

УДК 616-092

Терапевтический потенциал экзосом и их производных

Малышев И.Ю.^{1,2}, Кузнецова Л.В.¹, Буданова О.П.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

В обзоре представлены современные данные о механизмах диагностики, планирования и оценки успешности терапии различных заболеваний с помощью экзосом, об использовании их как нанопереносчиков (т.е. нановезикул для эффективной доставки молекул). За последние годы разработано большое количество разных, в основном синтетических, систем доставки лекарственных средств, недостатками этих систем является плохая биосовместимость и органическая неспособность к высокоточной доставке загруженных веществ. По сравнению с синтетическими системами доставки лекарственных средств, экзосомы — вследствие своего естественного происхождения — могут обладать большими преимуществами, такими, как лучшая биосовместимость и повышенная устойчивость к разрушительному воздействию иммунной системы. Описана технология производства наноструктур, разработка и производство с помощью бионанотехнологий так называемых «полностью синтетических экзосомоподобных нановезикул», преимущества и недостатки этих методов.

Ключевые слова: экзосомы; наночастицы; нановезикулы; клетки; терапия.

Для цитирования: Малышев И.Ю., Кузнецова Л.В., Буданова О.П. Терапевтический потенциал экзосом и их производных. Патогенез. 2018; 16(3): 129–131

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.129-131

Для корреспонденции: Кузнецова Лариса Вячеславовна: e-mail: lorakuznetsova@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания Министерства здравоохранения РФ по теме «Обоснование и экспериментальная разработка клеточной биотехнологии программирования М3 фенотипа переключения макрофагов для терапии рака предстательной железы человека» на 2018–2020 гг.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 22.08.2018

Therapeutic potential of exosomes and their derivatives

Malyshev I.Yu.^{1,2}, Kuznetsova L.V.¹, Budanova O.P.²

¹ A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Delegatskaya Str. 20, Bldg. 1, Moscow 127473, Russian Federation

² Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

This review presents current data on mechanisms for diagnosis, planning, and evaluation of success in the treatment of various diseases using exosomes as nanocarriers (i.e., nanovesicles for efficient delivery of molecules). In recent years, a large number of different, mainly synthetic drug delivery systems has been developed. Disadvantages of these systems are poor biocompatibility and organic inability to deliver high-precision loaded substances. Compared with synthetic drug delivery systems, exosomes due to their natural origin may provide great advantages, such as better biocompatibility and increased resistance to detrimental effects of the immune system. This review describes in detail a technology of nanostructure production, the development and production of so-called fully synthetic exosome-like nanovesicles using bionanotechnology, and advantages and disadvantages of these methods.

Key words: exosomes; nanoparticles; nanovesicles; cells; therapy.

For citation: Malyshev I.Yu., Kuznetsova L.V., Budanova O.P. [Therapeutic potential of exosomes and their derivatives. Patogenez [Pathogenesis]. 2018; 16(3): 129–131 (in Russian)]

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.129-131

For correspondence: Kuznetsova Larisa Vyacheslavovna, e-mail: lorakuznetsova@gmail.com

Funding. The work was financially supported by the State Task of the Ministry of Health of the Russian Federation on the topic «Justification and experimental development of cell biotechnology for programming the M3 phenotype of switching macrophages for the treatment of human prostate cancer» for 2018–2020.

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

Received: 22.08.2018

Прошедшее десятилетие ознаменовалось существенным прогрессом в изучении механизмов взаимодействия клеток между собой. В частности, значительно расширилось наше понимание биологической роли экстраклеточных везикул, особенно экзосом [1].

Экзосомы представляют собой эндогенные везикулы диаметром 50—150 нм, участвующие в процессе межклеточного взаимодействия и продуцируемые практически всеми видами клеток млекопитающих. Кроме того, было показано, что мембрана экзосом содержит ключевые поверхностные белки, а внутреннее содержимое состоит из некодирующих РНК, информационных РНК и белков исходных клеток [2].

Растущее количество данных о составе, механизмах формирования и роли экзосом при физиологических и патофизиологических условиях создало предпосылки для использования экстраклеточных везикул в диагностике и терапии. Прежде всего, экзосомы, будучи клеточными производными, являются ценными биомаркерами для диагностики, планирования и оценки успешности терапии различных заболеваний. Действительно, экзосомы обладают уникальными характеристиками, отражающими молекулярный состав мембраны и внутреннего содержимого и состояние клеток, из которых они выделились. Возможность тщательного анализа экзосом и, таким образом, получения ценной информации о клетках, в особенности о клетках труднодоступных тканей, привела к появлению термина «жидкая биопсия» и формированию совершенно новой клинической области.

Кроме того, экзосомы могут быть использованы как нанопереносчики (т.е. нановезикулы для эффективной доставки молекул) и терапевтические средства.

В идеале системы доставки лекарственных средств (СДЛС) должны обладать способностью к высокоточной доставке терапевтических молекул, быть устойчивыми к преждевременному разрушению в результате активации клеток иммунной системы и быть способными к контролируемому высвобождению содержимого в ответ на специфические стимулы.

За последние годы было разработано большое количество разных, в основном, синтетических, СДЛС — липосомы, углеродные нанотрубки, золотые наночастицы, полимерные наночастицы и т.д. Основными недостатками этих систем являются плохая биосовместимость и органическая неспособность к высокоточной доставке загруженных веществ. Крайне незначительное число этих разработок было одобрено для клинического применения (в основном, липосомы и полимерные наночастицы), остальные же не прошли стадию преclinical испытаний по причине неудовлетворительного распределения в тканях и высокой токсичности [3].

