شروع می‌شود. این فرایند بستگی به مجموعه پیچیده‌ی اندوزومی مورد نیاز برای وزیکول‌های حمل‌کننده یا اسفنگلولیپید سرامید دارد. ادغام وابسته به RAB GTPase از وزیکول‌های اگزوزوم سلول والد[3]، اگزوزوم‌های تولید شده را به فضای خارج سلولی آزاد می‌کند، جایی که آنها می‌توانند با سلول‌های گیرنده[4] ارتباط برقرار کنند. تحویل وزیکول‌های اگزوزومی به سلول گیرنده می‌تواند با تعامل لیگاند گیرنده[5]، پینو سیتوز[6] / فاگوسیتوز[7] یا فیوژن با غشای سلولی رخ دهد.

آنها میکرو وزیکول‌هایی هستند که از طریق تکثیر مستقیم غشای سلولی تشکیل می‌شوند[۳۳]. شواهد نشان می‌دهد که فعالیت phosphatidylinositol-3 (kinase) PI-3 kinase برای تولید وزیکول‌های اگزوزوم ضروری است و در ترشحات پس از آن در سلول‌های پستانداران وجود دارد[۳۴]. از دست‌دادن PI-3 kinase باعث سرکوب وزیکول‌های اگزوزوم به دلیل تورم محفظه اندوسیتیک می‌شود[۳۵]. شکل‌گیری وزیکول‌های اگزوزوم در طول ساخت آنها چند مورد از شباهت‌ها را با وزیکول‌های اگزوزوم تشکیل شده در طول تشکیل لیزوزوم، نشان می‌دهد. از جمله پروتئین سطحی سطح لیزوزوم مانند LAMP و CD63 که در غشای اگزوزومال نیز وجود دارد[۳۶]. به طور کلی،

1. Multi-vesicular bodies
2. Exosome biogenesis

3. Parent cell
4. Recipient cell
5. Receptor binding
6. Pinocytosis
7. Phagocytosis

چندین عامل سرنوشت وزیکول‌های اگزوزوم را تعیین می‌کنند. این عوامل شامل مقدار کلسترول، حضور لیگاند برای پروتئین غشاء، پروتئین‌هایی که در سیستم پیچیده اندوزومی مورد نیاز برای سیستم حمل و نقل (ESCART)، پروتئین تتراسپانین و حضور اسفنگی‌مینال می‌باشد. میزان کلسترول وزیکول‌های اگزوزوم می‌تواند با غشا پلاسما یا اگزوزوم‌های ترشحی ادغام شود، یا بعد از ادغام شدن توسط لیزوزوم‌ها از بین برود و مقدار لیزوزوم اگزوزوم ادغام شده کاهش یابد[۳۷]. ترشح اگزوزوم‌ها بوسیله تلفیق وزیکول‌های اگزوزوم و غشای سلولی به دست می‌آید (شکل ۱)، که به نظر می‌رسد وابسته به چندین پروتئین GTPase Rab از جمله RAB27A، RAB27B، RAB11 و RAB35 می‌باشد[۳۹و۳۸]. جالب توجه است که تفکیک سلولی سرطان سینه کشت داده شده از سوبسترا وقتی با سرعت صورت گیرد، منجر به آزاد سازی اگزوزوم‌ها می‌شود و تأثیرات قابل توجهی را نیز در پروسه سلولی می‌گذارد که به طور کلینیکی می‌تواند منجر به متاستاز سرطان شود[۴۰]. تجمع پروتئین و خوشه‌بندی آنها دو مکانیسم دیگر برای سورتینک وزیکول‌ها است[۴۱]. اگزوزوم هدف به طور انتخابی به سلول‌های گیرنده پیوند می‌شود. این پروسه انتخابی در مطالعه بر روی اگزوزوم‌ها از پلاکت‌ها و سلول‌های B تایید شد[۴۲]. علاوه بر این، اگزوزوم‌های سلول B تنها به سلولهای دندریتیکی فولیکول متصل می‌شوند[۴۳]. اکثر پروتئین‌هایی که در اگزوزوم بیان می‌شوند قادرند به عنوان نشانگرهای اگزوزوم مورد استفاده قرار بگیرند[۴۴] (جدول ۳).

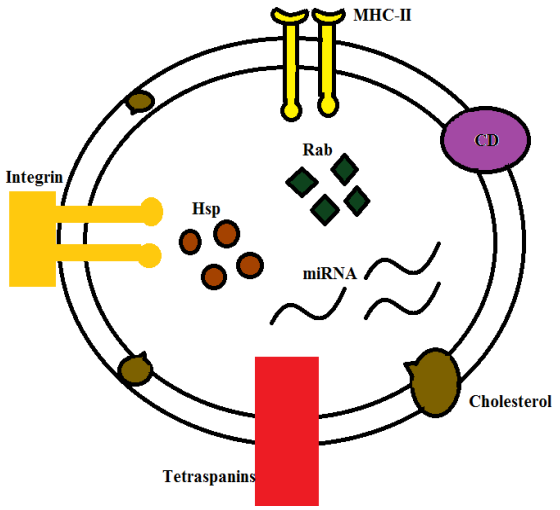
جدول ۳- لیستی از خانواده پروتئینی اگزوزوم‌ها را به همراه پروتئین‌های منتخب برای نشانگر اگزوزوم نشان می‌دهد[۴۶و۴۵].

