



**TURUN  
YLIOPISTO**

## **Solunulkoisten vesikkelien rooli syövässä**

LuK-tutkielma  
Turun yliopisto  
Bioteknologian laitos  
Biokemia

Laatija:  
Eeva Hituri

22.5.2025  
Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu  
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidaatintutkielma

**Oppiaine:** Biokemia

**Tekijä:** Eeva Hitori

**Otsikko:** Solunulkoisten vesikkelien rooli syövässä

**Ohjaaja:** Dosentti Pekka Rappu

**Sivumäärä:** 15 sivua

**Päivämäärä:** 22.5.2025

Solunulkoiset vesikkelit ovat pieniä, kaikista solutyypeistä erittyviä partikkeleita, jotka ovat tärkeitä solujen välisessä viestinnässä. Solunulkoisiksi vesikkeleiksi luetaan yleensä mikrovesikkelit sekä eksosomit, jotka eroavat toisistaan pääasiassa muodostumistavoiltaan ja rakenteeltaan. Vesikkelit kulkeutuvat toisten solujen sisälle ja täten toimivat kuljettajina esimerkiksi erilaisille proteiineille ja vaikuttavat solujen toimintaan. Tutkielmassa tarkoituksena on käsitellä solunulkoisia vesikkeleitä syövän näkökulmasta, ja kuvata niiden vaikutuksia syöpäsoluille. Vesikkelit vaikuttavat solujen leviämiseen ja kehitykseen, ja täten ne ovat merkittäviä syöpätutkimuksen kannalta. Vesikkelien toimintaa muokkaamalla, esimerkiksi estämällä niiden pääsyä kohdesolujen sisälle voidaan vesikkeleitä mahdollisesti käyttää terapeuttisina kohteina syövän hoidossa. Myös syöpäsolujen sisältä peräisin olevia proteiineja määrittäessä voidaan vesikkeleistä hyötyä biomarkkereina syövän tunnistamisessa.

**Avainsanat:** vesikkeli, solu, syöpä, proteiini

## **Sisällysluettelo**

<b>1</b>	<b>Johdanto</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Solunulkoiset vesikkelit</b>	<b>6</b>
2.1	Vesikkelien muodostuminen	6
2.2	Vesikkelien rakenne	7
2.3	Vaikutus solujen toimintaan	9
<b>3</b>	<b>Syöpäsolut ja solunulkoiset vesikkelit</b>	<b>11</b>
3.1	Vesikkelit ja syöpäsolujen kehittyminen	11
3.2	Vesikkelien vaikutus syöpäsolujen selviytymiseen	12
3.3	Vesikkelien vaikutus syöpäsolujen leviämiseen	13
<b>4</b>	<b>Solunulkoiset vesikkelit biomarkkereina ja terapeuttisina kohteina</b>	<b>15</b>
4.1	Vesikkelit biomarkkereina syövälle	15
4.2	Vesikkelit terapeuttisina kohteina	16
<b>5</b>	<b>Yhteenveto</b>	<b>18</b>
	<b>Lähteet</b>	<b>19</b>

# 1 Johdanto

Solunulkoiset vesikkelit ovat kaikkien solujen niiden ulkopuoliseen ympäristöön muodostamia partikkeleita (van Niel ja muut 2018). Vesikkelit sisältävät monipuolisesti solumateriaa, kuten lipidejä, proteiineja sekä nukleiinihappoja. Vesikkelien kaksi pääluokkaa, mikrovesikkelit ja eksosomit, erotetaan toisistaan pääasiassa eriävien muodostumistapojensa vuoksi. Lisäksi mikrovesikkelit ja eksosomit eroavat hieman kooltaan sekä sisällöltään. Kansainvälisen solunulkoisia vesikkeleitä tutkivan yhteisön (International Society for Extracellular Vesicles) mukaan vesikkelit ovat virallisesti luonnollisesti soluista erittyviä lipidikerroksen rajaamia partikkeleita, jotka eivät kykene kopioitumaan (Théry ja muut 2018).

Solunulkoisia vesikkeleitä tutkittiin todennäköisesti ensimmäistä kertaa vuonna 1967, jolloin niitä havaittiin ihmisen plasman koostumusta tutkittaessa (Wolf 1967; Chang ja muut 2021). Tutkimuksessa havaittiin sentrifugoinnin tuloksena erottuvan solumateriaa sisältävää verihutalepölyksi (engl. platelet dust) kutsuttua ainesta, jota vasta myöhemmissä tutkimuksissa alettiin kuvaamaan solunulkoisiksi vesikkeleiksi. Solunulkoisten vesikkelien ajateltiin aikaisemmin esimerkiksi olevan solujen tapa poistaa soluista tarpeettomia partikkeleita, mutta nykyään näiden merkitys solujen välisessä kommunikaatiossa ja solujen toiminnassa on laajasti tunnistettu (Hessvik ja Llorente 2018).

Mikrovesikkeleitä on tutkimuksissa havaittu löytyvän parhaiten verisoluista, ja pääasiassa onkin tutkittu niiden vaikutusta veren hyytymiseen (van Niel ja muut 2018; György ja muut 2011). Myöhemmin kuitenkin on löydetty myös näiden vaikutus solujen välisessä kommunikaatiossa, kuten myös eksosomien vaikutus kommunikaatiolle. Eksosomit mikrovesikkelien sijaan ovat useimmiten parhaiten löydettävissä immuunijärjestelmän soluista sekä kasvainsoluista. Vasta kymmeniä vuosia ensimmäisten solunulkoisia vesikkeleitä käsittelevien tutkimusten jälkeen saatiin selville näiden yhteys ja merkitys syöpäsoluille (Chang ja muut 2021). Vesikkelien on todistettu vaikuttavan syövän eri vaiheisiin, kuten solujen kehitykseen, leviämiseen, selviytymiseen sekä jopa hoidon tehokkuuteen. Vesikkeleitä pidetään potentiaalisina myös syövän hoidossa käytettäviksi, esimerkiksi lääkkeiden tarkempaan kohdistamiseen (Antonyak ja muut 2011; Chang ja muut 2021). Vesikkelien tutkimuksen tueksi on perustettu myös oma sivusto, ExoCarta, jonne on koottu eri tutkimuksissa eksosomeista löytyneet proteiinit, RNA sekä lipidit (Keerthikumar ja muut 2016).

Tutkielmassa tarkoituksena on käsitellä taustatietoa solunulkoisten vesikkelien muodostumisesta, rakenteesta sekä merkityksestä soluille. Tämän lisäksi päätarkoituksena on

selvittää, kuinka solunulkoiset vesikkelit vaikuttavat syöpäsolujen toimintaan. Syöpäsolujen toiminnasta käsitellään erityisesti syöpäsolujen kehitystä sekä metastaasia solujen välisen kommunikaation näkökulmasta. Tutkielmassa käsitellään hieman myös solunulkoisten vesikkeliin mahdollisuuksia syövän tunnistamisessa sekä hoidossa, mutta näillä on tutkielmassa pienempi painoarvo.

