

DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-2-58-69



Диагностический и терапевтический потенциал белков экзосом при раке молочной железы

А.А. Шефер^{1,2}, Я.А. Фрик², С.Н. Тамкович^{1,2}

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук»; Россия, 630090 Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 8;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»; Россия, 630090 Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Контакты: Светлана Николаевна Тамкович s.tamkovich@g.nsu.ru

Экзосомы представляют собой мембранные везикулы размером 30–150 нм, которые высвобождаются клетками при слиянии мультивезикулярных телец с плазматической мембраной. Отличительной чертой этих везикул является наличие в них поверхностных тетраспанинов CD9, CD63 и CD81. Семейство малых ГТФаз Rab, включая Rab27A и Rab27B, контролирует различные этапы высвобождения экзосом, в том числе транспорт мультивезикулярных телец и слияние мультивезикулярного тельца с плазматической мембраной. На сегодняшний день принято считать экзосомы основными переносчиками информации между клетками в физиологических условиях, таких как развитие молочной железы и лактация, и при патологии, например при раке молочной железы. В обзоре рассмотрены особенности формирования, секреции и транспорта экзосом, их состав и роль в норме и при раке молочной железы, а также перспективы использования этих везикул для разработки ранней неинвазивной диагностики и повышения эффективности противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: экзосомы, рак молочной железы, диагностика рака молочной железы, терапия рака молочной железы

Для цитирования: Шефер А.А., Фрик Я.А., Тамкович С.Н. Диагностический и терапевтический потенциал белков экзосом при раке молочной железы. Успехи молекулярной онкологии 2023;10(2):58–69. DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-2-58-69

The diagnostic and therapeutic potential of exosomal proteins in breast cancer

A.A. Shefer^{1,2}, Ya.A. Frik², S.N. Tamkovich^{1,2}

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 8 Akademika Lavrent'eva Prospekt, Novosibirsk 630090, Russia;

²Novosibirsk State University; 2 Pirogova St., Novosibirsk 630090, Russia

Contacts: Svetlana Nikolaevna Tamkovich s.tamkovich@g.nsu.ru

Exosomes are membrane vesicles 30–150 nm in size released by cells upon fusion of multivesicular bodies with the plasma membrane. A distinctive feature of these vesicles is the presence of the surface tetraspanins CD9, CD63, and CD81. The Rab family of small GTPases, including Rab27A and Rab27B, controls various steps in exosome release, including transport of multivesicular bodies and fusion of the multivesicular body to the plasma membrane. It is commonly accepted to date that exosomes are the main carriers of information between cells under physiological conditions, such as mammary development and lactation, and under pathological conditions, such as breast cancer. This review considers the peculiarities of exosome formation, secretion and transport, their composition and role in normal and breast cancer, as well as the prospects for using these vesicles to develop early non-invasive diagnostics and improve the effectiveness of anti-tumor therapy.

Keywords: exosomes, breast cancer, breast cancer diagnosis, breast cancer therapy

For citation: Shefer A.A., Frik Ya.A., Tamkovich S.N. The diagnostic and therapeutic potential of exosomal proteins in breast cancer. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2023;10(2):58–69. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-2-58-69

ВВЕДЕНИЕ

Экзосомы представляют собой внеклеточные везикулы, окруженные мембраной диаметром 30–150 нм. Они отличаются от остальных малых везикул наличием поверхностных тетраспанинов CD9, CD63 и CD81 [1, 2]. Основной функцией экзосом является транспорт молекул между клетками (РНК, белки, ДНК, липиды и метаболиты). Показано наличие экзосом практически во всех биологических жидкостях: эти везикулы секретируются клетками организма как в норме, так и при ряде патологических состояний [3, 4]. Кроме того, выявлено повышение концентрации экзосом в биологических жидкостях, а также существенное изменение их состава при наличии в организме злокачественных опухолей, в частности рака молочной железы (РМЖ) [2, 5]. За последние 10 лет появилось много публикаций, посвященных изучению экзосом: согласно базе данных Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), с 2013 по 2022 г. их количество выросло с 661 до 5134. Несмотря на интенсивность исследований, до сих пор остаются неясными многие функции экзосом. Известно, что данные везикулы отражают состав секретирующих их клеток и играют ключевую роль в межклеточной коммуникации, передаче сигналов, поддержке и ремоделировании внеклеточного матрикса, а также в других физиологических процессах. Таким образом, транспорт биологически активных веществ посредством экзосом имеет большое значение в основных клеточных процессах, включая иммунный ответ, гомеостаз и регенерацию. В то же время в крови онкологических больных выявлено повышение концентрации этих везикул и существенное изменение их состава [5]. На сегодняшний день ведется активный поиск диагностически значимых маркеров в составе экзосом крови для разработки жидкой биопсии РМЖ, а также предпринимаются попытки их использования для повышения эффективности противоопухолевой терапии.

Цель работы — анализ состава и роли экзосом в норме и при РМЖ, а также перспективы использования этих везикул для разработки ранней неинвазивной диагностики и повышения эффективности противоопухолевой терапии.

БИОГЕНЕЗ ЭКЗОСОМ

Экзосомы представляют собой везикулы эндозитозного происхождения, окруженные липидной мембраной, имеющие, по разным оценкам, размер 30–100 нм [6] или 30–150 нм [7] (что, вероятно, связано с различными методами анализа этих везикул) и несущие на своей поверхности тетраспанины CD9, CD63, CD81 (рис. 1). Помимо экзосом к мембранным везикулам относят микровезикулы (размер 100–1000 нм) и апоптотические тельца (размер 50–500 нм) [2, 8].

Формирование экзосом начинается с инвагинации плазмалеммы и образования ранней эндосомы, которая может либо снова слиться с мембраной (в таком

случае она называется циркулирующей эндосомой), либо претерпеть ряд изменений, превратившись в мультивезикулярное тельце. Основными регуляторами перехода от ранней эндосомы к мультивезикулярному тельцу являются малая ГТФаза Rab5 и эффектор VPS34/p150 [9]. После связывания с Rab5 начинают работу эффекторные белки: фосфоинозитол-3-киназа, ранний эндосомальный антиген 1 и рабенозин-5, которые стабилизируют активную форму Rab5, способствуя дальнейшему узнаванию доменом цинкового пальца FYVE, входящим в состав эндосомального сортировочного комплекса (ESCRT). Комплекс ESCRT-0 узнает убиквитинизированные белки с помощью гетеродимера HRS и STAM1/2 [10]. ESCRT-0 привлекает комплексы ESCRT-I и ESCRT-II, которые индуцируют формирование экзосом из мембраны мультивезикулярного тельца. Далее привлекается комплекс ESCRT-III, который способствует откреплению экзосом от мембраны и высвобождению везикул внутрь мультивезикулярного тельца [11]. После этого мультивезикулярное тельце может либо потерять убиквитининовую метку при помощи группы белков, либо слиться с лизосомой и деградировать. Далее при помощи белков Rab27A и Rab27B данное тельце перемещается к периферии клетки и сливается с мембраной [2, 12].

Стоит отметить, что при инактивации белков Rab27A и Rab27B секреция экзосом снижается лишь наполовину, из чего следует вывод о существовании альтернативных путей реализации секреции. Помимо Rab27A и Rab27B показано влияние на секрецию экзосом белков Rab5A, Rab9A и Rab2 [2, 12] (см. рис. 1). Кроме того, было обнаружено, что как нормальные, так и опухолевые клетки увеличивают уровень секреции экзосом в неблагоприятных условиях (гипоксия, тепловой шок и т. д.) [5].

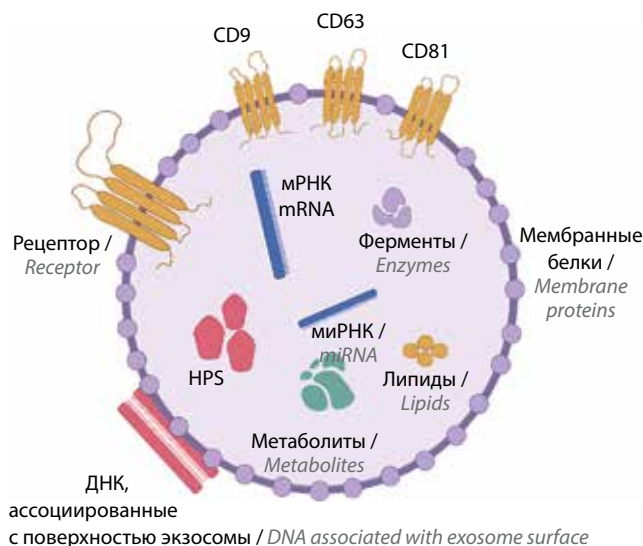


Рис. 1. Состав экзосом
Fig. 1. Exosome structure

Существует также ESCRT-независимый путь формирования экзосом, в котором основным регуляторным белком выступает белок Rab31, фосфорилирующийся рецептор эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) и способствующий экспорту EGFR внутрь мультивезикулярного тельца при помощи белков-флотилинов. После этого Rab31 инактивирует Rab7 посредством белка TBC1D2B, что не позволяет мультивезикулярному тельцу деградировать, слившись с лизосомой, а дает ему возможность выйти из клетки [13]. Также было показано, что в сформированных ESCRT-независимым путем экзосомах повышено содержание церамида [14].