Multiple families of proteins	Example
Tetraspanins	CD63, CD81, CD9, CD82
Heat shock proteins	Hsp70, Hsp90
lysosomal proteins	Lamp2b
fusion proteins	CD9, flotillin, Annexin
Exosome markers: CD63, CD81 and CD9	

اگزوزوم‌ها همچنین حاوی مقادیر زیادی پروتئین اینترالومینال[1] هستند که بین سلول‌ها به عنوان راهی برای ارسال سیگنال به اشتراک گذاشته می‌شوند. در حال حاضر، بیش از ۱۱۰۰۰ پروتئین در ارتباط با اگزوزوم‌ها شناخته شده است[۴۷].

ترکیب اگزوزوم

ساختار غشای اگزوزوم با دو لایه لیپید تشکیل شده است. همچنین از انواع لیپیدها و پروتئین‌ها پوشیده می‌شود. که از سلول‌های والدی که اگزوزوم‌ها از آنها تشکیل شده‌اند، مشتق می‌شوند (شکل ۲).



شکل ۲- ترکیب اگزوزوم

اگزوزوم‌ها از انواع مختلف پروتئین‌ها تشکیل شده است مانند پروتئین‌های اصلی سازگاری هیستولوژیک MHC -II، اینتگرین، CD[2]، تتراسپانین‌ها، پروتئین شوک حرارتی (Hsp)، پروتئین مرتبط با Ras (Rab) و غیره. حاوی انواع مختلف چربی، مانند اسفنگومیلین و کلسترول است. در نهایت، اگزوزوم‌ها حاوی اسید نوکلئیک هستند، از جمله miRNA، mRNA و ncRNA ها.

1. Intraluminal
2. Cluster of differentiation

با توجه بهExoCarta ، پایگاه داده اگزوزوم، در حال حاضر حدود ۱۱۰۰۰ پروتئین و ۱۹۴ لیپید شناخته شده مرتبط با اگزوزوم‌ها وجود دارد. از آنجا که اگزوزوم‌ها از اجزای داخل سلولی "آندوزوم" منشا می‌گیرند، شامل پروتئین‌هایی مانند پروتئین شوک حرارتی (Hsp70 و Hsp90)، پروتئین‌های غشایی و پروتئین‌های گازی (GTPases، Anxins and flotillin) و تتراسپانین‌ها (CD9، CD63، CD81 و CD82) می‌باشند[۴۸]. در میان این پروتئین‌ها، پروتئین شوک حرارتی و پروتئین‌های خانواده Rab به طور فراوان در اگزوزوم‌ها شناسایی می‌شوند و در انتقال داخل سلولی نقش دارند. تتراسپانین‌ها[1]، یکی دیگر از خانواده پروتئین‌های غشایی هستند که معمولا در اگزوزوم‌ها تشخیص داده می‌شوند.

در سلول، تتراسپانین‌ها مهاجرت سلولی، چسبندگی سلولی و سیگنالینگ را به عهده دارند. با این حال، در خارج از بدن، عملکرد آنها عمدتا ناشناخته است[۴۹]. یکی دیگر از پروتئین فراوان موجود در اگزوزوم‌ها، اینتگرین‌ها هستند که مولکول‌های اتصال‌دهنده[2] هستند که باعث اتصال سلول به ماتریکس خارج سلولی می‌شوند. در اگزوزوم‌ها، اینتگرین‌ها در پیوستن حامل‌ها به سلول‌های هدف مورد استفاده قرار می‌گیرند[۵۰]. تمام این پروتئین‌ها به عنوان نشانگرهای مثبت برای تشخیص حضور اگزوزوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند.

مزایای به کار گیری Exosomes در درمان سرطان

گرچه نانوذرات مصنوعی هم به عنوان حامل فعالیت می‌کنند اما اگزوزوم‌ها نانوذرات طبیعی هستند بنابراین قابلیت سازگاری بیشتری دارند و در محیط زیست تجزیه می‌شوند و دارای سمیت و ایمنی‌زایی کمی هستند[۵۱]. اگر چه وزیکولهای خارج سلولی دیگر مثل لیپیدها، پروتئین‌ها، گیرنده‌ها و مولکول‌های اثرگذار نیز بیولوژیک هستند، اما آنها نسبت به اگزوزوم‌ها بزرگتر و ناهمگن‌تر هستند، بنابراین کاربرد آنها برای بارگذاری و تحویل دارو محدود است. اگزوزوم‌ها به راحتی می‌توانند تولید شوند، زیرا اکثر سلول‌ها می‌توانند انها را تولید کنند. اگزوزوم‌ها درمایعات بیولوژیکی پایدار هستند و اندازه کوچک آنها باعث می‌شود که اگزوزوم‌ها به راحتی از ریه رها شده و از سد خونی مغزی عبور کنند[۵۳و۵۲]. اگزوزوم‌ها برای هدف قرار دادن سرطان مزیت بالاتری دارند چرا که اتصال و ورود آنها به درون سلول‌های تومور ۱۰ برابر بیشتر از لیپوزوم‌های با اندازه مشابه است[۵۴]. علاوه‌براین، به دلیل افزایش نفوذپذیری و ماندگاری اگزوزوم‌های نانومتریک تمایل به انباشته شدن در بافتهای تومور حاوی رگهای خونی غیرعادی نسبت به بافتهای طبیعی را دارند، بنابراین اگزوزوم‌ها به راحتی می‌توانند به تومورهای بدخیم برسند تا میزان تحویل و دریافت دارو را افزایش دهند. علاوه‌براین، اگزوزوم‌ها می‌توانند با پروتئین‌های هدف تومور، پپتید یا آنتی‌بادی برای سیستم‌های تحویل دارویی و نوکلئیک اسیدی دقیق، طراحی شوند. داشتن این ویژگی‌ها، اگزوزوم‌ها را به یکی از بهترین کاندیدها برای درمان سرطان تبدیل می‌کند.