## 2 Solunulkoiset vesikkelit

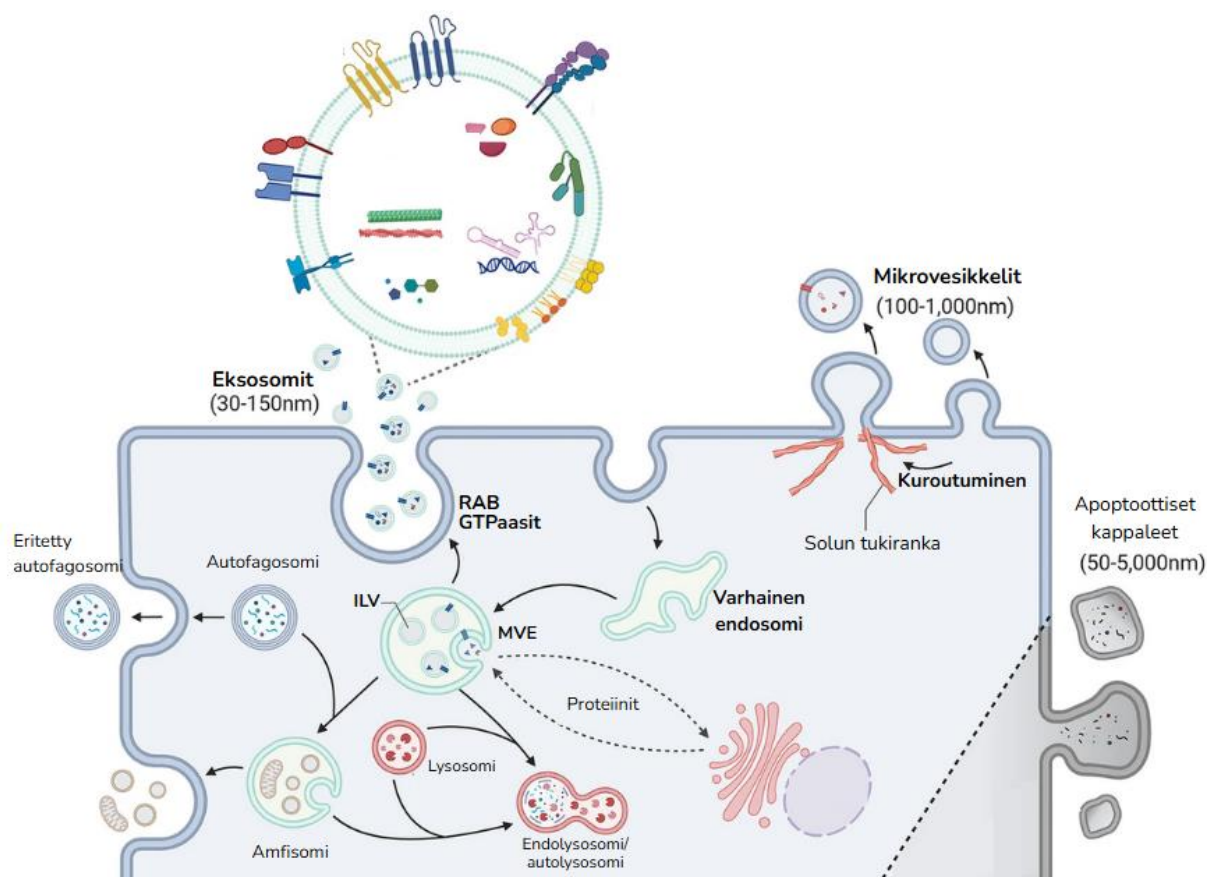
### 2.1 Vesikkelien muodostuminen

Solunulkoiset vesikkelit jaetaan kahteen eri pääluokkaan, mikrovesikkeleihin ja eksosomeihin, jotka vapautuvat solunulkoiseen tilaan eri tavoin (Chang ja muut 2021). Solunulkoisiin vesikkeleihin saatetaan joskus luokitella myös apoptoottisten solujen erittämät vesikkelit, mutta pääasiassa solunulkoisista vesikkeleistä puhuttaessa vesikkelit jaotellaan mikrovesikkeleihin ja eksosomeihin (Gurung ja muut 2021; Chang ja muut 2021). Mikrovesikkelit kuroutuvat suoraan solukalvosta, kun taas eksosomit muodostuvat monimutkaisempaa reittiä, multivesikulaaristen endosomien (multivesicular endosomes, MVEs) avulla. Vesikkelien muodostuminen ei kuitenkaan ole täysin yksiselitteistä, ja esimerkiksi joissakin tutkimuksissa on havaittu, että esimerkiksi jotkin T-solut kykenevät vapauttamaan eksosomeja myös eri reittiä, erityisten endosomin kaltaisten rakenteiden kautta (Booth ja muut 2006). Oheisessa kuvassa on esitetty eksosomien sekä mikrovesikkelien muodostumistavat (kuva 1).

Eksosomien muodostuessa solun sisällä valmistuu ensin endosytoosilla endosomeiksi kutsuttuja partikkeleita, joista muodostuu multivesikulaarisia endosomeja. (Harding ja muut 1983; Johnstone ja muut 1987; Jeppesen ja muut 2019) Eksosomit erittyvät multivesikulaarisista endosomeista solun ulkopuolelle endosomien fuusioituessa solukalvon kanssa. Solun sisällä olevien multivesikulaaristen partikkeleiden sisällä olevia vesikkeleitä kutsutaan intraluminaalisiksi vesikkeleiksi (Intraluminal vesicle, ILV), kunnes vasta fuusioitumisen jälkeen solun ulkopuolelle päätyessään näitä kutsutaan eksosomeiksi (Chang ja muut 2021). Multivesikulaaristen endosomien muodostumisessa ja täten eksosomien muodostumisessa tärkeitä säätelijöitä ovat esimerkiksi eri ESCRT-kompleksit (Endosomal sorting complex required for transport) (Katzmann ja muut 2001; Babst ja muut 2002). Eksosomien muodostumista säätelevät ja kontrolloivat myös Rab-ryhmän proteiinit, erityisesti Rab27a- sekä Rab27b-proteiini (Ostrowski ja muut 2010). Rab-proteiinien ei kuitenkaan ole havaittu vaikuttavan vesikkelien sisältöön tai koostumukseen, vaan erityisesti erittyvien eksosomien määrään.

Mikrovesikkelit muodostuvat kuroutumalla suoraan solukalvosta (Poste ja Nicolson 1980; van Niel ja muut 2018). Mikrovesikkelien muodostuessa solut vapauttavat ne solunulkoiseen ympäristöön solukalvon fission seurauksena. Mikrovesikkelien kuroutumiseksi solun sisältä on kuljetettava proteiinit sekä muu vesikkelien sisältämä materiaali solukalvolle, jossa tapahtuu solukalvon lipidien uudelleenjärjestäytyminen (Tricarico ja muut 2016).

Solukalvolla toimii myös todennäköisesti jonkinlainen erityinen järjestelmä, jonka avulla mikrovesikkelit saadaan niin kutsutusti puristettua solunulkoiseen tilaan.



Kuva 1. Mikrovesikkelien sekä eksosomien muodostumisreitit solusta. Sinertävä kuvio kuvaa solua, josta vesikkelit erittyvät. Eksosomien erittyminen kuvattu multivesikulaaristen endosomien (MVE) kautta, joiden sisällä intraluminaalisia vesikkeleitä (ILV). Mikrovesikkelien muodostuminen on kuvattu solukalvosta kuroutumalla. Kuvassa lisäksi muita samankaltaisesti soluista erittyviä partikkeleita, joita ei lueta solunulkoisiksi vesikkeleiksi. Kuva muokattu julkaisusta (Lee ja muut 2024). Kuvan lisenssi: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