Секреция экзосом во внеклеточное пространство происходит непосредственно за счет слияния поздней эндосомы с плазмалеммой. Процесс слияния начинается с взаимодействия белка синаптоагмина с кальциевыми рецепторами, в результате чего мультивезикулярное тельце связывается с транс-SNARE-комплексом, после которого экзосомы секретируются во внеклеточную среду [2, 12].

Известно, что экзосомы могут оказывать как локальное воздействие на близлежащие клетки, так и дистально влиять на клетки, разносясь вместе с током крови и лимфы к тканям. Экзосомы обнаруживаются в слюне [15], спинномозговой и вагинальной жидкостях [16], крови [17], моче [4], слезе [18], а также в грудном молоке [19]. Согласно данным литературы, на 1 мкл крови приходится от 3 до 50 млн экзосом [3]. В состав экзосом входят белки, РНК, ДНК, липиды и метаболиты. Основной функцией экзосом является обеспечение межклеточных коммуникаций путем транспортировки функционально активных соединений от клеток-доноров к клеткам-реципиентам [2, 20]. При этом показано, что экзосомы способны оказывать как локальное воздействие — путем диффузии в жидкостях организма, так и дистальное, перемещаясь с током крови и лимфы на большие расстояния. Недавно было выявлено, что экзосомы могут связываться с поверхностью форменных элементов крови и в таком виде длительно циркулировать [21].

СОСТАВ ЭКЗОСОМ

К наиболее характерным для экзосом белкам относят мембранные тетраспанины CD63, CD9, CD81, за счет которых в том числе осуществляется связывание везикул с клеткой-мишенью (см. рис. 1). В то же время белковый состав экзосом может сильно различаться, отражая состав клеток-доноров. Например, на поверхности экзосом HER2/neu-положительной (HER2 — human epidermal growth factor receptor 2, рецептор эпидермального фактора роста, тип 2) карциномы молочной железы обнаруживается HER2 [22]. Также экзосомы несут в себе набор различных ферментов (одни из важнейших — ГТФазы Rab, способствующие слиянию мембран), белки цитоскелета (тубулин, актин), комплекса гистосовместимости (МНС I и II),

теплового шока (Hsp70, Hsp90), сигнальные белки и т.д. [9, 10, 12, 13]. На основе базы данных ExoCarta (www.exocarta.org), включающей сведения независимых исследований о содержащихся в экзосомах белках, липидах, микроРНК и матричных РНК (мРНК) (на конец 2022 г.), можно выделить 20 наиболее характерных для экзосом белков (табл. 1). Некоторые

Таблица 1. Наиболее представленные белки в составе экзосом по данным ExoCarta на конец 2022 г.

Table 1. The most abundant proteins in exosomes per ExoCarta data from the end of 2022

Белок Protein	Количество идентификаций Number of identifications
CD9	98
TIAM1	96
CA125 (опухолевый маркер, связанный с раком яичников) CA125 (ovarian cancer related tumor marker)	96
Изоформа X2 белка цинкового пальца GLI2 Zinc finger protein GLI2 isoform X2	95
Предшественник изоформы В ашерина Usherin isoform B precursor	93
Субъединица 5 НАДН-дегидрогеназы NADH dehydrogenase subunit 5	83
CD63	82
Ламинин альфа-5, изоформа CRA_b Laminin, alpha 5, isoform CRA_b	78
ENO1	78
Изоформа калирина Kalirin isoform	77
TSG101	75
PKM	72
Титин, изоформа IC Titin isoform IC	72
Е3 убиквитин-протеинлигаза UBR4 E3 ubiquitin-protein ligase UBR4	71
Нетрадиционный миозин-XVI Unconventional myosin-XVI	69
PGK1	69
EEF2	69
Цепь А, интегрин-связанной киназы Chain A, Integrin-linked kinase	69
Мидазин Midasin	67
Цитохром b Cytochrome b	67

из этих белков рассматриваются в литературе как связанные с развитием злокачественных новообразований. Так, CA125 является одним из классических маркеров рака яичников [2, 23], а 5 субъединиц NADH-дегидрогеназы – белки, увеличивающие выживаемость при миелоидной лейкемии [24]. Описано, что ламинин альфа-5 является регулятором клеточной адгезии и стимулятором метастазирования при колоректальном раке [25], а ENO1 может регулировать онкогенез, эпителиально-мезенхимальный переход, рост опухоли, метастазирование и супрессию ферроптоза при различных видах рака [26–29].

Для PKM показана способность индуцировать рост опухолевой массы при колоректальном раке [30], а для PGK1 – регулировать этот рост [31].

В литературе показаны роль интегрин-связанной киназы в метастазировании рака простаты [32] и гиперэкспрессия цитохрома b при РМЖ [33]. Остальные белки не были ранее отмечены как вовлеченные в процесс канцерогенеза.

Анализ данных белков с помощью программного обеспечения STRING (<https://string-db.org/>) показал их взаимосвязь и вовлеченность в единые процессы (рис. 2).

Липидный состав экзосом отчасти отражает состав мембраны секретирующих их клеток. В частности, соотношение холестерина, церамидов, фосфатидилсерина и сфингомиелинов более сбалансировано и равномернее распределено между внутренней и внешней

поверхностями мембраны экзосом, чем в мембранах родительских клеток [34]. Как следствие, мембраны экзосом больше склонны к выворачиванию, что сближает их по свойствам и составу с мембранами органелл. Также для экзосом характерно повышенное содержание фосфатидилинозитола и сфингомиелина, что, вероятно, необходимо для защиты от деградации и повышенной устойчивости к pH биологических жидкостей [2, 35]. Чаще всего в экзосомах обнаруживаются сфингомиелин, фосфолипиды, ганглиозид GM3 и холестерол [36–38]. Было показано, что экзосомы астроцитов могут повышать содержание церамидов и PAR-4 и индуцировать апоптоз в клетках-реципиентах [14, 39].

В ранних работах авторы отмечали наличие ДНК в составе экзосом [40]. Вероятно, это связано с использованием методов выделения экзосом, содержащих примеси апоптотических телец и везикул большего размера. Например, в составе экзосом, секретируемых фибробластами, выявлены ретротранспозоны, а в экзосомах некоторых клеток медуллобластомы – ДНК онкогена с-Мус [41]. Работы последних лет демонстрируют наличие ДНК, связанной с белками на поверхности экзосомальной мембраны, однако доля этой ДНК не превышает 0,5 % всей выявленной ДНК крови. Также отмечается присутствие на поверхности экзосом белков, не обеспечивающих связывания с ДНК, но связывающихся с нуклеопротеиновыми комплексами [2, 42].