توسعه نسل‌های سیستم تحویل دارویی اگزوزومال

در نسل اول اگزوزومال مطالعات بر طبق توانایی اگزوزوم‌ها بر حمل مقدار قابل توجهی از محموله‌های درمانی برای یافتن شرایط لازم به عنوان وسیله حمل‌کننده دارو بوده‌اند. آنها علیرغم رفتارتوموزایی خود، دارای خواصی هستند که آنها را برای طراحی یک واکسن ضد سرطان مناسب می‌سازد. وجود چندین رنج گسترده از آنتی‌ژن توموری (مثلا Her2/Neu, Mart1, TRP, gp100 و آنتی‌ژن‌های کارسینوآمبرونیک (CEA) همراه با کمپلکس های‌های پپتیدی MHC

1. Tetraspanins
2. Adhesion molecules

درون اگزوزوم‌ها) ویژگی‌های مفیدی برای آماده ساختن T-cellها است و این وزیکول‌ها ارائه‌کننده این آنتی‌ژن هستند. به این صورت که این وزیکول‌ها به همراه این آنتی‌ژن‌ها در جایگاه هدف خود در سلول توموری قرار می‌گیرند و از آن جایی که این آنتی‌ژن‌ها تحریک کننده‌ی سلول‌های T هستند، باعث حمله سلول‌های T به نقطه ی هدف و از بین بردن سلول سرطانی می‌شوند[۵۷-۵۵]. به طور مثال چندین مطالعه در مورد نقش اگزوزوم‌ها در ایمونوتراپی و تهیه واکسن صورت گرفته است که این مطالعات، پژوهشی پیشگام در زمینه ایمونوتراپی مبتنی براگزوزوم را توصیف می‌کنند از جمله مطالعه‌ایی در چین در سال ۲۰۱۱ نشان داد که اگزوزم‌های مشتق شده از L1210 cell line و لود شده با سلول‌های دندریتیکی می‌توانند یک پاسخ خاص لنفوسیت T CD8 سیتوتوکسیک را در برابر سلول‌های توموری اتولوگ در بیماران مبتلا به گلیومای بدخیم ایجاد کنند. و طریقه خالص‌سازی اگزوزوم‌ها با سانتریفوژ کردن، اولترافیلتراسیون و اولتراسوند سانتریفوژ سدیم انجام شد. این اگزوزوم‌ها دارای مولکولهای ارائه کننده انتی‌ژن (MHC-I، HSP70)، آنتی ژن تومور (MAGE-1) و مولکول پایدار (ICAM-1) بودند. بنابراین پس از انکوباسیون با اگزوزوم، سلول‌های دندریتیک توانستند لنفوسیت‌های T را فعال کنند تا لنفوسیت T CD8 سیتوتوکسیک مخصوص گلیوما را فعال کنند[۵۸]. همچنین طی چندی از مطالعات در زمینه سرطان کلون از جمله اگزوزوم‌های درگیر در ایمونوتراپی از سل لاین CT-26 ، سل لاین موشی TA3HA و سلول‌های ملانومای B16-F1 مشتق شده بودند که توسط متد اولتراسانترفیوژ و سانترفیوژ خالص‌سازی شدند. که این مطالعات در زمینه‌های نقش استرس بر راندمان بالای اگزوزوم در برابر تومور، نقش اگزوزوم در تولید IgG2a و IFN-γ و نیز اثر بازدارندگی سلول‌های ایمنی فعال شده توسط اگزوزوم بر رشد تومور فعالیت داشتند[۶۱-۵۹]. یافته‌های این مطالعات پایه ای برای تلاش‌های آینده برای طراحی مناسب سیستم‌های تحویل دارویی بود. در مورد نسل دوم، اولین مطالعه در سال ۲۰۱۱ در مورد دستکاری بیوتکنولوژی اگزوزوم انجام گرفت که آنها را در تحویل هدفمند siRNA آماده کند[۶۲]. اگزوزوم به عنوان یکی دیگر از تکنولوژی‌های مفید برای ایجاد دستکاری مهندسی غیر ژنتیک برای برنامه‌های پزشکی است. در این روش، طیف گسترده‌ای از آنتی‌ژن‌های مختلف با ترکیبات لیپیدی دو لایه ترکیب شدند. این فن‌آوری ناشی از شناسایی دومین‌های آدرس دهی شده‌ای است که رابطی بین توزیع خاص پروتئین‌ها در اگزوزوم‌ها می‌باشد. این فن‌آوری برای تولید آنتی‌بادی علیه عناصر بیومارکرهای توموری مثل HLA / پپتید استفاده شد. در این تکنولوژی، آنتی‌ژن‌ها می‌توانند با اگزوزوم‌ها همراه با روش خاص یا غیر اختصاصی ترکیب شوند. در روش همجوشی خاص، یک دامنه گیرنده روی سطح اگزوزوم وجود دارد که می‌تواند به آنتی‌ژن مورد نظر متصل شود. به عنوان مثال، در مطالعات متعدد، حضور دومین C1C2 ازlactadherin برای همجوشی آنتی‌ژن‌ها برای اهداف درمانی مهم است[۶۳]. در روش غیر اختصاصی، آنتی‌ژن‌ها در غشای اگزوزوم‌ها لنگر می‌اندازند و لومن با اجزاء بارگذاری می‌شود. متابولیت‌های میکروبی و سموم، به ویژه سوپر آنتی‌ژن‌ها، می‌تواند به عنوان مولکول‌های سیتواستاتیک در پیشگیری از سرطان استفاده شود. سوپر آنتی‌ژن‌ها فعال‌کننده‌های قوی سلول‌های T هستند که می‌توانند کاندید مناسب برای ایمونوتراپی باشند[۶۴]. قرار دادن مقادیر بالایی از آنتی‌ژن‌های تومورال درون اگزوزوم‌ها ممکن است سیستم ایمنی را فعال کند، طراحی ساختار کنژوگه ساخته شده از اگزوزوم‌ها و سوپر آنتی‌ژن‌ها می‌تواند رویدادهای سیتواستاتیک را در سلول‌های تومور فعال کند و می‌تواند پاسخ‌های ایمنی خاصی را تحریک کند. به