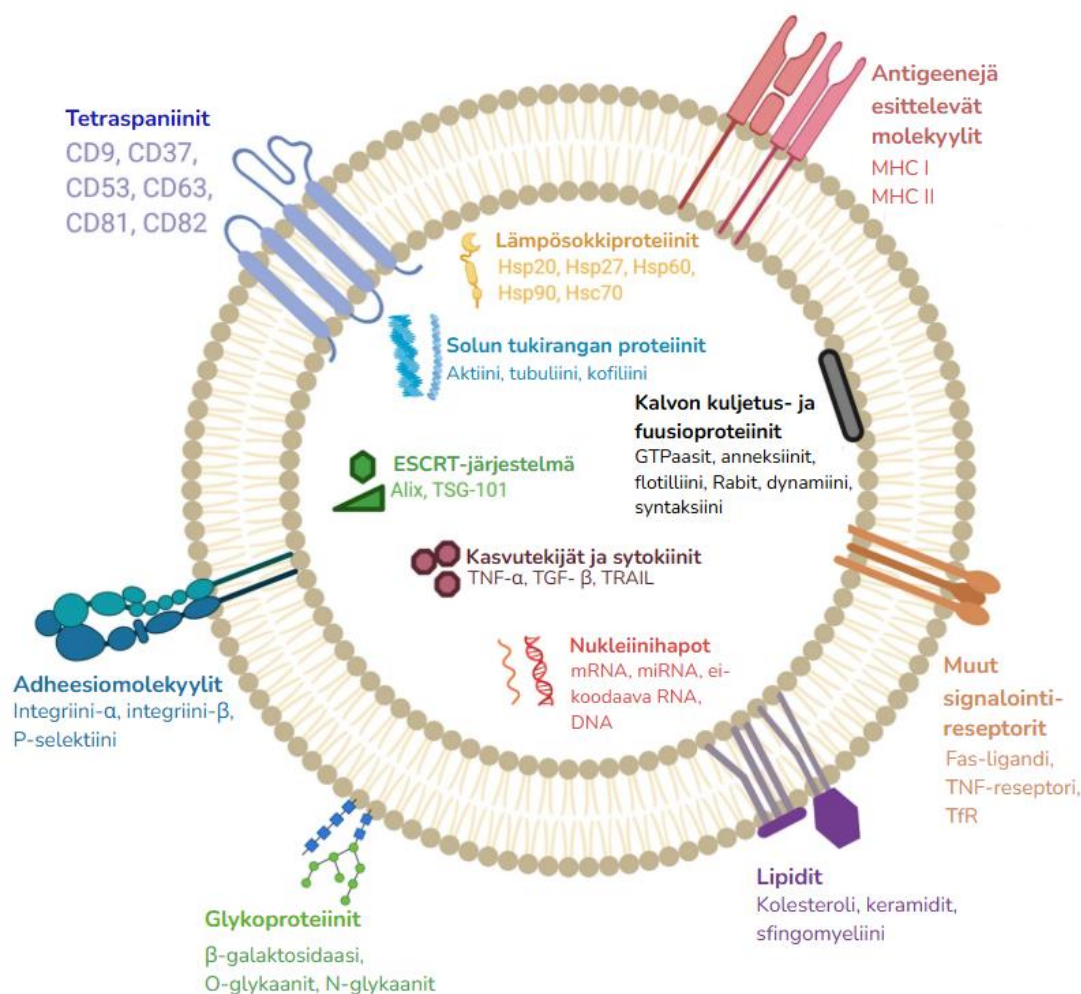
## 2.2 Vesikkelien rakenne

Eksosomit ovat ympyränmuotoisia partikkeleita, joita rajaa kaksi lipidikerrosta (Théry ja muut 2001; Théry ja muut 2002; Raposo ja muut 1996). Eksosomien koko vaihtelee jonkin verran eri soluista muodostuvilla eksosomeilla koon olevan muutamista kymmenistä nanometreistä noin 100 nm:iin. Eksosomien rakenteen ja koon on tutkimuksissa havaittu vastaavan solun sisällä sijaitsevien multivesikulaaristen endosomien sisäisten partikkelien rakennetta ja kokoa, mikä osaltaan todistaa eksosomien muodostumisreittiä. Eksosomien lipidikoostumus koostuu pääasiassa glykolipideistä ja vapaista rasvahapoista (Haraszti ja muut 2016). Oheisessa kuvassa on nähtävissä hahmotelma eksosomien rakenteesta, joka vastaa pääpiirteissään myös mikrovesikkelien rakennetta (kuva 2).

Mikrovesikkelit ovat yleensä selkeästi halkaisijaltaan eksosomeja suurempia partikkeleita, jopa 1000 nm:n suuruisia (M. Z. Ratajczak ja Ratajczak 2020). Mikrovesikkelit ovat rakenteeltaan samankaltaisia kuin eksosomit, ja niiden sisältämää materiaa ympäröi kaksinkertainen lipidikerros. Mikrovesikkelien lipidikoostumuksen on havaittu sisältävän fosfolipidejä ja sfingolipidejä, erityisesti sfingomyeliiniä ja keramidia (Haraszi ja muut 2016). Muodostuessaan mikrovesikkelit ottavat sisäänsä solulimasta erilaisia partikkeleita, kuten soluliman proteiineja, johtuen mikrovesikkelien muodostumistavasta (J. Ratajczak ja muut 2006).

Solunulkoiset vesikkelit sisältävät muun muassa solun sisältä peräisin olevia erilaisia proteiineja sekä DNA:ta ja RNA:ta (van Niel ja muut 2018). Mikrovesikkelien ja eksosomien on havaittu sisältävän keskenään hyvin paljon samoja partikkeleita ja molekyyliä, mutta näiden välillä on myös eroja. Lisäksi solunulkoisten vesikkelien proteiinien ja nukleinihappojen esiintyvyys on erilainen kuin muilla solunulkoisilla partikkeleilla, mikä myös osaltaan erottaa vesikkelit muista solujen erittämistä partikkeleista (Jeppesen ja muut 2019). Yhdeksi mahdolliseksi erottavaksi tekijäksi eksosomien ja mikrovesikkelien välillä on havaittu Anneksiini A1-proteiini, jota on havaittu todennäköisesti löytyvän vain mikrovesikkeleistä. Useat eksosomien ja mikrovesikkelien sisältämät proteiinit ovat samasta proteiiniperheestä, vaikka yksittäiset proteiinit eri vesikkelien välillä eroavat.

Mikrovesikkelit sisältävät yleensä enemmän samankaltaisia proteiineja niiden alkuperäisen solun kanssa, kuin mitä eksosomit sisältävät niiden alkuperäisen solun kanssa (Haraszi ja muut 2016). Sekä vesikkelien sisäpuolella, että niiden lipidikerroksen ulkopuolella esiintyy tärkeitä molekyyliä. Eksosomit sisältävät solunukoisesta ympäristöstä peräisin olevia proteiineja, sekä erilaisia sitoutumis- ja tunnistusmolekyyliä, kuten reseptoreja ja immuunijärjestelmän proteiineja. Mikrovesikkelit sen sijaan sisältävät enemmän esimerkiksi solulimakalvoston ja mitokondrion proteiineja.



Kuva 2. Eksosomien rakenne ja sisältö. Kuva on piirros, joka havainnollistaa eksosomien lipidirakennetta ja eksosomeilta yleisesti eri tutkimuksissa löydettyjä partikkeleita. Kuva muokattu julkaisusta (Gurung ja muut 2021). Kuvan lisenssi: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

### 2.3 Vaikutus solujen toimintaan

Solunulkoiset vesikkelit ovat merkittäviä tekijöitä solujen välisessä kommunikaatiossa ja täten vaikuttavat huomattavasti solujen toimintaan (Hánělová ja muut 2024). Vesikkeliin muodostumisen ja niiden erittämisen lisäksi tärkeää on, kuinka vesikkelit kommunikoivat ja miten vesikkelit kulkeutuvat kohdesolun sisään. Kun vesikkelit ovat päässeet solunulkoiseen tilaan, on niiden päästävä sisään jonnekin toiseen soluun, jotta ne voivat vaikuttaa tämän solun toimintaan. Vesikkeliin rakenne ja kohdesolujen ominaisuudet vaikuttavan siihen, millaisiin soluihin nämä pääsevät sisään, ja mitä vaikutuksia vesikkeleillä on kohdesoluille.