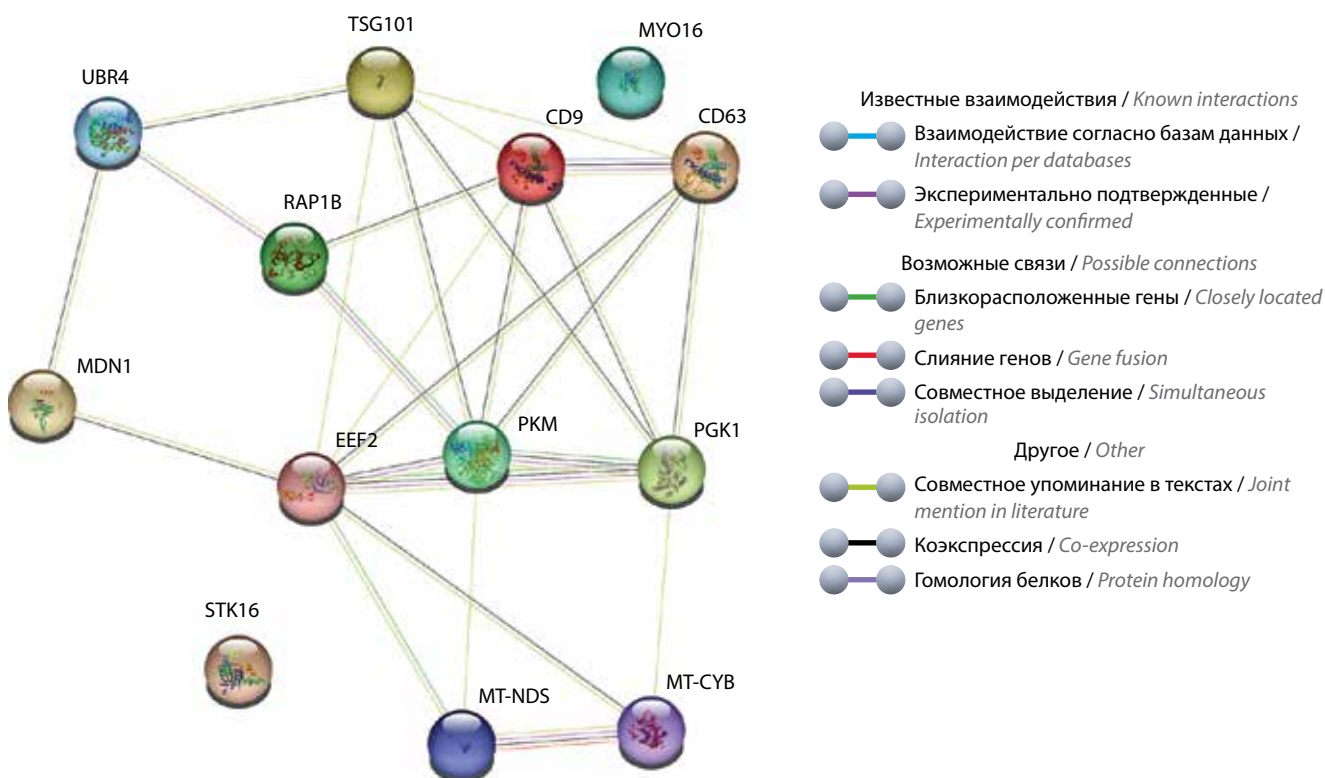


Рис. 2. Взаимосвязь наиболее характерных белков экзосом
 Fig. 2. Relationships between the most characteristic exosomal proteins

В состав экзосом также могут входить мРНК, длинная некодирующая РНК и микроРНК; при этом после переноса из одной клетки в другую эти РНК способны к нормальному функционированию [43–45]. Например, экзосомальная микроРНК-212-3р ингибирует транскрипционный фактор МНС-II, а микроРНК-222-3р – SOCS3 [46, 47]. Известно, что РНК в составе экзосом способны индуцировать эпителиально-мезенхимальный переход (miRNA-210, miRNA-191, miRNA-23a), клеточную подвижность (miRNA-195, miRNA-128, miRNA-188), ангиогенез (miRNA-30с, miRNA-424, miRNA-let-7f) и лекарственную устойчивость (miRNA-21, miRNA-155, miRNA-222) [2, 48]. Экзосомы также способны переносить мРНК, повышая таким образом уровень синтеза белков в клетках-реципиентах; кроме того, данные мРНК можно использовать в качестве онкомаркеров [49].

РОЛЬ ЭКЗОСОМАЛЬНЫХ БЕЛКОВ В РАЗВИТИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

При РМЖ, помимо участия в начальной злокачественной трансформации, экзосомы могут передавать сигнальные молекулы клеткам опухолевого микроокружения, не только помогая раковым клеткам уклоняться от иммунного ответа, но и способствуя инвазии и метастазированию опухоли путем реконструирования микросреды и стимулирования ангиогенеза.

Анализ белков экзосом клеток MCF-7, характеризующихся низким метастатическим потенциалом, показал повышенное содержание белков суперсемейства тетраспанинов (тетраспанин-14, CD9, CD63 и CD81) [50], которые усиливают клеточную адгезию и уменьшают склонность к миграции и метастазированию. В экзосомах линии MDA-MB-231, имеющей большой метастатический потенциал, была повышена представленность белков, усиливающих клеточную подвижность (виментин, галектин-3-связывающий белок (galectin-3-binding protein), аннексин A1 (annexin A1), плектин (plectin), белок CYR61, EGF-подобный повтор и дискоидин I-подобный домен, содержащий белок (EGF-like repeat and discoidin I-like domain containing protein), филамин D (filamin D), глютамин гамма-глутамилтрансфераза 2 (protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2)) [51]. Также было показано, что экзосомы переносят сурвивин, который усиливает экспрессию SOD1, контролирующего дифференцировку клеток фибробластического ряда в миофибробласты, нарушает адгезию фибробластов, позволяя метастазирующим опухолевым клеткам встраиваться в новые участки, а также усиливает пролиферацию клеток РМЖ [52]. В метастазирование РМЖ также вовлечена экзосомальная аспартат-β-гидроксилаза: было выявлено, что фермент запускает Notch-сигнальный путь, индуцирующий секрецию экзосом и повышающий агрессивность клеток [53]. В одной из работ продемонстрировано, что экзосомы, секретлируемые линией MDA-MB-231 (подлинная SCP28), для которой

характерен крайне высокий метастатический потенциал, влияют на активность остеокластов в эксперименте на мышах *in vivo*, что в свою очередь способствует формированию преметастатических ниш в костях [54]. Кроме того, в экзосомах метастатически активных подтипов РМЖ обнаруживается повышение содержания тромбоспондина-1, являющегося регулятором клеточной подвижности и инвазии [2, 55]. Помимо данных о том, что опухолеассоциированные экзосомы способствуют инвазии опухолевых клеток и метастазированию, есть сведения о способности этих везикул изменять ансамбль экспрессируемых белков неопухолевых клеток, усиливая их инвазию в преметастатические ниши [56]. В частности, обработка клеток линии MDA-MB-231 экзосомами крови больных РМЖ повышает клеточную миграцию [57].

Опухолевые экзосомы также способны взаимодействовать с макрофагами, изменяя их фенотип. В частности, было показано, что экзосомы, секретлируемые клетками РМЖ, несут в себе гликопротеин 130 (gp130), который совместно с miR-301a-3р вызывает активацию сигнального пути STAT3, в результате чего в макрофагах повышается концентрация активных форм кислорода [58]. Кроме того, после взаимодействия с опухолевыми экзосомами в макрофагах усиливается секреция интерлейкина-6, фактора некроза опухоли α (TNF-α) и CCL2. Также было выявлено, что при ингибировании gp130 макрофаги дифференцируются по обычному пути. Поглощение ими опухолевых экзосом приводит к потере антигена HLA-DR и повышению экспрессии CD14, т.е. к смене фенотипа на иммуносупрессорный [59]. Помимо влияния на макрофаги опухолевые экзосомы способны индуцировать апоптоз активированных Т-клеток, несущих CD8-рецептор [60]. Данный эффект может быть связан с экспрессией на поверхности экзосомальной мембраны МНС-I, который запускает апоптоз Т-лимфоцитов через сигнальный путь FasL/Fas [60]. Также была показана способность секретлируемых опухолями экзосом индуцировать распространение клеток-супрессоров миелоидного происхождения, повышая их иммуносупрессорные способности за счет продуцирования множества факторов, вызывающих апоптоз Т-клеток [2, 61].

Большую роль в подавлении иммунного ответа играет лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1), который связывается с рецептором программируемой клеточной гибели 1 (programmed death 1, PD-1) на поверхности Т-клеток, подавляя их пролиферацию и секрецию цитокинов. PD-L1 был обнаружен в экзосомах совместно с галектином-9, который, взаимодействуя с экзосомальным белком Tim-3, подавляет пролиферацию Т-клеток [2, 62].

Экзосомы способны подавлять лекарственное воздействие за счет конкурентного ингибирования антител. В частности, для 1-й линии терапии больных

с HER2/neu-положительными подтипами РМЖ используются моноклональные антитела к рецептору HER2 [63]. Однако примерно через год после окончания лечения большинство пациентов становятся невосприимчивыми к препарату моноклональных антител [64]. На клеточных линиях SK-BR-3 и BT-474 *in vitro* было показано, что экзосомы гиперэкспрессируют HER2 и способны селективно связываться с моноклональными антителами [64]. Аналогичные результаты были получены и для экзосом, выделенных из крови пролеченных пациентов [63]. Вероятно, экзосомы HER2-положительных подтипов РМЖ конкурентно ингибируют моноклональные антитела, снижая их терапевтический эффект. Дополнительно было показано, что устойчивость к анти-HER2-препаратам связана с повышенным уровнем трансформирующего ростового фактора β -1 (transforming growth factor β , TGF- β 1) и PD-L1 [2, 62]. Также выявлено, что при обработке клеточной линии MCF-7, не резистентной к гормональным препаратам, экзосомами подлиний MCF-7 с резистентностью к тамоксифену или метформину наивная линия MCF-7 также приобретает резистентность к соответствующим препаратам [65, 66]. Показано, что чувствительность наивной линии к метформину восстанавливается через несколько суток после прекращения обработки экзосомами [67].