عنوان مثال طی چندی از مطالعات در زمینه سرطان پستان از اگزوزم‌های مشتق شده از سل لاین سرطان پستان HCC70, HCC1954, MCF-7 ، سل لاین MDA MB-231, MIA PACA-2, SKOV-3 و سلول‌های دندریتیک نابالغ موش استفاده شد که محموله‌های قابل حمل آنها شامل let-7a, siRNA against EGFR, anti-EGFR و Lamp2b) fused to αv integrin-specific iRGD peptide, doxorubicin و انتروتوکسین B بود که نتایج آن اثر مهاری بر رشد تومور سرطان پستان بود[۶۹-۶۵]. در نسل سوم (سیستم تزریق دارویی) ، سنتز اگزوزوم‌ها راه جدیدی را برای طراحی یک سیستم تحویل دارویی اگزوزومال به نام اگزوزوم Mimetics ایجاد نمود. ایده اگزوزوم Mimetics از این واقعیت پیروی می‌کند که ترکیبات متعدد موجود در ساختارهای اگزوزوم مانند پروتئین‌ها و لیپیدها برای اهداف عملی خاص ضروری نیستند. از سوی دیگر، برخی از اجزاء توسط اگزوزوم طبیعی با اهداف درمانی و پزشکی ناسازگار هستند و حتی ممکن است برخی عوارض جانبی نیز رخ دهد. اگزوزوم Mimetics امکان انتخاب لیپید، پروتئین و اسید نوکلئیک ویژه مانند siRNAs و miRNAها را به عنوان حامل به منظور اهداف مورد نظر فراهم می‌کند. برخی از شباهت‌های ساختاری بین اگزوزوم‌ها و لیپوزوم‌ها وجود دارد. هر دوی آنها شکل کروی با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر دارند و محتویات آنها توسط دو لایه لیپید احاطه شده است؛ بنابراین، اصول خاص در آماده سازی لیپوزوم می‌تواند برای اگزوزوم Mimetics مفید باشد. این اصول می‌توانند یک زمینه جدید برای تولید سیستم‌های تحویل دارویی غیر ویروسی مفید ارائه دهند[۷۱و۷۰]. اندازه کوچک اگزوزوم‌ها به آنها اجازه می‌دهد تا بتوانند به راحتی به بافت‌ها نفوذ کرده و تحویل محموله (به عنوان مثال، دارو) را به صورت کارآمد و بدون عوارض جانبی سیستمیک انجام بدهند. از سوی دیگر، اگزوزوم Mimetics پارامترهای فارماکوکینتیک مانند دسترسی زیستی[1]، متابولیسم و اثرات فیزیولوژیکی[2] را بهبود می‌بخشند. اگزوزوم Mimetics را می‌توان براساس بارهای عملکردی و اجزای هدفمند مانند مولکول‌های چسبنده یا لیگاندهای خاص یا گیرنده‌ها طبقه‌بندی کرد[۷۲]. هیچ گونه عوارض جانبی برای این حمل‌کننده ذکر نشده است. بنابراین استفاده از اگزوزوم Mimetics غیر اتولوگ[3] برای درمان بیماری‌های مختلف امکان پذیر است. علاوه بر این، مشابه با اگزوزوم‌های طبیعی، اگزوزوم Mimetics دارای پتانسیل بارگیری و حمل چندین دارو (مخصوصا داروهای شیمی درمانی و گیاهی) برای هدف قرار دادن سلول‌ها بدون اثرات نامطلوب روی سلول‌های سالم هستند. این امکان برای هدف دوگانه ساختارهای مورد نیاز برای آنژیوژنز در درمان سرطان مفید است. برای این منظور، یک سیستم تحویل دارویی با هدف دوگانه (یعنی یکی به سوی سلول سرطانی و دیگری به سمت اندوتلیوم تومور) باید برای افزایش کارآیی فعالیت ضد تومور، به ویژه در تومورهای مقاوم در برابر دارو ایجاد شود.

درمان‌های سرطان مبتنی بر اگزوزوم در کارآزمایی بالینی[4]

تا به امروز، چندین کارآزمایی بالینی در زمینه درمان سرطان انجام شده است. یکی از مطالعات انجام شده در مورد ملانوما مرحلهIV / IIIb [۷۳] و سرطان ریه در مرحله III / IV از اگزوزوم‌های مشتق شده از DCها در هر بیمار استفاده می‌شود[۷۴]. اگزوزوم‌ها برای ارائه آنتی‌ژن‌های تومور اصلاح شدند و دوباره به همان بیماران تزریق شدند. در مطالعه دیگری در مورد مرحله III / IV سرطان کولورکتال، اگزوزوم‌های خالص

1. Bioavailability
2. Exertion
3. Nonautologous
4. Clinical trial

در هر بیمار به همراه GMCSF تزریق شدند[۷۵]. تمام این آزمایشات بالینی فاز I بر روی اثرات ایمنی سیستم‌های تحویل دارویی مبتنی بر اگزوزوم در برخی از بیماران با هیچ عارضه ای یا حداقل عوارض جانبی تاکید شد. اخیرا، دو آزمایش بالینی بر اساس اگزوزوم‌های گیاهی در سرطان کولورکتال و سرطان سر و گردن انجام شده است که از اگزوزوم Grape-derived به عنوان حمل کننده دارو استفاده شده است که اثر آن تضعیف درد و کاهش موکوس دهانی ناشی از شیمی‌درمانی و پرتودرمانی بوده است. به طور کلی، یافته‌های مطالعات قبلی امکان پذیری اگزوزوم‌ها را در درمان سرطان به عنوان روشی مطمئن و خاص تایید می‌کند[۷۶].