Vesikkelit kulkeutuvat kohdesolun sisään endosytoosilla, mikrovesikkelit ja eksosomit hieman eri tavoin (Hánělová ja muut 2024; Horibe ja muut 2018; Schneider ja muut 2017). Merkittävin tekijä eksosomien endosytoosin tapahtumiselle on todennäköisesti kohdesolun ominaisuudet ja kohdesolujen kapasiteetti eksosomien pintamolekyylien sijaan. Endosytoosi

voi tapahtua kaveolivälitteisen reitin kautta tai klatriinivälitteisen reitin kautta. Horiben ja muiden tutkimuksessa havaittiin, että soluissa, jotka ekspressoivat kaveoli-1:tä eniten, oli eksosomien sisäänotto myös suurinta. Kuitenkin eksosomien endosytoosin havaittiin tapahtuvan myös klatriinivälitteisesti, mutta myös ilman klatriinia tai kaveolia. Tämän vuoksi eksosomien endosytoosin voidaan ajatella olevan riippuvainen kohdesolun ominaisuuksista, eikä ole rajattu pelkästään tietynlaiseen endosytoosiin.

Mikrovesikkelien kulkeutumisen kohdesoluun ei myöskään ole havaittu olevan riippuvainen klatriinivälitteisestä endosytoosista eikä reseptorivuorovaikutuksista (Schneider ja muut 2017; Hánělová ja muut 2024). Sulautuminen soluun voi klatriini- ja kaveolivälitteisen endosytoosin lisäksi tapahtua nestefaasin kautta tai reseptorispesifisten vuorovaikutusten kautta.

Mikrovesikkelien on ehdotettu kulkeutuvan todennäköisemmin nestefaasin avulla, kuin reseptorispesifisesti. Varmaa tietoa vesikkelien solujen kulkeutumisen syistä ei kuitenkaan ole tarkennettu.

Vesikkelien membraaniproteiinien on kuitenkin havaittu vaikuttavan ainakin jossakin määrin vesikkelien kohdesoluun pääsyssä (Urabe ja muut 2020; Escrevente ja muut 2011; Christianson ja muut 2013). Tiettyjen vesikkelien pinnalla esiintyvien proteiinien, kuten joidenkin entsyymien ja esimerkiksi heparaanisulfaatin on havaittu vaikuttavan vesikkelien pääsyyn kohdesoluihin. Vesikkelien pinnan proteiinien vaikutuksia on tutkittu esimerkiksi altistamalla vesikkeleitä pintareseptoreja inhiboivilla proteiineilla, ja huomattu tämän heikentävän vesikkelien kulkeutumista soluihin.

### 3 Syöpäsolut ja solunulkoiset vesikkelit

#### 3.1 Vesikkelit ja syöpäsolujen kehittyminen

Syöpä on paljon tutkittu sairaus sen yleisyyden sekä vakavuuden vuoksi. Erilaisten syövän vaiheiden tunnistaminen ja selvittäminen on tärkeää tutkimuksen ja täten syövän mahdollisten hoitomenetelmien näkökulmasta. Syövän kehitykseen liittyy monia vaiheita, joihin solunulkoisten vesikkelien on havaittu vaikuttavan (Chang ja muut 2021). Solunulkoisten vesikkelien vaikutuksia syöpäsolujen kehitykseen on tutkittu monissa eri tutkimuksissa, ja tulokset näistä ovat todistaneet vesikkelien vaikutukset esimerkiksi solujen kasvuun, leviämiseen sekä angiogeneesiin. Syöpäsolujen erittämien vesikkelien proteiinien koostumusta ja vesikkelien esiintymistä tutkimalla on havaittu, kuinka vesikkelit muun muassa kuljettavat syöpäsolujen kehitykselle merkittäviä proteiineja terveille soluille ja näin osallistuvat terveiden solujen ohjailemiseen.

Vesikkelien välityksellä solut kykenevät kuljettamaan kasvutekijöitä toisille soluille, ja näin vaikuttamaan syöpäsolujen kehitykseen (Al-Nedawi ja muut 2008; Biernat ja muut 2006). EGF-reseptori (engl. Epidermal growth factor reseptor) on kasvutekijä, jonka yksi mutaatio on EGFRvIII-reseptori. Al-Nedawin ja muiden tutkimuksessa EGFRvIII:n esiintyessä glioomasoluissa niiden on havaittu erittävän solujen ympäristöön sekä verenkiertoon EGFRvIII:ta sisältäviä mikrovesikkeleitä. Näin kasvutekijät voivat siirtyä vesikkelien välityksellä toisiin soluihin, mikä edesauttaa syövän leviämistä. Al-Nedawin ja muiden tutkimuksessa U373-glioomasoluja altistettiin EGFRvIII-reseptoria sisältävillä mikrovesikkeleillä, sekä mikrovesikkeleillä, jotka eivät sisältäneet reseptoria. Tulosten perusteella voidaan päätellä, että reseptoria sisältävien mikrovesikkelien sulautuminen solujen sisälle johtaa signaalivälitysteiden, kuten MAPK:n ja Akt:n aktivaatioon sekä solujen kasvun lisääntymiseen.

Angiogeneesi on prosessi, jossa pääasiassa hapenpuutteen vuoksi kudoksissa muodostetaan uusia verisuonia (Adair ja Montani 2010; Chang ja muut 2021). Angiogeneesi on myös yksi syövän kehityksen vaiheista, sillä syöpäsolujen kasvaessa kudoksissa muodostetaan uusia verisuonia, joiden avulla solut selviävät sekä leviävät. Angiogeneesissä tärkeitä ovat verisuoniston endoteeliset kasvutekijät (Vascular endothelial growth factor, VEGF), ja näiden reseptorit. Vesikkelit osallistuvat syöpäsolujen aiheuttamaan angiogeneesiin vesikkelien sisältämien EGF-reseptorien ja VEGF:n aktivoinnin kautta (Al-Nedawi ja muut 2009; Feng ja

muut 2017). Mikrovesikkelien sulautuessa endoteelisolujen sisään, kulkeutuu soluun vesikkelien sisällä EGF-reseptoria. Tämän tapahtumaketjun vaikutuksesta VEGF-reseptorit aktivoituvat sekä VEGF lisääntyy, mikä johtaa angiogeneesiin. Tämän vaikutuksesta pääsee muodostumaan uusia verisuonia, ja syöpäsolut kykenevät kehittymään.

Antonyakin ja muiden tekemässä tutkimuksessa tutkittiin U87-gliomasolujen ja MDAMB231-rintasyöpäsolujen erittämiä mikrovesikkeleitä (Antonyak ja muut 2011). Kun terveitä fibroblastisoluja altistettiin syöpäsolujen erittämille mikrovesikkeleille, havaittiin soluissa selkeitä muutoksia. Fibroblastien olosuhteiden kestävyys ja selviytymiskyky lisääntyivät selkeästi, jotka ovat tyypillisiä syöpäsolujen piirteitä.

Kudostransglutaminaasientsyymi (tTG) on havaittu olevan tärkeä proteiini fibroblastien muuntumiselle. Jotta fibroblastien muuntuminen mikrovesikkelien vaikutuksesta voi tapahtua, tarvitaan soluissa kudostransglutaminaasientsyymi lisäksi toinen proteiini. Tutkituista syöpäsolujen erittämistä mikrovesikkeleistä löydettiin transglutaminaasientsyymiä ja fibronektiiniä, joiden yhteistoiminta johtaa solujen kehittymiseen. Täten on pystytty todistamaan, kuinka vesikkelit sisältävät syöpäsolujen kehittymiselle merkittäviä proteiineja, ja kuinka vesikkelit toimivat näiden kuljettajina.

### **3.2 Vesikkelien vaikutus syöpäsolujen selviytymiseen**

Syöpäsolujen selviytyminen on merkittävää solujen leviämisen ja täten syövän kehittymisen kannalta. Eri kudoksissa etenevillä syövillä ja eriasteisilla syövillä on erilaisia selviytymiskeinoja. Jo aikaisemmin mainittu angiogeneesi on yksi tärkeä tekijä syöpäsolujen selviytymisessä, sillä uusien verisuonten muodostuminen edistää esimerkiksi hapen saatavuutta syöpäsoluille (Adair ja Montani 2010; Chang ja muut 2021). Lisäksi erilaiset immuunijärjestelmän toiminnan ehkäisyyn liittyvät keinot ovat tärkeitä syöpäsolujen selviytymisen kannalta.