БЕЛКИ ЭКЗОСОМ КРОВИ КАК МАРКЕРЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ЖИДКОЙ БИОПСИИ

Поскольку состав экзосом зависит от состава продуцирующих их клеток, эти везикулы являются перспективным объектом для поиска опухолевых маркеров и разработки тест-систем для жидкой биопсии. Преимуществом использования экзосом в качестве источника диагностического материала по сравнению с циркулирующими опухолевыми клетками является их высокая концентрация в биологических жидкостях: $\sim 10^8$ /мл крови и не более ~ 10 /мл крови соответственно [2, 4, 5]. На сегодняшний день в реестре ClinicalTrials.gov зарегистрированы 3 испытания систем диагностики РМЖ, основанных на белках экзосом, 2 из которых были начаты в январе 2023 г.

По данным ряда исследований, для опухолевых экзосом характерна повышенная концентрация белка Hsp70 [68]. Также в экзосомах крови больных РМЖ обнаруживаются фибронектин, Del-1 и альтернативно сплайсированный сурвивин [69], а содержание глипикана-1 в этих везикулах возрастает на 75 % по сравнению со здоровыми женщинами [2, 70].

Кроме того, на поверхности экзосом крови больных РМЖ всех подтипов выявлено снижение содержания CD82 по сравнению со здоровыми женщинами. Причем чем ниже содержание этого тетраспанина в экзосомах, тем выше метастатический потенциал опухоли [2, 71].

Несмотря на высокую гетерогенность белков экзосом как в норме, так и при патологии, можно выде-

лить белки, характерные лишь для одной из групп. В частности, из 257 идентифицированных в составе экзосом крови белков универсальными для здоровых женщин и больных РМЖ оказался лишь 21 (8,2 %) белок; уникальные для экзосом крови пациентов с РМЖ белки представлены в табл. 2 [2, 72, 73]. Также в ходе исследования О.С. Тутанова и соавт. [72] отмечено повышенное содержание тетраспанин-ассоциированной шеддазы ADAM-10 на поверхности экзосом крови больных РМЖ люминального подтипа.

В одной из последних работ показано, что в крови больных с трижды негативным РМЖ, а также в клетках, отражающих данный молекулярный подтип, повышается содержание CD151. Данный тетраспанин влияет на сортировку белков в ходе секреции экзосом, повышая количество прометастатических белков в этих везикулах. Показано, что CD151-положительные экзосомы повышают метастатический потенциал *in vitro* [74]. Также было выявлено, что в экзосомах активно метастазирующих опухолей увеличивается содержание периостина [75].

На данный момент известно, что на поверхности экзосом, обнаруживаемых в асцитной жидкости и крови больных РМЖ, присутствует рецептор CD24 и отсутствует рецептор EpCAM, при этом при инвазии опухоли в легкие на поверхности экзосом идентифицируются оба рецептора, что может быть использовано для раннего выявления инвазии [2, 76].

В ходе масштабного межлабораторного исследования, проведенного в 2020 г., А. Hoshino и соавт. [77] проанализировали 426 образцов экзосом из различных источников и выявили как новые специфические маркерные белки экзосом (ACTB, MSN, RAP1B), так и панели белков-маркеров в составе экзосом плазмы и в опухолевых тканях, полученных от больных РМЖ, колоректальным раком, меланомой, мезотелиомой, раком легкого и поджелудочной железы. С помощью метода машинного обучения обнаруженные опухолевые маркеры позволяют с чувствительностью 90 % и специфичностью 94 % дифференцировать норму и злокачественное заболевание [77].

Результаты вышеописанных и других перспективных протеомных исследований экзосом позволяют выделить ряд претендентов на роль белковых онкомаркеров в составе экзосом (см. табл. 2).

Мы оценили взаимосвязь экзосомальных белков, представленных в табл. 2, с помощью программного обеспечения STRING (рис. 3). Выявлено, что большинство проанализированных белков (67/75) взаимодействуют друг с другом, поскольку вовлечены в общие процессы.

Протеомные исследования экзосом позволяют увеличить набор белковых маркеров и выявить их комбинации, наиболее ценные с точки зрения диагностики. Однако для широкого применения в медицине необходимы обширные исследования, которые подтвердят диагностическую ценность новых маркеров на основе белков экзосом.

Таблица 2. Потенциальные протеомные маркеры злокачественных новообразований в составе экзосом крови больных раком молочной железы (РМЖ)

Table 2. Potential proteomic markers of malignant neoplasms in blood exosomes from patients with breast cancer

Белок Protein	Источник экзосом Exosome source	Ссылка Reference
CD82	98 больных РМЖ и 80 здоровых доноров 98 patients with breast cancer and 80 healthy donors	[71]
CD151	12 больных РМЖ и 12 здоровых доноров; клеточные линии BT5-49, MDA-MB-468, MDA-MB-231, T47-D, MCF-7 12 patients with breast cancer; BT5-49, MDA- MB-468, MDA-MB-231, T47-D, MCF-7 cell lines	[74]
CD24+ EpCAM	Первичные клеточные культуры больных РМЖ и здоровых доноров Primary cells lines from patients with breast cancer and healthy donors	[76]
HER2	Клеточные линии SK-BR-3 и BT-474 SK-BR-3 and BT-474 cell lines	[66]
OSF-2	Клеточные линии MCF-7 и MDA-MB-231, 67NR и 4T1 MCF-7 и MDA-MB-231, 67NR and 4T cell lines	[75]
HSP70, Del-1, FN1, альтернативно сплайсированный сурвивин HSP70, Del-1, FN1, alternatively spliced survivin	20 больных РМЖ и 14 здоровых доноров 20 patients with breast cancer and 14 healthy donors	[68, 69]
GPC1	Клеточные линии MDA-MB-231, MCF-10A MDA-MB-231, MCF-10A cell lines	[70]
IGHV3-74, C11orf97, TRBV4-3, SOCS3, PDZD2, SPTBN2, ERC2, COX7A2P2, SERPINB7, MBD4, PCNT, KRT6A, A1BG, KRT6B, KRT1, HMOX1, BMP1, PNLIP, KRT9, GLRB, CLK3, GATM, ELL2, UBA52, PPM1A, ATR, IL16, FAM50A, ITPR2, ITIH4, EXOSC7, SKIV2L, HAGH, TPD52L1, ZNF630, CCDC152, ZNF585B, RABGAP1L, PRAMEF9, DUPD1, PLB1, LPCAT2, MAEA, SSX9P, EPHX4, SKAP2L, CCDC146, C1orf131, SRARP, MYO3B, CACNG8, RUBCN, APPBP2, PHB2, TOR3A, PRDM12, COG4, MIEF1, FARSB, SACS, CABP1, ZNF451	23 больных РМЖ и 21 здоровый донор 23 patients with breast cancer and 21 healthy donors	[72]
FGB, FGA, FGG, CFH, PLG, IGHV3-53, APCS, CFHR1, IGHV3-48, CFHR2, IGHV4-59, IGHV3-11, IGHG3	18 больных РМЖ и 43 здоровых донора 18 patients with breast cancer and 43 healthy donors	[77]

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭКЗОСОМ

В большинстве исследований отмечается способность экзосом проявлять селективность к клеткам-мишеням [78, 79], что теоретически может быть использовано для разработки методов таргетной доставки препаратов для лечения различных заболеваний. На данный момент существуют методы прямого нацеливания экзосом на конкретные типы клеток путем добавления на поверхность везикул лигандов к рецепторам, экспрессируемых определенными клетками [6].

Также показана способность терапевтических экзосом воздействовать на различные типы рака, в частности на РМЖ [80], снижая пролиферацию и миграционный потенциал *in vitro*. Уже сейчас ряд исследований подтверждает возможность использования экзосом как терапевтических агентов при лечении трижды негативного РМЖ. В частности, было показано, что экзосомы, обогащенные MMP-15 и несущие доксорубин, способны таргетно воздействовать

на клетки трижды негативного РМЖ как *in vitro*, так и *in vivo* [81]. Аналогичный эффект был получен при использовании экзосом, обогащенных фолатом и имеющих в своем составе эрастин, который может вызывать ферроптоз в клетках РМЖ [82]. В обоих случаях данная терапия приводила к снижению скорости прогрессии опухоли [83, 84].