نتیجه گیری

به تازگی، روند درمان سرطان به سمت طراحی سیستم‌های تحویل بیولوژیکی پایدار و ایمن سازگار با انسان‌ها تغییر کرده است. استفاده از اگزوزم‌ها به عنوان دارویی کارامد و غیر سمی پنجره جدیدی برای درمان سرطان باز می‌کند. زمینه تحویل دارو مبتنی براگزوزوم تا حد زیادی افزایش یافته است، و درک ما از برنامه‌های کاربردی ممکن است در چند سال گذشته پیشرفت زیادی بکند. مطالعات بسیاری شرایط لازم را که در آن اگزوزوم‌ها بتوانند به عنوان حامل‌های درمانی عمل کنند، برجسته کرده‌اند. به طور خاص، به نظر می‌رسد که سرطان مطالعه مناسبی برای سیستم‌های تحویل داروهای مبتنی بر اگزوزوم است که در بسیاری از مطالعات مربوط به سرطان منعکس شده است. برای بهبود این سیستم، روش‌های بیوتکنولوژی برای طراحی یک سیستم تحویل دارویی قوی محرک سیستم ایمنی که می‌تواند هدف خود را شناسایی کند، مورد استفاده قرار گرفته‌اند. تکنولوژی جدید اجازه مهندسی سیستم‌های تحویل مبتنی بر اگزوزوم در مقیاس وسیع را می‌دهد که در برنامه‌های پزشکی استفاده می‌شود. به طور کلی برای رسیدگی به چالش‌های موجود در طراحی یک سیستم تحویل موثر، مطالعات بیشتری لازم است.

منابع و مآخذ

1. Niknamian, S., 2016. Nutritional Ketosis Condition and Specific Ketogenic Diet, May Benefit Cancer Patients as an Alternative Treatment by Sudden Change in the Metabolic State of Cancer Cells. *International Science and Investigation journal*, *5*(5), pp.28-48.
2. Hanahan, D. and Weinberg, R.A., 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, *144*(5), pp.646-674.
3. Baxevanis, C.N., Perez, S.A. and Papamichail, M., 2009. Cancer immunotherapy. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, *46*(4), pp.167-189.
4. McCracken, M., Olsen, M., Chen, M.S., Jemal, A., Thun, M., Cokkinides, V., Deapen, D. and Ward, E., 2007. Cancer incidence, mortality, and associated risk factors among Asian Americans of Chinese, Filipino, Vietnamese, Korean, and Japanese ethnicities. *CA: a cancer journal for clinicians*, *57*(4), pp.190-205.
5. Ahmad, J., Akhter, S., Ahmed Khan, M., Wahajuddin, M., H Greig, N., Amjad Kamal, M., Midoux, P. and Pichon, C., 2016. Engineered nanoparticles against MDR in Cancer: the state of the art and its prospective. *Current pharmaceutical design*, *22*(28), pp.4360-4373.
6. Lim, K.J., Bisht, S., Bar, E.E., Maitra, A. and Eberhart, C.G., 2011. A polymeric nanoparticle formulation of curcumin inhibits growth, clonogenicity and stem-like fraction in malignant brain tumors. *Cancer biology & therapy*, *11*(5), pp.464-473.
7. Chenna, V., Hu, C., Pramanik, D., Aftab, B.T., Karikari, C., Campbell, N.R., Hong, S.M., Zhao, M., Rudek, M.A., Khan, S.R. and Rudin, C.M., 2012. A polymeric nanoparticle encapsulated small-molecule inhibitor of Hedgehog signaling (NanoHHI) bypasses secondary mutational resistance to Smoothened antagonists. *Molecular cancer therapeutics*, *11*(1), pp.165-173.
8. Parvani, J.G., Gujrati, M.D., Mack, M.A., Schiemann, W.P. and Lu, Z.R., 2015. Silencing β3 integrin by targeted ECO/siRNA nanoparticles inhibits EMT and metastasis of triple-negative breast cancer. *Cancer research*, *75*(11), pp.2316-2325.
9. Humphrey, T.C., 2015. Identifying new targets for cancer drug 5′-fluorouracil. *Cell Cycle*, *14*(9), p.1353.
10. Gener, P., Gouveia, L.P., Sabat, G.R., de Sousa Rafael, D.F., Fort, N.B., Arranja, A., Fernández, Y., Prieto, R.M., Ortega, J.S., Arango, D. and Abasolo, I., 2015. Fluorescent CSC models evidence that targeted nanomedicines improve treatment sensitivity of breast and colon cancer stem cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *11*(8), pp.1883-1892.
11. Peer, D., Karp, J.M., Hong, S., Farokhzad, O.C., Margalit, R. and Langer, R., 2007. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature nanotechnology*, *2*(12), pp.751-760.
12. Parvani, J.G., Gujrati, M.D., Mack, M.A., Schiemann, W.P. and Lu, Z.R., 2015. Silencing β3 integrin by targeted ECO/siRNA nanoparticles inhibits EMT and metastasis of triple-negative breast cancer. *Cancer research*, *75*(11), pp.2316-2325.
13. Kraeber-Bodéré, F., Bodet-Milin, C., Rousseau, C., Eugène, T., Pallardy, A., Frampas, E., Carlier, T., Ferrer, L., Gaschet, J., Davodeau, F. and Gestin, J.F., 2014, October. Radioimmunoconjugates for the treatment of cancer. In *Seminars in oncology* (Vol. 41, No. 5, pp. 613-622). WB Saunders.