Yleensä immuunijärjestelmän tehtävänä on tuhota vieraita antigeenejä esittelevät, haitalliset solut. Syövän kehittyessä ihmisellä tämä ei kuitenkaan toimi samalla tavalla, mikä johtuu syöpäsolujen ja kasvainten aiheuttamasta immunosuppressiivisuudesta (Chang ja muut 2021). Syöpäkasvainten ympäristössä immuunijärjestelmän reagointi on heikompi, eivätkä immuunijärjestelmän solut reagoi syöpäsoluihin, johtuen ohjelmoidusta kuolema-ligandista (engl. death ligand). Tämän vaikutuksesta immuunijärjestelmän solujen kiinnittyessä syöpäsoluihin tapahtuu immuunisolujen ohjelmoitu solukuolema ja tämän johdosta immuunijärjestelmän heikentyminen kasvaimen ympäristössä. Tätä immuunijärjestelmää heikentävää ligandia on havaittu eksosomeilla, jotka ovat peräisin syöpäsoluista, ja useiden

syöpäsolujen on todistettu erittävän tätä sisältäviä eksosomeja. Kun immuunijärjestelmän soluja on altistettu näille ligandia sisältäville eksosomeille, on tämän huomattu heikentävän immuunijärjestelmää kasvaimen ympäristössä ja täten helpottavan syövän selviämistä (Chen ja muut 2018).

Adenosiini on aine, jonka kiinnittyminen immuunijärjestelmän soluihin johtaa syklisen AMP:n syntyyn, jonka lisääntyminen soluissa heikentää niiden toimintaa. (Chang ja muut 2021). Normaalisti kudoksissa tätä käytetään tarkoituksellisesti hillitsemään liian voimakasta immuunipuolustusta, mutta syöpäsolujen on havaittu lisäävän tätä heikentämistä vielä enemmän, jotta immuunijärjestelmän solut eivät tuhoaisi syöpäsoluja. Adenosiinin määrään solujen ympäristössä vaikuttavat CD39- ja CD73 -entsyymit, joiden hydrolyysin johdosta muodostuu lisää adenosiinia (Bastid ja muut 2015). Tämän vuoksi CD39 ja CD73 vaikuttavat myös syöpäsolujen ja kasvaimen selviytymiseen. Joidenkin syöpäsolujen erittämät solunulkoiset vesikkelit sisältävät CD39- ja CD73-entsyymejä, joiden vaikutuksesta adenosiini syöpäsoluissa lisääntyy (Clayton ja muut 2011). Tällä tavoin syöpäsolut kykenevät vesikkeliä avulla parantamaan selviytymistään ja kestävyyttään.

### **3.3 Vesikkeliä vaikutus syöpäsolujen leviämiseen**

Syöpäsolujen leviämällä on suuri vaikutus syövän kehitykseen ja etenemiseen kehossa. Syöpäsolujen levitessä kudoksesta toiseen puhutaan syövän metastaasista, joka aiheuttaa suuren osan syöpiin liittyvistä kuolemista (Dillekås ja muut 2019). Syöpäsolujen metastaasissa solujen tulee irtautua alkuperäisestä kasvaimesta ja kulkeutua verisuonistossa uuteen kohteeseen (Chang ja muut 2021).

Solujen välisellä kommunikaatiolla on havaittu olevan suuri merkitys syöpäsolujen ja täten syövän leviämisen kannalta (Costa-Silva ja muut 2015; Ortiz ja muut 2019) Syöpäsolut edistävät leviämistään ohjailemalla muita, terveitä, soluja. Koska syöpäsolut erittävät vesikkeleitä solunulkoiseen tilaan, kykenevät nämä vesikkelit ohjailemaan toisia soluja. Vesikkelit pystyvät kuljettamaan toisiin soluihin erilaisia proteiineja, sekä myös ekspressoimaan näitä pinnoillaan. Koska solunulkoiset vesikkelit ovat tärkeitä solujen välisen kommunikoinnin kannalta, ovat nämä myös tärkeitä syöpäsolujen leviämisen näkökulmasta (Peinado ja muut 2012).

MET-reseptori yhdessä sen HGF/SF (engl.hepatocyte growth factor/scatter factor) -ligandin kanssa vaikuttavat solujen leviämiseen ja kasvuun (Birchmeier ja muut 2003). Peinadon ja muiden tutkimuksessa tutkittiin melanoomalle spesifisten proteiinien sekä MET:n

esiintymistä erityisesti eksosomeilla. Tutkittaessa eriasteisten melaanoomasolujen erittämien vesikkelien proteiinkoostumusta on huomattu vesikkelien vaikutus syöpäsolujen leviämiseen (Peinado ja muut 2012). Korkeamman asteen syöpäsolujen erittämien eksosomien on havaittu sisältävän eri tavalla ekspressoitua MET-geeniä, kuin matalamman asteen syöpäsoluilla, jotka eivät ole yhtä kehittyneitä. Myös tiettyjen proteiinien, kuten melanoomalle spesifisen TYRP2-proteiinin ja MET:n esiintyminen yhtäaikaaisesti eksosomeissa on havaittu johtavan syövän edistymiseen. Lisäksi tutkimuksessa havaittiin, että syöpäsolujen erittämistä eksosomeista siirtyy MET:iä luuytimen soluille, ja tämä prosessi johtaa syövän etenemiseen. Tällä tavoin vesikkelit toimivat proteiinien kuljettajina, ja näin edistävät syöpäsolujen kasvua.

Interferonit ovat merkittäviä proteiineja syövän leviämisen hillitsemisessä, ja niiden vaikutuksesta tapahtuu esimerkiksi solujen liiallisen kasvun säätely ja täten myös syövän leviämisen ehkäisy (Ortiz ja Fuchs 2017). Syöpäsolujen erittämien solunulkoisten vesikkelien on havaittu vähentävän syövän leviämistä kontrolloivien proteiinien esiintymistä, ja näin edistävän syöpäsolujen leviämistä. Syöpäsolujen erittämien vesikkelien on havaittu vähentävän tyypin I interferoniproteiinin esiintymistä solujen ympäristössä (Ortiz ja muut 2019). Sekä in vitro-tutkimuksessa tutkiessa melanoomaa sairastavien ihmisten solunulkoisten vesikkelien vaikutuksia soluille että hiirillä tehdyssä in vivo-tutkimuksessa havaittiin vesikkelien vähentävän interferonien muodostumiseen tarvittavien IFNAR1-reseptoreiden esiintymistä. Täten syöpäsolujen erittämät vesikkelit kykenevät edistämään syöpäsolujen leviämistä hillitsemällä kasvua hidastavien proteiinien esiintymistä kasvaimen mikroympäristössä.

## 4 Solunulkoiset vesikkelit biomarkkereina ja terapeuttisina kohteina

### 4.1 Vesikkelit biomarkkereina syövälle

Solunulkoiset vesikkelit vaikuttavat monipuolisesti syöpäsoluihin ja niiden ympäristöön, sekä ovat osana syövän kehityksessä ja leviämässä. Uusimmissa tutkimuksissa on tutkittu myös vesikkelien mahdollisia käyttökohteita biomarkkereina syövän tunnistuksessa (Chang ja muut 2021). Syöpäsolut tuottavat vesikkeleitä, jotka sisältävät esimerkiksi syöpäsoluihin viittaavia proteiineja ja RNA:ta, jolloin vesikkeleitä voitaisiin käyttää apuna syöpäsolujen tunnistuksessa. Nestemäiset näytteet ovat yksi potentiaalinen kohde, missä vesikkeleitä voitaisiin hyödyntää. Nestemäisissä näytteissä fyysisen koepalan sijaan näyte otetaan jostakin kehon nesteestä, kuten veren plasmasta. Nestemäisen näytteen sisältämien vesikkelien sisältöä tutkimalla voidaan saada tietoa soluista, joista vesikkelit ovat erittyneet, ja täten mahdollisesti tunnistaa syöpäsoluja. Vesikkelit voivat toimia biomarkkereina sekä niiden pintaproteiineja määrittämällä että vesikkelien sisältöä tutkimalla (Urabe ja muut 2020).