Доставка лекарственных препаратов путем их загрузки в экзосомы дает такое значимое преимущество, как адресность, и, как следствие, приводит к значительному снижению неспецифического воздействия на клетки. Однако существенными недостатками такого метода является сложность наполнения экзосом, а также быстрое выведение чужеродных экзосом из организма. К сожалению, авторы [80–84] не приводят информацию о длительности хранения и устойчивости экзосом, нагруженных лекарственными препаратами. Также в литературе недостаточно данных об иммуногенности этих везикул.

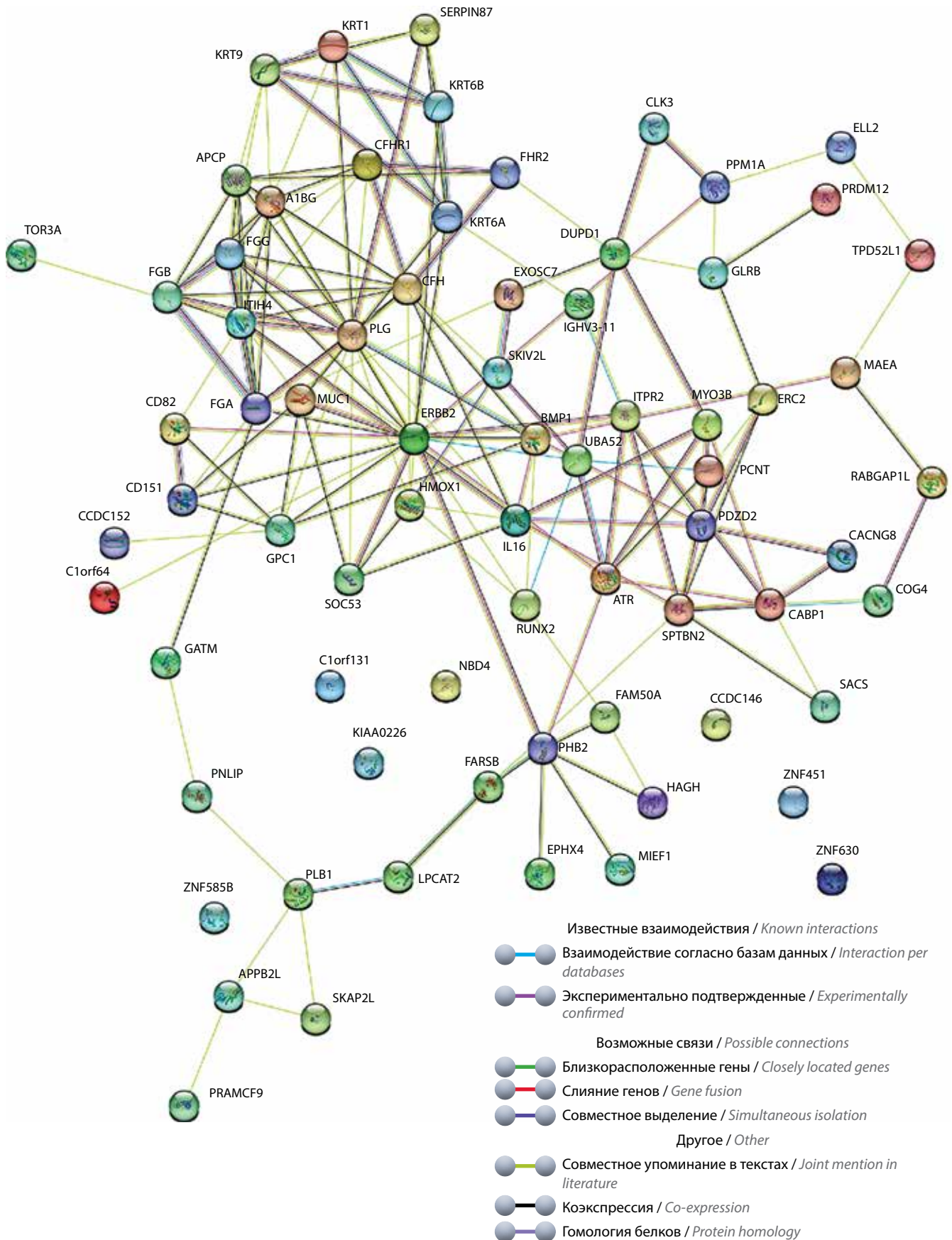


Рис. 3. Взаимосвязь экзосомальных белков – потенциальных маркеров рака молочной железы
 Fig. 3. Associations between exosomal proteins – potential markers of breast cancer

Для модификации экзосом с целью их последующего использования в доставке лекарственных препаратов применяют различные подходы. Одним из до сих пор актуальных методов нагрузки экзосом терапевтическим агентом является длительное культивирование клеток-продуцентов в среде, содержащей лекарственное средство. Эффективность такой технологии ограничена проницаемостью клеточных мембран, а также эффектом терапевтического препарата на клетки-продуценты [85].

Для создания экзосом заданного состава также была предложена технология EXOPLEX. Ее суть заключается в добавлении искусственных липосом, несущих необходимый терапевтический агент, к содержащей экзосомы среде; в результате слияния везикул формируются новые везикулы с гибридной мембраной, несущие лекарственный препарат. В экспериментах на мышах было показано, что полученные по технологии EXOPLEX везикулы способны циркулировать в крови значительно дольше экзогенных экзосом [86].

Еще одним наиболее используемым на сегодняшний день подходом получения везикул, содержащих лекарственный препарат, является внедрение трансгена в секретирующую экзосомы клетку, в результате чего можно получать экзосомы, несущие необходимые белки и РНК [87–89]. Следует отметить, что внедрение трансгена в клетку может изменять не только внутренний состав экзосомальной мембраны, но и композицию белков, экспрессируемых в ее составе. Благодаря этому в него могут включаться белки, нехарактерные для экзосомальной мембраны [90, 91]. Данный подход получил название «экзосомальный дисплей» и может быть использован как для отбора экзосом, несущих трансген, так и для более специфического нацеливания на клетки-мишени [85, 92].

Как уже было отмечено ранее, экзосомы играют большую роль во всех процессах развития опухоли, в том числе в формировании лекарственной устойчивости. Исследования, направленные на подавление вклада экзосом в опухолевые процессы, имеют 3 направления: 1) подавление секреции экзосом; 2) снижение эффективности поглощения экзосом клетками-реципиентами; 3) элиминация экзосом из биологических жидкостей [93].

Удаление экзосом из биологических жидкостей может происходить путем использования антител против характерных для экзосом тетраспанинов CD9 и CD63; также показана возможность удаления из циркуляции экзосом, несущих в своем составе TGF- β [94, 95]. Примером снижения эффективности поглощения экзосом клетками-реципиентами является использование антител против CD9 [96]. В работе Z. Wei и соавт. показано, что экзосомы с гиперэкспрессией CD47 не способны эффективно связываться с макрофагами и осуществлять воздействие на иммунную систему [97]. К сожалению, на данный момент в литературе отсутствует информация об эффективных способах снижения уровня секреции экзосом, что, по-видимому, связано с недостаточной изученностью механизмов секреции [98].

Таким образом, несмотря на большое число спекуляций в литературе, разработка векторной доставки лекарственных препаратов на основе экзосом до сих пор находится в зародышевом состоянии. Вероятно, это связано со сложностью разработки как продуцентов векторов, так и методов селективного отбора экзосом, несущих необходимый терапевтический агент. Активно развивающиеся молекулярно-биологические методы и повышенный интерес к экзосомам как новым терапевтическим агентам не оставляют сомнений в появлении в ближайшие 5 лет эффективных стратегий противоопухолевой терапии, увеличивающих качество и продолжительность жизни онкологических больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на эффективность инструментальных методов диагностики РМЖ, существует ряд ограничений в выявлении новообразования на I стадии и *in situ*, дифференциации доброкачественных и злокачественных новообразований, скрининге здоровых женщин и онкологических больных после курсов терапии. Одним из наиболее перспективных подходов к поиску маркеров РМЖ методами жидкой биопсии является анализ опухолевых белков, входящих в состав экзосом крови. Активно развивающиеся методы молекулярной биологии уже сегодня закладывают базу для создания новых методов снижения опухолевой диссеминации на молекулярном уровне.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Тамкович С.Н., Юнусова Н.В., Стахеева М.Н. Выделение и характеристика экзосом плазмы крови больных раком молочной железы и колоректальным раком. Биомедицинская химия 2017;165–9. DOI: 10.18097/PBMC20176302165
Tamkovich S.N., Yunusova N.V., Stakheeva M.N. Isolation and characterization of plasma exosomes of patients with breast cancer and colorectal cancer. Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry 2017;165–9. (In Russ.). DOI: 10.18097/PBMC20176302165
2. Шефер А.А. Экзосомы карциномы молочной железы: оценка опухолевого потенциала в системе *in vivo* и идентификация белков, вовлеченных в опухолевую диссеминацию. Выпускная квалификационная работа бакалавра. Новосибирск, 2022. 80 с.
Schaefer A.A. Exosomes of breast carcinoma: assessment of tumor potential in the *in vivo* system and identification of proteins involved in tumor dissemination. Bachelor's final qualifying work. Novosibirsk, 2022. 80 p. (In Russ.).