14. Sun, T.M., Wang, Y.C., Wang, F., Du, J.Z., Mao, C.Q., Sun, C.Y., Tang, R.Z., Liu, Y., Zhu, J., Zhu, Y.H. and Yang, X.Z., 2014. Cancer stem cell therapy using doxorubicin conjugated to gold nanoparticles via hydrazone bonds. *Biomaterials*, *35*(2), pp.836-845.

15. Munagala, R., Aqil, F., Jeyabalan, J. and Gupta, R.C., 2016. Bovine milk-derived exosomes for drug delivery. *Cancer letters*, *371*(1), pp.48-61.

16. Johnstone, R.M., Adam, M., Hammond, J.R., Orr, L. and Turbide, C., 1987. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *Journal of Biological Chemistry*, *262*(19), pp.9412-9420.

17. Mahmoodzadeh Hosseini, H., Ali Imani Fooladi, A., Reza Nourani, M. and Ghanezadeh, F., 2013. The role of exosomes in infectious diseases. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)*, *12*(1), pp.29-37.

18. Johnsen, K.B., Gudbergsson, J.M., Skov, M.N., Pilgaard, L., Moos, T. and Duroux, M., 2014. A comprehensive overview of exosomes as drug delivery vehicles—endogenous nanocarriers for targeted cancer therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, *1846*(1), pp.75-87.

19. Mahmoodzadeh Hosseini, H., Ali Imani Fooladi, A., Reza Nourani, M. and Ghanezadeh, F., 2013. The role of exosomes in infectious diseases. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)*, *12*(1), pp.29-37.

20. Muzykantov, V.R., 2010. Drug delivery by red blood cells: vascular carriers designed by mother nature. *Expert opinion on drug delivery*, *7*(4), pp.403-427.

21. Yousefpour, P. and Chilkoti, A., 2014. Co-opting biology to deliver drugs. *Biotechnology and bioengineering*, *111*(9), pp.1699-1716.

22. Munagala, R., Aqil, F., Jeyabalan, J. and Gupta, R.C., 2016. Bovine milk-derived exosomes for drug delivery. *Cancer letters*, *371*(1), pp.48-61.

23. Srivastava, A., Babu, A., Filant, J., Moxley, K.M., Ruskin, R., Dhanasekaran, D., Sood, A.K., McMeekin, S. and Ramesh, R., 2016. Exploitation of exosomes as nanocarriers for gene-, chemo-, and immune-therapy of cancer. *Journal of biomedical nanotechnology*, *12*(6), pp.1159-1173.

24. Johnsen KB, Gudbergsson JM, Skov MN, Pilgaard L, Moos T, Duroux M. A comprehensive overview of exosomes as drug delivery vehicles—endogenous nanocarriers for targeted cancer therapy. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer. 2014 Aug 31;1846(1):75-87.

25. Urbanelli, L., Buratta, S., Sagini, K., Ferrara, G., Lanni, M. and Emiliani, C., 2015. Exosome-based strategies for diagnosis and therapy. *Recent patents on CNS drug discovery*, *10*(1), pp.10-27.

26. Philip, A.K. and Philip, B., 2010. Colon targeted drug delivery systems: a review on primary and novel approaches. *Oman medical journal*, *25*(2), p.79.

27. Tan S, Wu T, Zhang D, Zhang Z. Cell or cell membrane-based drug delivery systems. Theranostics. 2015;5(8):863.

28. El-Andaloussi, S., Lee, Y., Lakhal-Littleton, S., Li, J., Seow, Y., Gardiner, C., Alvarez-Erviti, L., Sargent, I.L. and Wood, M.J., 2012. Exosome-mediated delivery of siRNA in vitro and in vivo. *Nature protocols*, *7*(12), p.2112.

29. Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J.J. and Lötvall, J.O., 2007. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature cell biology*, *9*(6), p.654.

30. Kooijmans, S.A., Vader, P., van Dommelen, S.M., van Solinge, W.W. and Schiffelers, R.M., 2012. Exosome mimetics: a novel class of drug delivery systems. *International journal of nanomedicine*, *7*, p.1525.

31. Denzer, K., Kleijmeer, M.J., Heijnen, H.F., Stoorvogel, W. and Geuze, H.J., 2000. Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *Journal of cell science*, *113*(19), pp.3365-3374.

32. Raposo, G., Nijman, H.W., Stoorvogel, W., Liejendekker, R., Harding, C.V., Melief, C.J. and Geuze, H.J., 1996. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *Journal of Experimental Medicine*, *183*(3), pp.1161-1172.

33. Vlassov, A.V., Magdaleno, S., Setterquist, R. and Conrad, R., 2012. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *1820*(7), pp.940-948.

34. Denzer, K., Kleijmeer, M.J., Heijnen, H.F., Stoorvogel, W. and Geuze, H.J., 2000. Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *Journal of cell science*, *113*(19), pp.3365-3374.