Vesikkelit sisältävät syöpäsoluilta peräisin olevaa RNA:ta, jonka pitoisuuksia ja sisältöä tutkimalla voidaan löytää syöpäsoluja ja täten syöpäkasvaimia (Akers ja muut 2013; Noerholm ja muut 2012). Syöpäpotilaiden seerumi- ja aivo-selkäydinnestenäytteistä analysoiduissa mikrovesikkeleissä on havaittu useampien ribosomaalisten proteiinien geenien hiljentymistä verrattuna terveiden henkilöiden näytteisiin. Lisäksi vesikkelit, jotka ovat peräisin syöpäsoluista, ekspressoivat syöpäsoluille tyypillisiä mikro-RNA-partikkeleita samassa suhteessa kuin syöpäsolut. Kun mikro-RNA:n määrää vesikkeleillä mitataan suhteuttaen se vesikkelien määrään, on mahdollista havaita mikro-RNA:n yliekspressio ja täten löytää syöpäsoluja. RNA:n ekspressio ei ole välttämättä aina suoraan verrannollinen syövän olemassaoloon ja vaatii lisätutkimuksia, mutta vesikkelien avulla voitaisiin havaita mahdollisesti poikkeavia RNA-pitoisuuksia.

Vesikkelien pintaproteiinit toimivat myös potentiaalisina biomarkkereina (Urabe ja muut 2020). Vesikkelien pintaproteiineja määrittämällä voidaan löytää syöpäsoluille tyypillisiä proteiineja, ja näin yhdistää vesikkelit syöpäsoluihin. Vesikkelien avulla syövän tutkiminen on yleisesti ottaen vähemmän kajoava menetelmä, kuin perinteiset syövän havaitsemiseen käytetyt menetelmät, mikä on yksi syy siihen, että vesikkelit voisivat olla hyödyllisiä syövän havaitsemisessa. Syöpäsolujen ja syöpäsolujen erittämien vesikkelien on havaittu sisältävän ja

ekspressoivan monia proteiineja eri tavoin kuin terveiden solujen, esimerkiksi erilaisia lämpöshokkiproteiineja, kuten HSP72 (Multhoff ja muut 1995). Vesikkelien pintaproteiineja on tutkittu esimerkiksi vasta-aineisiin perustuvilla menetelmillä, kuten ELISA-immunomäärityksen tyyllisellä menetelmällä ja proteiinimikrosirun avulla sekä nanoplasmonisella menetelmällä (Logozzi ja muut 2009; Jørgensen ja muut 2013; Shao ja muut 2012).

## 4.2 Vesikkelit terapeuttisina kohteina

Syövän hoitoon keskittyvät menetelmät ovat olleet tärkeä tutkimuskohde jo pitkän aikaa monilla tutkimuksen osa-alueilla. Solunulkoisten vesikkelien osalta on myös tutkittu ja suunniteltu niiden mahdollisuuksia terapeuttisina kohteina syövässä (Urabe ja muut 2020; Chang ja muut 2021; Kamerkar ja muut 2017). Pääasiassa vesikkelien terapeuttiset mahdollisuudet liittyvät vesikkelien muokkaamiseen ja tuhoamiseen, mutta myös niiden käytöstä lääkkeiden kohdistamiseen ja syöpärokotteiden kehitykseen on pohdittu.

Yksi mahdollinen tapa, jolla vesikkelien avulla voitaisiin mahdollisesti hoitaa syöpäsoluja, on vesikkelien erittämisen estäminen. Esimerkiksi vesikkelien muodostumisreittejä häiritseviä lääkkeitä kohdistamalla voitaisiin mahdollisesti vaikuttaa erittyvien vesikkelien määrään. Myös vesikkelien soluihin sulautumisen ehkäisyä pidetään yhtenä mahdollisena terapiakohteena. Vesikkelien pintaproteiinien on tutkimuksissa havaittu vaikuttavan siihen, kuinka vesikkelit pääsevät kohdesoluun sisälle. Joidenkin proteiinien on havaittu inhiboivan ja vähentävän vesikkelien sulautumusta soluihin, jolloin näitä proteiineja voitaisiin potentiaalisesti käyttää estämään vesikkelien pääsyä soluihin.

Syöpärokotteet ovat viime aikoina olleet osa uusia syöpähoitoja kehitellessä, ja myös näissä voitaisiin hyödyntää solunulkoisia vesikkeleitä. Syöpärokotteissa tavoitteena on saada aikaan mahdollisimman spesifi ja tehokas immuunivaste, joka tuhoaisi syöpäsoluja (Meng ja muut 2025). Koska solunulkoiset vesikkelit vaikuttavat immuunivasteeseen ja sisältävät syöpäsoluille spesifisiä antigeenejä, ovat ne hyvin potentiaalisia käytettäväksi rokotteissa. Vesikkelien käyttöä rokotteissa on tutkittu useammassa eri tutkimuksessa, kuten Wangin ja muiden tutkimuksessa, jossa eksosomeja käytettiin keuhkosityöpärokotteessa (Wang ja muut 2020). Ihmiseltä ja hiireltä peräisin olevista keuhkosityöpäsolujen solumediumista valmistettiin solulysaatti sekä eristettiin eksosomit ja näitä käytettiin antigeeneinä dendriittisolurokotteissa. Tutkimuksessa ihmisen ja hiiren dendriittisoluja käsiteltiin antigeeneillä, sekä lisäksi hiirille aiheutettiin keuhkosityöpä ja tämän jälkeen hiiriin injektoidiin erilaisia antigeenejä ja rokotteita. Eksosomien käyttäminen antigeeninä heikensi syöpäsolujen kasvua hiirillä ja edisti hiirten

selviytymistä. Eksosomien käyttö tehosti myös *in vitro*-tutkimuksissa antigeenien esittelyä ja dendriittisolujen kasvua enemmän kuin solulysaattien käyttö.

Vesikkelit voivat mahdollisesti toimia myös lääkkeiden kuljettajina soluille ja näin hoitokeinona (Kamerkar ja muut 2017). Kamerkarin ja muiden tutkimuksessa käytettiin muokattuja eksosomeja (iExosomes) ja liposomeja (iLiposomes), jotka sisälsivät KRAS-onkogeneenien RNA:han kohdistuvaa shRNA:ta ja siRNA:ta. Näitä eksosomeja ja liposomeja injektoidiin hiirille, joilla oli haimasyöpä. Kasvainten määrä väheni sekä elinikä piteni eksosomeilla injektoiduilla hiirillä verrattuna kontrollihiiriin. Liposomeilla injektoiduilla hiirillä oli myös eroja kontrollihiiriin, mutta ei yhtä suuria kuin eksosomeilla käsitellyillä hiirillä. Eksosomit vaikuttavat tutkimuksen mukaan olevan tehokas keino kuljettamaan esimerkiksi haitallisia geenejä hiljentävää RNA:ta, ja näin mahdollisesti toimimaan syövän hoidossa.

Yun ja muiden tutkimuksessa selvitettiin *in vitro* eksosomien kautta tapahtuvan mikro-RNA:n kuljetuksen vaikutuksia glioomasoluille (Yu ja muut 2019). Tutkimuksessa saatiin vahvistettua, että glioomasoluihin siirtyi mikro-RNA:ta eksosomien välityksellä.

Tutkimuksessa mesenkymaalisiin kantasoluihin transfektoitiin miR-199a mikro-RNA:ta ja näitä soluja kasvatettiin yhdessä ihmisen U251-glioomasolujen kanssa. Tämän tuloksena mikro-RNA:ta siirtyi glioomasoluihin, jonka johdosta esimerkiksi solujen leviäminen ja migraatio heikentyi.