3. Théry C., Witwer K.W., Aikawa E. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles* 2018;7(1):1535750. DOI: 10.1080/20013078.2018.1535750
4. Kok V.C., Yu C.-C. Cancer-derived exosomes: their role in cancer biology and biomarker development. *Int J Nanomedicine* 2020;15:8019–36. DOI: 10.2147/IJN.S272378
5. Triantafyllou A., Gazouli M., Theodoropoulos C. et al. Exosomes in breast cancer management: where do we stand? A literature review. *Biol Cell* 2022;114(4):109–22. DOI: 10.1111/boc.202100081
6. Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer. *J Clin Invest* 2016;126(4):1208–15. DOI: 10.1172/JCI81135
7. Bebelman M., Smith M., Pegtel M. et al. Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Pharmacol Ther* 2018;188:1–11. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.02.013
8. Tenchov R., Sasso M.J., Wang X. et al. Exosomes – nature’s lipid nanoparticles, a rising star in drug delivery and diagnostics. *ACS Nano* 2022;16(11):17802–46. DOI: 10.1021/acsnano.2c08774
9. Huotari J., Helenius A. Endosome maturation. *EMBO J* 2011;30(17):3481–500. DOI: 10.1038/emboj.2011.286
10. Ren X., Hurley J.H. VHS domains of ESCRT-0 cooperate in high-avidity binding to polyubiquitinated cargo. *EMBO J* 2010;29(6):1045–54. DOI: 10.1038/emboj.2010.6
11. Wollert T., Yang D., Ren X. et al. The ESCRT machinery at a glance. *J Cell Sci* 2009;122(Pt. 13):2163–6. DOI: 10.1242/jcs.029884
12. Ostrowski M., Carmo B.N., Krumeich S. et al. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat Cell Biol* 2010;12(1):19–30. DOI: 10.1038/ncb2000
13. Wei D., Zhan W., Gao Y. et al. RAB31 marks and controls an ESCRT-independent exosome pathway. *Cell Res* 2021;31(7):157–77. DOI: 10.1038/s41422-020-00409-1
14. Trajkovich K., Hsu C., Chiantia S. et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science* 2008;319(5867):1244–7. DOI: 10.1126/science.1153124
15. Nonaka T., Wong D.T.W. Saliva-exosomes in cancer: molecular characterization of cancer-derived exosomes in saliva. *Enzymes* 2017;42:125–51. DOI: 10.1016/bs.enz.2017.08.002
16. Zhang J., Lui S.-C., Luo X.-H. et al. Exosomal long noncoding RNAs are differentially expressed in the cervicovaginal lavage samples of cervical cancer patients. *J Clin Lab Anal* 2016;30(6):1116–21. DOI: 10.1002/jcla.21990
17. Tamkovich S.N., Tutanov O.S., Laktionov P.P. Exosomes: generation, structure, transport, biological activity, and diagnostic application. *Biochem Suppl Ser A Membr Cell Biol* 2016;10(3):163–73. DOI: 10.1134/S1990747816020112
18. Григорьева А.Е., Тамкович С.Н., Еремина А.В. и др. Экзосомы слезной жидкости здоровых людей: выделение, идентификация и характеристика. *Биомедицинская химия* 2016;62(1):99–106. Grigorieva A.E., Tamkovich S.N., Eremina A.V. et al. Exosomes of lacrimal fluid of healthy people: isolation, identification and characterization. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry* 2016;62(1):99–106. (In Russ.).
19. Kim K.-U., Kim W.-H., Jeong C.-H. et al. More than nutrition: therapeutic potential of breast milk-derived exosomes in cancer. *Int J Mol Sci* 2020;21(19):7327. DOI: 10.3390/ijms21197327
20. Dong X., Bai X., Ni J. et al. Exosomes and breast cancer drug resistance. *Cell Death Dis* 2020;11(11):987. DOI: 10.1038/s41419-020-03189-z
21. Tamkovich S., Tutanov O., Efimenko A. et al. Blood circulating exosomes contain distinguishable fractions of free and cell-surface-associated vesicles. *Curr Mol Med* 2019;19(4):273–85. DOI: 10.2174/1566524019666190314120532
22. Bonifácio V.D.B. Ovarian cancer biomarkers: moving forward in early detection. *Adv Exp Med Biol* 2020;1219:355–63. DOI: 10.1007/978-3-030-34025-4_18
23. Kuang Y., Peng C., Dong Y. et al. NADH dehydrogenase subunit 1/4/5 promotes survival of acute myeloid leukemia by mediating specific oxidative phosphorylation. *Mol Med Rep* 2022;25(6):195. DOI: 10.3892/mmr.2022.12711
24. Justo B.L., Jasiulionis M.G. Characteristics of TIMP1, CD63, and β 1-integrin and the functional impact of their interaction in cancer. *Int J Mol Sci* 2021;22(17):9319. DOI: 10.3390/ijms22179319
25. Qin Y., Shembrey C., Smith J. et al. Laminin 521 enhances self-renewal *via* STAT3 activation and promotes tumor progression in colorectal cancer. *Cancer Letters* 2020;476:161–9. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.02.026
26. Zhang T., Sun L., Hao Y. et al. ENO1 suppresses cancer cell ferroptosis by degrading the mRNA of iron regulatory protein 1. *Nat Cancer* 2022;3(1):75–89. DOI: 10.1038/s43018-021-00299-1
27. Hong J., Guo F., Lu S.-Y. et al. *F. nucleatum* targets lncRNA ENO1-IT1 to promote glycolysis and oncogenesis in colorectal cancer. *Gut* 2021;70(11):2123–37. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322780
28. Li H.-J., Ke F.-Y., Lin C.-C. et al. ENO1 promotes lung cancer metastasis via HGFR and WNT signaling-driven epithelial-to-mesenchymal transition. *Cancer Res* 2021;81(15):4094–09. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-3543
29. Park M.K., Zhang L., Min K.-W. et al. NEAT1 is essential for metabolic changes that promote breast cancer growth and metastasis. *Cell Metab* 2021;33(12):2380–97. DOI: 10.1016/j.cmet.2021.11.011
30. Lan Z., Yao X., Sun K. et al. The Interaction between lncRNA SNHG6 and hnRNPA1 contributes to the growth of colorectal cancer by enhancing aerobic glycolysis through the regulation of alternative splicing of PKM. *Front Oncol* 2020;10:363. DOI: 10.3389/fonc.2020.00363
31. Nie H., Ju H., Fan J. et al. O-GlcNAcylation of PGK1 coordinates glycolysis and TCA cycle to promote tumor growth. *Nat Commun* 2020;11(1):36. DOI: 10.1038/s41467-019-13601-8
32. Huang C., Shen Q., Song G. et al. Downregulation of PARVA promotes metastasis by modulating integrin-linked kinase activity and regulating MAPK/ERK and MLC2 signaling in prostate cancer. *Transl Androl Urol* 2021;10(2):915–28. DOI: 10.21037/tau-21-108
33. Tong X.-Y., Yang X.-Z., Gao S.-Q. et al. Regulating effect of cytochrome b5 overexpression on human breast cancer cells. *Molecules* 2022;27(14):4556. DOI: 10.3390/molecules27144556
34. Laulagnier K., Motta C., Hamdi S. et al. Mast cell- and dendritic cell-derived exosomes display a specific lipid composition and an unusual membrane organization. *Biochem J* 2004;380(Pt. 1):161–71. DOI: 10.1042/BJ20031594
35. Choi D.-S., Kim D.-K., Kim Y.-K. et al. Proteomics, transcriptomics and lipidomics of exosomes and ectosomes. *Proteomics* 2013;13(10–11):1554–71. DOI: 10.1002/pmic.201200329
36. Llorente A., Skotland T., Sylvänne T. et al. Molecular lipidomics of exosomes released by PC-3 prostate cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 2013;1831(7):1302–9. DOI: 10.1016/j.bbali.2013.04.011
37. Carayon K., Chaoui K., Ronzier E. et al. Proteolipidic composition of exosomes changes during reticulocyte maturation. *J Biol Chem* 2011;286(39):34426–39. DOI: 10.1074/jbc.M111.257444
38. Beloribi S., Ristorcelli E., Breuzard G. et al. Exosomal lipids impact notch signaling and induce death of human pancreatic tumoral SOJ-6 cells. *PLoS One* 2012;7(10):e47480. DOI: 10.1371/journal.pone.0047480
39. Wang G., Dinkins M., He Q. et al. Astrocytes secrete exosomes enriched with proapoptotic ceramide and prostate apoptosis response 4 (PAR-4): potential mechanism of apoptosis induction in Alzheimer disease (AD). *J Biol Chem* 2012;287(25):21384–95. DOI: 10.1074/jbc.M112.340513
40. Rak J. Microparticles in cancer. *Semin Thromb Hemost* 2010;36(8):888–906. DOI: 10.1055/s-0030-1267043
41. Balaj L., Lessard R., Cho Y.-J. et al. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences. *Nat Commun* 2011;2:180. DOI: 10.1038/ncomms1180
42. Tutanov O., Shtam T., Tupkin A. et al. Blood plasma exosomes contain circulating DNA in their crown. *Diagnostics (Basel)* 2022;12(4):854. DOI: 10.3390/diagnostics12040854