35. Fernandez-Borja, M., Wubbolts, R., Calafat, J., Janssen, H., Divecha, N., Dusseljee, S. and Neefjes, J., 1999. Multivesicular body morphogenesis requires phosphatidyl-inositol 3-kinase activity. *Current Biology*, *9*(1), pp.55-58.

36. Caby MP, Lankar D, Vincendeau-Scherrer C, Raposo G, Bonnerot C. Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. International immunology. 2005 May 20;17(7):879-87.

37. Möbius, W., Ohno-Iwashita, Y., Donselaar, E.G.V., Oorschot, V.M., Shimada, Y., Fujimoto, T., Heijnen, H.F., Geuze, H.J. and Slot, J.W., 2002. Immunoelectron microscopic localization of cholesterol using biotinylated and non-cytolytic perfringolysin O. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *50*(1), pp.43-55.

38. Ostrowski, M., Carmo, N.B., Krumeich, S., Fanget, I., Raposo, G., Savina, A., Moita, C.F., Schauer, K., Hume, A.N., Freitas, R.P. and Goud, B., 2010. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nature cell biology*, *12*(1), p.19.

39. Bobrie, A., Colombo, M., Raposo, G. and Théry, C., 2011. Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses. *Traffic*, *12*(12), pp.1659-1668.

40. Koumangoye, R.B., Sakwe, A.M., Goodwin, J.S., Patel, T. and Ochieng, J., 2011. Detachment of breast tumor cells induces rapid secretion of exosomes which subsequently mediate cellular adhesion and spreading. *PloS one*, *6*(9), p.e24234.

41. de Gassart, A., Géminard, C., Février, B., Raposo, G. and Vidal, M., 2003. Lipid raft-associated protein sorting in exosomes. *Blood*, *102*(13), pp.4336-4344.

42. Lösche, W., Scholz, T., Temmler, U., Oberle, V. and Claus, R.A., 2004. Platelet-derived microvesicles transfer tissue factor to monocytes but not to neutrophils. *Platelets*, *15*(2), pp.109-115.

43. Denzer, K., van Eijk, M., Kleijmeer, M.J., Jakobson, E., de Groot, C. and Geuze, H.J., 2000. Follicular dendritic cells carry MHC class II-expressing microvesicles at their surface. *The Journal of Immunology*, *165*(3), pp.1259-1265.

44. Lee, Y., El Andaloussi, S. and Wood, M.J., 2012. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy. *Human molecular genetics*, *21*(R1), pp.R125-R134.

45. Conde-Vancells, J., Rodriguez-Suarez, E., Embade, N., Gil, D., Matthiesen, R., Valle, M., Elortza, F., Lu, S.C., Mato, J.M. and Falcon-Perez, J.M., 2008. Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes. *Journal of proteome research*, *7*(12), pp.5157-5166.

46. Lässer, C., Eldh, M. and Lötvall, J., 2012. Isolation and characterization of RNA-containing exosomes. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (59).

47. Mathivanan, S., Fahner, C.J., Reid, G.E. and Simpson, R.J., 2011. ExoCarta 2012: database of exosomal proteins, RNA and lipids. *Nucleic acids research*, *40*(D1), pp.D1241-D1244.

48. Vlassov, A.V., Magdaleno, S., Setterquist, R. and Conrad, R., 2012. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *1820*(7), pp.940-948.

49. Kooijmans, S.A., Vader, P., van Dommelen, S.M., van Solinge, W.W. and Schiffelers, R.M., 2012. Exosome mimetics: a novel class of drug delivery systems. *International journal of nanomedicine*, *7*, p.1525.

50. Théry, C., Duban, L., Segura, E., Véron, P., Lantz, O. and Amigorena, S., 2002. Indirect activation of naïve CD4+ T cells by dendritic cell–derived exosomes. *Nature immunology*, *3*(12), pp.1156-1162.

51. Ha, D., Yang, N. and Nadithe, V., 2016. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *6*(4), pp.287-296.

52. Kawikova, I. and Askenase, P.W., 2015. Diagnostic and therapeutic potentials of exosomes in CNS diseases. *Brain research*, *1617*, pp.63-71.

53. Li, X., Tsibouklis, J., Weng, T., Zhang, B., Yin, G., Feng, G., Cui, Y., Savina, I.N., Mikhalovska, L.I., Sandeman, S.R. and Howel, C.A., 2017. Nano carriers for drug transport across the blood–brain barrier. *Journal of drug targeting*, *25*(1), pp.17-28.

54. Li, X., Tsibouklis, J., Weng, T., Zhang, B., Yin, G., Feng, G., Cui, Y., Savina, I.N., Mikhalovska, L.I., Sandeman, S.R. and Howel, C.A., 2017. Nano carriers for drug transport across the blood–brain barrier. *Journal of drug targeting*, *25*(1), pp.17-28.

55. Andre, F., Schartz, N.E., Movassagh, M., Flament, C., Pautier, P., Morice, P., Pomel, C., Lhomme, C., Escudier, B., Le Chevalier, T. and Tursz, T., 2002. Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *The Lancet*, *360*(9329), pp.295-305.

56. Chaput, N., Taïeb, J., Schartz, N.E., Andre, F., Angevin, E. and Zitvogel, L., 2004. Exosome-based immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, *53*(3), pp.234-239.

57. Napoletano, C., Rughetti, A., Landi, R., Pinto, D., Bellati, F., Rahimi, H., Spinelli, G.P., Pauselli, S., Sale, P., Dolo, V. and De Lorenzo, F., 2009. Immunogenicity of allo-vesicle carrying ERBB2 tumor antigen for dendritic cell-based anti-tumor immunotherapy. *International journal of immunopathology and pharmacology*, *22*(3), pp.647-658.