## 5 Yhteenveto

Tutkielmassa käsiteltiin solunulkoisia vesikkeleitä, ja näihin liittyviä toimintoja soluissa sekä mahdollisia tutkimuskohteita. Solunulkoiset vesikkelit jaotellaan yleisesti kahteen pääluokkaan, mikrovesikkeleihin ja eksosomeihin, joita on pääasiassa tutkittu erikseen. Mikrovesikkelit ja eksosomit eroavat toisistaan muodostumistavoiltaan, sekä osittain sisällöltään ja rakenteeltaan. Eksosomit ovat laajemmin tunnettuja ja tutkittuja partikkeleita, kun taas mikrovesikkelit hieman vähemmän huomioituja. Solunulkoiset vesikkelit ovat merkittäviä solujen välisessä kommunikaatiossa, sillä ne sisältävät sekä ekspressoivat pinnallaan monia tärkeitä proteiineja. Kaikkien solujen on havaittu erittävän vesikkeleitä ja täten ne ovat tärkeitä partikkeleita tutkiessa eri solujen toimintaa. Yksi tärkeä tutkimuskohde liittyen vesikkeleihin ovat syöpäsolut ja niiden erittämät vesikkelit.

Tutkimuksissa vesikkelien on havaittu vaikuttavan syövän eri vaiheisiin ja kehitykseen, ja tämän kautta tuovan mahdollisuuksia syövän eri hoitomuotoihin ja tunnistukseen. Vesikkelit voivat kuljettaa mukanaan erilaisia proteiineja, jotka esimerkiksi edistävät syöpäsolujen kasvua ja leviämistä sekä terveiden solujen muuntumista syöpäsoluiksi. Vesikkelit voivat kulkeutua kehon eri nesteiden mukana, kuten verenkierrassa. Vesikkelit kulkeutuvat myös toisten solujen sisälle endosytoosilla, ja vaikuttavat kohdesolun sisällä solun toimintaan. Tämän vuoksi vesikkelien tutkimus on tärkeää, sillä ne saattavat tulevaisuudessa olla merkittäviä syöpäsolujen leviämisen estämisessä sekä syövän hoidossa.

Solunulkoiset vesikkelit saattavat olla helpompi ja potilaalle miellyttävämpi tapa määrittää solujen tilaa ja tunnistaa mahdollisia syöpäkasvaimia. Vesikkelit voivat tulevaisuudessa toimia tärkeinä biomarkkereina syöpätutkimuksissa, kun niiden proteiineja verrataan terveiden solujen proteiineihin. Vesikkelien kerääminen, erottaminen ja proteiinien luotettava kvantitointi ovat mahdollisia haasteita, jotka rajoittavat vesikkelien käyttöä diagnostiikassa. Vesikkelien on kuitenkin osoitettu liittyvän niin monipuolisesti syöpäsolujen toimintaan, että vesikkelien tutkimus ja kehitys varmasti jatkuu ja lisääntyy. On myös julkaistu tutkimuksia, joissa vesikkelit ovat toimineet terapeuttisina kohteina ja jopa mahdollisina lääkkeiden kuljettajina. Solunulkoiset vesikkelit ovat siis hyvin monipuolisia vaikuttajia syövän eri vaiheissa ja niiden tutkimuskohdat tulevaisuudessa ovat monipuoliset.

## Lähteet

- Adair, T. H. & Montani, J.-P. (2010) Overview of Angiogenesis. Teoksessa *Angiogenesis*. Morgan & Claypool Life Sciences. Noudettu osoitteesta <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53238/>
- Akers, J. C., Ramakrishnan, V., Kim, R., Skog, J., Nakano, I., Pingle, S., ... Chen, C. C. (2013) MiR-21 in the extracellular vesicles (EVs) of cerebrospinal fluid (CSF): A platform for glioblastoma biomarker development. *PLoS One* **8**:e78115.
- Al-Nedawi, K., Meehan, B., Kerbel, R. S., Allison, A. C. & Rak, J. (2009) Endothelial expression of autocrine VEGF upon the uptake of tumor-derived microvesicles containing oncogenic EGFR. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**:3794–3799.
- Al-Nedawi, K., Meehan, B., Micallef, J., Lhotak, V., May, L., Guha, A. & Rak, J. (2008) Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. *Nat Cell Biol* **10**:619–624.
- Antonyak, M. A., Li, B., Boroughs, L. K., Johnson, J. L., Druso, J. E., Bryant, K. L., ... Cerione, R. A. (2011) Cancer cell-derived microvesicles induce transformation by transferring tissue transglutaminase and fibronectin to recipient cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**:4852–4857.
- Babst, M., Katzmann, D. J., Snyder, W. B., Wendland, B. & Emr, S. D. (2002) Endosome-Associated Complex, ESCRT-II, Recruits Transport Machinery for Protein Sorting at the Multivesicular Body. *Developmental Cell* **3**:283–289.
- Bastid, J., Regairaz, A., Bonnefoy, N., Déjou, C., Giustiniani, J., Laheurte, C., ... Eliaou, J.-F. (2015) Inhibition of CD39 Enzymatic Function at the Surface of Tumor Cells Alleviates Their Immunosuppressive Activity. *Cancer Immunology Research* **3**:254–265.
- Biernat, W., Huang, H., Yokoo, H., Kleihues, P. & Ohgaki, H. (2006) Predominant Expression of Mutant EGFR (EGFRvIII) is Rare in Primary Glioblastomas. *Brain Pathol* **14**:131–136.
- Birchmeier, C., Birchmeier, W., Gherardi, E. & Vande Woude, G. F. (2003) Met, metastasis, motility and more. *Nat Rev Mol Cell Biol* **4**:915–925.
- Booth, A. M., Fang, Y., Fallon, J. K., Yang, J.-M., Hildreth, J. E. K. & Gould, S. J. (2006) Exosomes and HIV Gag bud from endosome-like domains of the T cell plasma membrane. *J Cell Biol* **172**:923–935.

- Chang, W.-H., Cerione, R. A. & Antonyak, M. A. (2021) Extracellular Vesicles and Their Roles in Cancer Progression. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)* **2174**:143.
- Chen, G., Huang, A. C., Zhang, W., Zhang, G., Wu, M., Xu, W., ... Guo, W. (2018) Exosomal PD-L1 Contributes to Immunosuppression and is Associated with anti-PD-1 Response. *Nature* **560**:382–386.
- Christianson, H. C., Svensson, K. J., van Kuppevelt, T. H., Li, J.-P. & Belting, M. (2013) Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110**:17380–17385.
- Clayton, A., Al-Taei, S., Webber, J., Mason, M. D. & Tabi, Z. (2011) Cancer exosomes express CD39 and CD73, which suppress T cells through adenosine production. *J Immunol* **187**:676–683.
- Costa-Silva, B., Aiello, N. M., Ocean, A. J., Singh, S., Zhang, H., Thakur, B. K., ... Lyden, D. (2015) Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver. *Nat Cell Biol* **17**:816–826.
- Dillekås, H., Rogers, M. S. & Straume, O. (2019) Are 90% of deaths from cancer caused by metastases? *Cancer Med* **8**:5574–5576.
- Escrevente, C., Keller, S., Altevogt, P. & Costa, J. (2011) Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells. *BMC Cancer* **11**:108.
- Feng, Q., Zhang, C., Lum, D., Druso, J. E., Blank, B., Wilson, K. F., ... Cerione, R. A. (2017) A class of extracellular vesicles from breast cancer cells activates VEGF receptors and tumour angiogenesis. *Nat Commun* **8**:14450.
- Gurung, S., Perocheau, D., Touramanidou, L. & Baruteau, J. (2021) The exosome journey: From biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Communication and Signaling : CCS* **19**:47.
- György, B., Szabó, T. G., Pásztói, M., Pál, Z., Misják, P., Aradi, B., ... Buzás, E. I. (2011) Membrane vesicles, current state-of-the-art: Emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci* **68**:2667–2688.
- Hánělová, K., Raudenská, M., Masařík, M. & Balvan, J. (2024) Protein cargo in extracellular vesicles as the key mediator in the progression of cancer. *Cell Commun Signal* **22**:25.
- Haraszti, R. A., Didiot, M.-C., Sapp, E., Leszyk, J., Shaffer, S. A., Rockwell, H. E., ... Khvorova, A. (2016) High-resolution proteomic and lipidomic analysis of exosomes and microvesicles from different cell sources. *J Extracell Vesicles* **5**:10.3402/jev.v5.32570.
- Harding, C., Heuser, J. & Stahl, P. (1983) Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol* **97**:329–339.