43. Xie Y., Dang W., Zhang S. et al. The role of exosomal noncoding RNAs in cancer. *Mol Cancer* 2019;18(1):37. DOI: 10.1186/s12943-019-0984-4
44. Eldh M., Ekstrom K., Valadi H. et al. Exosomes communicate protective messages during oxidative stress; possible role of exosomal shuttle RNA. *PLoS One* 2010;5(12):e15353. DOI: 10.1371/journal.pone.0015353
45. O'Brien K., Rani S., Corcoran C. et al. Exosomes from triple-negative breast cancer cells can transfer phenotypic traits representing their cells of origin to secondary cells. *Eur J Cancer* 2013;49(8):1845–59. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.01.017
46. Ding G., Zhou L., Qian Y. et al. Pancreatic cancer-derived exosomes transfer miRNAs to dendritic cells and inhibit RFXAP expression via miR-212-3p. *Oncotarget* 2015;6(30):29877–88. DOI: 10.18632/oncotarget.4924
47. Ying X., Wu Q., Wu X. et al. Epithelial ovarian cancer-secreted exosomal miR-222-3p induces polarization of tumor-associated macrophages. *Oncotarget* 2016;7(28):43076–87. DOI: 10.18632/oncotarget.9246
48. Hood J.L., San R.S., Wickline S.A. Exosomes released by melanoma cells prepare sentinel lymph nodes for tumor metastasis. *Cancer Res* 2011;71(11):3792–801. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4455
49. Бейерли О.А., Гареев И.Ф., Павлов В.Н. Экзосомальные длинные некодирующие РНК как биомаркеры и терапевтические мишени при раке. *Креативная хирургия и онкология* 2019;9(4):297–304. DOI: 10.24060/2076-3093-2019-9-4-297-304
50. Bayerli O.A., Gareev I.F., Pavlov V.N. Exosomal long non-coding RNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer. *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya = Creative Surgery and Oncology* 2019;9(4):297–304. (In Russ.). DOI: 10.24060/2076-3093-2019-9-4-297-304
51. Harris D.A., Patel S.H., Gucek M. et al. Exosomes released from breast cancer carcinomas stimulate cell movement. *PLoS One* 2015;10(3):e0117495. DOI: 10.1371/journal.pone.0117495
52. Boucheix C., Duc G.H., Jasmin C. et al. Tetraspanins and malignancy. *Expert Rev Mol Med* 2001;2001:1–17. DOI: 10.1017/S1462399401002381
53. Li K., Liu T., Chen J. et al. Survivin in breast cancer-derived exosomes activates fibroblasts by up-regulating SOD1, whose feedback promotes cancer proliferation and metastasis. *J Biol Chem* 2020;295(40):13737–52. DOI: 10.1074/jbc.RA120.013805
54. Katoh M., Katoh M. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation (Review). *Int J Mol Med* 2020;45(2):279–97. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4418
55. Yuan X., Qian N., Ling S. et al. Breast cancer exosomes contribute to pre-metastatic niche formation and promote bone metastasis of tumor cells. *Theranostics* 2021;11(3):1429–45. DOI: 10.7150/thno.45351
56. Patwardhan S., Mahadik P., Shetty O. et al. ECM stiffness-tuned exosomes drive breast cancer motility through thrombospondin-1. *Biomaterials* 2021;279:121185. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121185
57. Jordan K.R., Hall J.K., Schedin T. et al. Extracellular vesicles from young women's breast cancer patients drive increased invasion of non-malignant cells via the focal adhesion kinase pathway: a proteomic approach. *Breast Cancer Res* 2020;22(1):128. DOI: 10.1186/s13058-020-01363-x
58. Самсонов Р.Б., Коваленко И.М., Васильев Д.А. Стимуляция метастатической активности клеток рака молочной железы экзосомами плазмы. *Российский биотерапевтический журнал* 2016;15(2):6–15. DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-2-6-15
59. Samsonov R.B., Kovalenko I.M., Vasiliev D.A. Stimulation of metastatic activity of breast cancer cells by plasma exosomes. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal* 2016;15(2):6–15. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-2-6-15
60. Ham S., Lima L.G., Chai E.P.Z. et al. Breast cancer-derived exosomes alter macrophage polarization via gp130/STAT3 signaling. *Front Immunol* 2018;9:871. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00871
61. Mengos A.E., Gastineau D.A., Gustafson M.P. The CD14+HLA-DRlo/neg monocyte: an immunosuppressive phenotype that restrains responses to cancer immunotherapy. *Front Immunol* 2019;10:1147. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01147
62. Contini P., Ghio M., Merlo A. et al. Apoptosis of antigen-specific T lymphocytes upon the engagement of CD8 by soluble HLA class I molecules is fas ligand/fas mediated: evidence for the involvement of p56 lck, calcium calmodulin kinase II, and calcium-independent protein kinase C signaling pathways and for NF-κB and NF-AT nuclear translocation. *J Immunol* 2005;175(11):7244–54. DOI: 10.4049/jimmunol.175.11.7244
63. Tian X., Shen H., Li Z. et al. Tumor-derived exosomes, myeloid-derived suppressor cells, and tumor microenvironment. *J Hematol Oncol* 2019;12(1):84. DOI: 10.1186/s13045-019-0772-z
64. Farhood B., Najafi M., Mortezaee K. CD8+ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: a review. *J Cell Physiol* 2019;234(6):8509–21. DOI: 10.1002/jcp.27782
65. Cameron D., Piccart-Gebhart M.J., Gelber R.D. et al. 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *Lancet* 2017;389(10075):1195–205. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32616-2
66. Ciravolo V., Huber V., Ghedini G.C. et al. Potential role of HER2-overexpressing exosomes in countering trastuzumab-based therapy. *J Cell Physiol* 2012;227(2):658–67. DOI: 10.1002/jcp.22773
67. Semina S.E., Scherbakov A.M., Vnukova A.A. et al. Exosome-mediated transfer of cancer cell resistance to antiestrogen drugs. *Molecules* 2018;23(4):829. DOI: 10.3390/molecules23040829
68. Andreeva O.E., Sorokin D.V., Mikhaevich E.I. et al. Towards unravelling the role of ERα-targeting miRNAs in the exosome-mediated transferring of the hormone resistance. *Molecules* 2021;26(21):6661. DOI: 10.3390/molecules26216661
69. Семина С.Е., Руденская Е.А., Миттенберг А.Г. и др. Экзосомы и развитие резистентности опухолевых клеток к метформину: пилотное исследование. *Успехи молекулярной онкологии* 2017;4(3):92–8. DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-3-92-98
70. Semina S.E., Rudenskaya E.A., Mittenberg A.G. et al. Exosomes and development of cancer cell resistance to metformin: pilot study. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2017;4(3):92–8. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-3-92-98
71. Chanteloup G., Cordonnier M., Isambert N. et al. Monitoring HSP70 exosomes in cancer patients' follow up: a clinical prospective pilot study. *J Extracell Vesicles* 2020;9(1):1766192. DOI: 10.1080/20013078.2020.1766192
72. Melo S.A., Luecke L.B., Kahlert C. et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. *Nature* 2015;523(7559):177–82. DOI: 10.1038/nature14581
73. Wang X., Zhong W., Bu J. et al. Exosomal protein CD82 as a diagnostic biomarker for precision medicine for breast cancer. *Mol Carcinog* 2019;58(5):674–85. DOI: 10.1002/mc.22960
74. Tutanov O., Orlova E., Proskura K. et al. Proteomic analysis of blood exosomes from healthy females and breast cancer patients reveals an association between different exosomal bioactivity on non-tumorigenic epithelial cell and breast cancer cell migration *in vitro*. *Biomolecules* 2020;10(4):495. DOI: 10.3390/biom10040495
75. Тутанов О.С., Бакакина Ю.С., Проскура К.В. и др. Поиск протеомных маркеров рака молочной железы в составе суммарных экзосом крови. *Сибирский онкологический журнал* 2020;19(2):49–61. DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-2-49-61
76. Tumanov O.S., Bakakina Yu.S., Proskura K.V. et al. Search for proteomic markers of breast cancer in the composition of total blood exosomes. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal = Siberian Journal of Oncology* 2020;19(2):49–61. DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-2-49-61
77. Sipeng L., Xinya L., Hao P. et al. Proteomic landscape of exosomes reveals the functional contributions of CD151 in triple-negative breast cancer. *Mol Cell Proteomics* 2021;20:100121. DOI: 10.1074/mcp.2021.100121