58. Bu, N., Wu, H., Sun, B., Zhang, G., Zhan, S., Zhang, R. and Zhou, L., 2011. Exosome-loaded dendritic cells elicit tumor-specific CD8+ cytotoxic T cells in patients with glioma. *Journal of neuro-oncology*, *104*(3), pp.659-667.

59. Chen, W., Wang, J., Shao, C., Liu, S., Yu, Y., Wang, Q. and Cao, X., 2006. Efficient induction of antitumor T cell immunity by exosomes derived from heat-shocked lymphoma cells. *European journal of immunology*, *36*(6), pp.1598-1607.

60. Cho, J.A., Lee, Y.S., Kim, S.H., Ko, J.K. and Kim, C.W., 2009. MHC independent anti-tumor immune responses induced by Hsp70-enriched exosomes generate tumor regression in murine models. *Cancer letters*, *275*(2), pp.256-265.

61. Cho, J.A., Yeo, D.J., Son, H.Y., Kim, H.W., Jung, D.S., Ko, J.K., Koh, J.S., Kim, Y.N. and Kim, C.W., 2005. Exosomes: a new delivery system for tumor antigens in cancer immunotherapy. *International journal of cancer*, *114*(4), pp.613-622.

62. Alvarez-Erviti, L., Seow, Y., Yin, H., Betts, C., Lakhal, S. and Wood, M.J., 2011. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nature biotechnology*, *29*(4), pp.341-345.

63. Delcayre, A., Estelles, A., Sperinde, J., Roulon, T., Paz, P., Aguilar, B., Villanueva, J., Khine, S. and Le Pecq, J.B., 2005. Exosome display technology: applications to the development of new diagnostics and therapeutics. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, *35*(2), pp.158-168.

64. Choi, Y.W., Kotzin, B.L.L.H., Herron, L., Callahan, J., Marrack, P. and Kappler, J., 1989. Interaction of Staphylococcus aureus toxin" superantigens" with human T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *86*(22), pp.8941-8945.

65. Mahmoodzadeh, H.H., Ali, I.F.A., Soleimanirad, J., Reza, N.M. and Mahdavi, M., 2014. Exosome/staphylococcal enterotoxin B, an anti tumor compound against pancreatic cancer. *Journal of BU ON.: official journal of the Balkan Union of Oncology*, *19*(2), pp.440-448.

66. Hosseini, H.M., Fooladi, A.A.I., Soleimanirad, J., Nourani, M.R., Davaran, S. and Mahdavi, M., 2014. Staphylococcal entorotoxin B anchored exosome induces apoptosis in negative esterogen receptor breast cancer cells. *Tumor Biology*, *35*(4), pp.3699-3707.

67. Hosseini, H.M., Soleimanirad, J., Aghdam, E.M., Amin, M. and Fooladi, A.A.I., 2015. Texosome-anchored superantigen triggers apoptosis in original ovarian cancer cells. *Medical Oncology*, *32*(1), p.409.

68. Ohno, S.I., Takanashi, M., Sudo, K., Ueda, S., Ishikawa, A., Matsuyama, N., Fujita, K., Mizutani, T., Ohgi, T., Ochiya, T. and Gotoh, N., 2013. Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver antitumor microRNA to breast cancer cells. *Molecular Therapy*, *21*(1), pp.185-191.

69. Tian, Y., Li, S., Song, J., Ji, T., Zhu, M., Anderson, G.J., Wei, J. and Nie, G., 2014. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy. *Biomaterials*, *35*(7), pp.2383-2390.

70. Puri, A., Loomis, K., Smith, B., Lee, J.H., Yavlovich, A., Heldman, E. and Blumenthal, R., 2009. Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: from concepts to clinic. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, *26*(6).

71. Fenske, D.B. and Cullis, P.R., 2008. Liposomal nanomedicines. *Expert opinion on drug delivery*, *5*(1), pp.25-44.

72. Jang, S.C., Kim, O.Y., Yoon, C.M., Choi, D.S., Roh, T.Y., Park, J., Nilsson, J., Lötvall, J., Kim, Y.K. and Gho, Y.S., 2013. Bioinspired exosome-mimetic nanovesicles for targeted delivery of chemotherapeutics to malignant tumors. *ACS nano*, *7*(9), pp.7698-7710.

73. Escudier, B., Dorval, T., Chaput, N., André, F., Caby, M.P., Novault, S., Flament, C., Leboulaire, C., Borg, C., Amigorena, S. and Boccaccio, C., 2005. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: results of thefirst phase I clinical trial. *Journal of translational medicine*, *3*(1), p.10.

74. Morse, M.A., Garst, J., Osada, T., Khan, S., Hobeika, A., Clay, T.M., Valente, N., Shreeniwas, R., Sutton, M.A., Delcayre, A. and Hsu, D.H., 2005. A phase I study of dexosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Journal of translational medicine*, *3*(1), p.9.

75. Dai, S., Wei, D., Wu, Z., Zhou, X., Wei, X., Huang, H. and Li, G., 2008. Phase I clinical trial of autologous ascites-derived exosomes combined with GM-CSF for colorectal cancer. *Molecular therapy*, *16*(4), pp.782-790.

76. Hosseini, H.M., Halabian, R., Amin, M. and Fooladi, A.A.I., 2015. Texosome-based drug delivery system for cancer therapy: from past to present. *Cancer biology & medicine*, *12*(3), p.150.