- Hessvik, N. P. & Llorente, A. (2018) Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell Mol Life Sci* **75**:193–208.
- Horibe, S., Tanahashi, T., Kawauchi, S., Murakami, Y. & Rikitake, Y. (2018) Mechanism of recipient cell-dependent differences in exosome uptake. *BMC Cancer* **18**:47.
- Jeppesen, D. K., Fenix, A. M., Franklin, J. L., Higginbotham, J. N., Zhang, Q., Zimmerman, L. J., ... Coffey, R. J. (2019) Reassessment of Exosome Composition. *Cell* **177**:428-445.e18.
- Johnstone, R. M., Adam, M., Hammond, J. R., Orr, L. & Turbide, C. (1987) Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *Journal of Biological Chemistry* **262**:9412–9420.
- Jørgensen, M., Bæk, R., Pedersen, S., Søndergaard, E. K. L., Kristensen, S. R. & Varming, K. (2013) Extracellular Vesicle (EV) Array: Microarray capturing of exosomes and other extracellular vesicles for multiplexed phenotyping. *J Extracell Vesicles* **2**.
- Kamerkar, S., LeBleu, V. S., Sugimoto, H., Yang, S., Ruivo, C. F., Melo, S. A., ... Kalluri, R. (2017) Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature* **546**:498–503.
- Katzmann, D. J., Babst, M. & Emr, S. D. (2001) Ubiquitin-Dependent Sorting into the Multivesicular Body Pathway Requires the Function of a Conserved Endosomal Protein Sorting Complex, ESCRT-I. *Cell* **106**:145–155.
- Keerthikumar, S., Chisanga, D., Ariyaratne, D., Al Saffar, H., Anand, S., Zhao, K., ... Mathivanan, S. (2016) ExoCarta: A Web-Based Compendium of Exosomal Cargo. *J Mol Biol* **428**:688–692.
- Lee, Y. J., Shin, K. J. & Chae, Y. C. (2024) Regulation of cargo selection in exosome biogenesis and its biomedical applications in cancer. *Exp Mol Med* **56**:877–889.
- Logozzi, M., De Mito, A., Lugini, L., Borghi, M., Calabrò, L., Spada, M., ... Fais, S. (2009) High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients. *PLoS One* **4**:e5219.
- Meng, Y., Yao, Z., Ke, X., Hu, M., Ren, H., Gao, S. & Zhang, H. (2025) Extracellular vesicles-based vaccines: Emerging immunotherapies against cancer. *Journal of Controlled Release* **378**:438–459.

- Multhoff, G., Botzler, C., Wiesnet, M., Müller, E., Meier, T., Wilmanns, W. & Issels, R. D. (1995) A stress-inducible 72-kDa heat-shock protein (HSP72) is expressed on the surface of human tumor cells, but not on normal cells. *Int J Cancer* **61**:272–279.
- Noerholm, M., Balaj, L., Limperg, T., Salehi, A., Zhu, L. D., Hochberg, F. H., ... Skog, J. (2012) RNA expression patterns in serum microvesicles from patients with glioblastoma multiforme and controls. *BMC Cancer* **12**:22.
- Ortiz, Angélica & Fuchs, S. Y. (2017) Anti-metastatic functions of type 1 interferons: Foundation for the adjuvant therapy of cancer. *Cytokine* **89**:4–11.
- Ortiz, Angelica, Gui, J., Zahedi, F., Yu, P., Cho, C., Bhattacharya, S., ... Fuchs, S. Y. (2019) An interferon-driven oxysterol-based defense against tumor-derived extracellular vesicles. *Cancer Cell* **35**:33-45.e6.
- Ostrowski, M., Carmo, N. B., Krumeich, S., Fanget, I., Raposo, G., Savina, A., ... Thery, C. (2010) Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat Cell Biol* **12**:19–30.
- Peinado, H., Alečković, M., Lavotshkin, S., Matei, I., Costa-Silva, B., Moreno-Bueno, G., ... Lyden, D. (2012) Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *Nature Medicine* **18**:883.
- Poste, G. & Nicolson, G. L. (1980) Arrest and metastasis of blood-borne tumor cells are modified by fusion of plasma membrane vesicles from highly metastatic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **77**:399–403.
- Raposo, G., Nijman, H. W., Stoorvogel, W., Liejendekker, R., Harding, C. V., Melief, C. J. & Geuze, H. J. (1996) B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *The Journal of Experimental Medicine* **183**:1161–1172.
- Ratajczak, J., Wysoczynski, M., Hayek, F., Janowska-Wieczorek, A. & Ratajczak, M. Z. (2006) Membrane-derived microvesicles: Important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia* **20**:1487–1495.
- Ratajczak, M. Z. & Ratajczak, J. (2020) Extracellular microvesicles/exosomes: Discovery, disbelief, acceptance, and the future? *Leukemia* **34**:3126–3135.
- Schneider, D. J., Speth, J. M., Penke, L. R., Wettlaufer, S. H., Swanson, J. A. & Peters-Golden, M. (2017) Mechanisms and modulation of microvesicle uptake in a model of alveolar cell communication. *J Biol Chem* **292**:20897–20910.
- Shao, H., Chung, J., Balaj, L., Charest, A., Bigner, D. D., Carter, B. S., ... Lee, H. (2012) Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy. *Nat Med* **18**:1835–1840.

- Théry, C., Boussac, M., Véron, P., Ricciardi-Castagnoli, P., Raposo, G., Garin, J. & Amigorena, S. (2001) Proteomic Analysis of Dendritic Cell-Derived Exosomes: A Secreted Subcellular Compartment Distinct from Apoptotic Vesicles<sup>1</sup>. *The Journal of Immunology* **166**:7309–7318.
- Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., ... Zuba-Surma, E. K. (2018) 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* **7**:1535750.
- Théry, C., Zitvogel, L. & Amigorena, S. (2002) Exosomes: Composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol* **2**:569–579.
- Tricarico, C., Clancy, J. & D'Souza-Schorey, C. (2016) Biology and biogenesis of shed microvesicles. *Small GTPases* **8**:220–232.
- Urabe, F., Kosaka, N., Ito, K., Kimura, T., Egawa, S. & Ochiya, T. (2020) Extracellular vesicles as biomarkers and therapeutic targets for cancer. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **318**:C29–C39.
- van Niel, G., D'Angelo, G. & Raposo, G. (2018) Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* **19**:213–228.
- Wang, C., Huang, X., Wu, Y., Wang, J., Li, F. & Guo, G. (2020) Tumor Cell-associated Exosomes Robustly Elicit Anti-tumor Immune Responses through Modulating Dendritic Cell Vaccines in Lung Tumor. *Int J Biol Sci* **16**:633–643.
- Wolf, P. (1967) The Nature and Significance of Platelet Products in Human Plasma. *British Journal of Haematology* **13**:269–288.
- Yu, L., Gui, S., Liu, Y., Qiu, X., Zhang, G., Zhang, X., ... Qiu, B. (2019) Exosomes derived from microRNA-199a-overexpressing mesenchymal stem cells inhibit glioma progression by down-regulating AGAP2. *Aging (Albany NY)* **11**:5300–5318.