74. Vardaki I., Ceder S., Rutishauser D. et al. Periostin is identified as a putative metastatic marker in breast cancer-derived exosomes. *Oncotarget* 2016;7(46):74966–78. DOI: 10.18632/oncotarget.11663
75. Rupp A.-K., Rupp C., Keller S. et al. Loss of EpCAM expression in breast cancer derived serum exosomes: Role of proteolytic cleavage. *Gynecol Oncol* 2011;122(2):437–46. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.04.035
76. Hoshino A., Kim S.H., Bojman L. et al. Extracellular vesicle and particle biomarkers define multiple human cancers. *Cell* 2020;182(4):1044–61.e18. DOI: 10.1016/j.cell.2020.07.009
77. Toth B., Nieuwland R., Liebhardt S. et al. Circulating microparticles in breast cancer patients: a comparative analysis with established biomarkers. *Anticancer Res* 2008;28(2A):1107–12.
78. Sancho-Albero M., Navascues N., Mendoza G. et al. Exosome origin determines cell targeting and the transfer of therapeutic nanoparticles towards target cells. *J Nanobiotecnol* 2019;7(1):16. DOI: 10.1186/s12951-018-0437-z
79. Hazan-Halevy I., Rosenblum D., Weinstein S. et al. Cell-specific uptake of mantle cell lymphoma derived exosomes by malignant and non-malignant B-lymphocytes. *Cancer Lett* 2015;364(1):59–69. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.04.026
80. Yue S., Ye X., Zhou T. et al. PGRN-/- TAMs-derived exosomes inhibit breast cancer cell invasion and migration and its mechanism exploration. *Life Sci* 2021;264:118687. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118687
81. Gong C., Tian J., Wang Z. et al. Functional exosome-mediated co-delivery of doxorubicin and hydrophobically modified microRNA 159 for triple-negative breast cancer therapy. *J Nanobiotechnology* 2019;17(1):93. DOI: 10.1186/s12951-019-0526-7
82. Yu M., Gai C., Li Z. et al. Targeted exosome-encapsulated erastin induced ferroptosis in triple negative breast cancer cells. *Cancer Sci* 2019;110(10):3173–82. DOI: 10.1111/cas.14181
83. Weaver W. J., Zhang J., Rojas J. et al. The application of exosomes in the treatment of triple-negative breast cancer. *Front Mol Biosci* 2022;9:1022725. DOI: 10.3389/fmolb.2022.1022725
84. Vakhshiteh F., Atiyabi F., Ostad N.S. Mesenchymal stem cell exosomes: a two-edged sword in cancer therapy. *Int J Nanomedicine* 2019;14:2847–59. DOI: 10.2147/IJN.S200036
85. Goh J.W., Zou S., Lee K.C. et al. EXOPLEXs: chimeric drug delivery platform from the fusion of cell-derived nanovesicles and liposomes. *Biomacromolecules* 2018;19(1):22–30. DOI: 10.1021/acs.biomac.7b01176
86. Katakowski M., Buller B., Zheng X. et al. Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth. *Cancer Lett* 2013;335(1):201–4. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.019
87. Bolukbasi F.M., Mizrak A., Ozdener B.G. et al. miR-1289 and “Zipcode”-like sequence enrich mRNAs in microvesicles. *Mol Ther Nucleic Acids* 2012;1(2):e10. DOI: 10.1038/mtna.2011.2
88. Riazifar M., Pone J.E., Lotvall J. et al. Stem cell extracellular vesicles: extended messages of regeneration. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2017;57:125–54. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-061616-030146
89. Tian Y., Li S., Song J. et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy. *Biomaterials* 2014;11(3):2383–90. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.083
90. Naseri Z., Oskuee K.R., Jaafari R.M. et al. Exosome-mediated delivery of functionally active miRNA-142-3p inhibitor reduces tumorigenicity of breast cancer in vitro and in vivo. *Int J Nanomedicine* 2018;13:7727–47. DOI: 10.2147/IJN.S182384
91. Hung E.M., Leonard N.J. Stabilization of exosome-targeting peptides via engineered glycosylation. *J Biol Chem* 2015;290(13):8166–72. DOI: 10.1074/jbc.M114.621383
92. Kosaka N., Yoshioka Y., Tominaga N. et al. Dark side of the exosome: the role of the exosome in cancer metastasis and targeting the exosome as a strategy for cancer therapy. *Future Oncol* 2014;10(4):671–81. DOI: 10.2217/fon.13.222
93. Nishida-Aoki N., Tominaga N., Takeshita F. et al. Disruption of circulating extracellular vesicles as a novel therapeutic strategy against cancer metastasis. *Mol Ther* 2017;25(1):181–91. DOI: 10.1016/j.ymt.2016.10.009
94. Baglio R.S., Langerweij T., Perez-Lanzon M. et al. Blocking tumor-educated MSC paracrine activity halts osteosarcoma progression. *Clin Cancer Res* 2017;23(14):3721–33. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2726
95. Santos M.F., Rappa G., Karbanova J. et al. Anti-human CD9 antibody Fab fragment impairs the internalization of extracellular vesicles and the nuclear transfer of their cargo proteins. *J Cell Mol Med* 2019;23(6):4408–21. DOI: 10.1111/jcmm.14334
96. Wei Z., Chen Z., Zhao Y. et al. Mononuclear phagocyte system blockade using extracellular vesicles modified with CD47 on membrane surface for myocardial infarction reperfusion injury treatment. *Biomaterials* 2021;275:121000. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121000
97. Tominaga N. Anti-cancer role and therapeutic potential of extracellular vesicles. *Cancers (Basel)* 2021;13(24):6303. DOI: 10.3390/cancers13246303
98. Roma-Rodriguez C., Fernandes A.R., Baptista P.V. Exosome in tumour microenvironment: overview of the crosstalk between normal and cancer cells. *Biomed Res Int* 2014;2014:179486. DOI: 10.1155/2014/179486
99. Alimirzaie S., Bagherzadeh M., Akbari M.R. Liquid biopsy in breast cancer: a comprehensive review. *Clin Genet* 2019;95(6):643–60. DOI: 10.1111/cge.13514

Вклад авторов

С.Н. Тамкович: обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи, редактирование;

А.А. Шефер: обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи, редактирование;

Я.А. Фрик: обзор публикаций по теме статьи, редактирование.

Authors' contribution

S.N. Tamkovich: review of publications on the topic of the article, article writing, editing;

A.A. Shefer: review of publications on the topic of the article, article writing, editing;

Ya.A. Frick: review of publications on the topic of the article, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Шефер / A.A. Shefer: <https://orcid.org/0000-0001-5369-397X>

С.Н. Тамкович / S.N. Tamkovich: <https://orcid.org/0000-0001-7774-943X>

Я.А. Фрик / Ya.A. Frick: <https://orcid.org/0000-0003-0390-6580>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта базового бюджетного финансирования Минобрнауки России № 121030200173-6 «Диагностика и терапия онкологических заболеваний».

Funding. The study was supported by the Russian state budget project via the Ministry of Education and Science of Russia No. 121030200173-6 “Diagnostics and therapy of oncological diseases”.

Статья поступила: 13.02.2023. **Принята к публикации:** 06.03.2023.

Article submitted: 13.02.2023. **Accepted for publication:** 06.03.2023.