По сравнению с синтетическими СДЛС, экзосомы — вследствие своего естественного происхождения — могут обладать большими преимуществами, такими, как лучшая биосовместимость и повышенная устойчивость к разрушительному воздействию иммунной системы. Кроме того, экзосомы не накапливаются в органах и тканях, демонстрируя, таким образом, низкую системную токсичность [4]. Также важно отметить, что благодаря наличию ключевых белков на поверхности (тетраспанинов и интегринов) экзосомы намного легче, чем синтетические СДЛС, захватываются целевыми клетками [5].

За последние 5 лет было опубликовано несколько работ, демонстрирующих возможность модификации экзосом для высокоточной доставки терапевтических молекул, причем эта модификация возможна как до, так и после выделения экзосом из клеток [6]. Эти исследования представляют так называемые «полусинтетические нановезикулы на основе экзосом» — экзосомы со специфическими модификациями.

Важно отметить, что, несмотря на стремительное развитие методов получения полусинтетических экзосом, в настоящий момент существуют большие проблемы с производством таких экзосом в нужных количествах (в среднем, один миллион клеток дает количество экзосом, эквивалентное 0,5 мкг белка) и нужного (clinical grade) качества. Также следует отметить чрезвычайную трудоемкость и длительность процесса выделения и специфической модификации экзосом. Эти проблемы привели к разработке и производству с помощью бионанотехнологий так называемых «полностью синтетических экзосомоподобных нановезикул» (ПСН) [7].

В технологии производства наноструктур известны два подхода (две концепции) к созданию планируемых изделий: «top-down» («сверху-вниз») и «bottom-up» («снизу-вверх»).

Подход «сверху-вниз» основан на уменьшении размеров физических тел механической или ионной обработкой, вплоть до получения объектов с ультрамикроскопическими, нанометровыми параметрами. Другими словами, из более крупных и сложных объектов получают мелкие и простые. В этом случае производство ПСН начинается с культивирования клеток, которые будут использованы для получения фрагментов мембраны и формирования везикул. В рамках этой концепции были разработаны различные методы, наиболее известными из которых являются:

- 1) экстракция через поликарбонатные мембранные фильтры [8];
- 2) использование специальных микрофлюидных устройств [9].

Оба эти метода позволяют получить примерно в 250 раз больше биологически активных ПСН по сравнению с экзосомами, выделяемыми естественным путем. Анализ размеров и биохимического состава ПСН показал, что они практически идентичны натуральным. Особенно важно отметить, что эти ПСН имеют рецепторы и корцепторы, которые необходимы для высокоточной доставки и взаимодействия с целевыми клетками, а также обладают устойчивостью к иммунным воздействиям [6, 8, 9]. Главным недостатком полученных таким образом ПСН является то, что невозможно регулировать состав внутреннего содержимого нановезикул, так как оно формируется в результате пассивного (неконтролируемого) включения элементов окружающей среды в процессе самосборки мембранных фрагментов.

Идея технологии «снизу-вверх» заключается в том, что сборка создаваемой наноконструкции осуществляется непосредственно из элементов «низшего порядка» (атомов, молекул, структурных фрагментов биологических клеток и т.п.), располагаемых в требуемом порядке. Этот подход можно считать «обратным» по отношению к методу миниатюризации «сверху-вниз».

Эта группа методов производства ПСН основывается на хорошо известных приемах получения липосом с ис-

References

пользованием липидного бислоя, сходного по структуре и свойствам с клеточной мембраной. Этот самособирающийся липидный бислой может быть модифицирован путем включения специфических биомолекул для придания ему требуемых свойств.

Основным преимуществом этой стратегии является получение фармацевтического продукта высокого качества, так как его состав может быть проконтролирован на всех этапах производства. Относительными недостатками являются необходимость использования дорогих липидов высокой чистоты, а также критическая важность создания стабильных и специфических условий в процессе присоединения к липидному бислою множественных биомолекул.

В заключение можно отметить, что новые виды терапии с использованием ПСН могут стать основой персонализированной наномедицины. Однако важно отметить, что если клинические испытания натуральных экзосом уже идут, то ПСН еще далеки от этой стадии. Требуются значительные мультидисциплинарные усилия для преодоления существующих ограничений и совершенствования методов производства ПСН.

Методы модификации исходных клеток могут легко сочетаться с любым «сверху-вниз» методом для конструирования ПСН с нужными свойствами. Что касается «снизу-вверх» методов, то наиболее многообещающим выглядит использование микрофлюидной платформы, которая позволяет быстро протестировать многочисленные варианты состава ПСН и потребляет значительно меньшие количества реактивов. Также начат поиск альтернатив дорогим липидам, которые используются в производстве ПСН. Ожидается, что по мере совершенствования методов производства ПСН будут разрабатываться новые виды нановезикул со строго определенными свойствами и потенциально высоким терапевтическим потенциалом.

Сведения об авторах:

Малышев Игорь Юрьевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; заведующий лабораторией регуляторных механизмов стресса и адаптации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Кузнецова Лариса Вячеславовна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Буданова Ольга Петровна — старший научный сотрудник лаборатории регуляторных механизмов стресса и адаптации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

1. Yanez-Mo M., Siljander P.R., Andreu Z., Zavec A.B., Borras F.E., Buzas E.I., Buzas K., Casal E., Cappello F., Carvalho J., Colas E., Cordeiro-da Silva A., Fais S., Falcon-Perez J.M., Ghebrial I.M., Giebel B., Gimona M., Graner M., Gursel I., Gursel M., Heggaard N.H., Hendrix A., Kierulff P., Kokubun K., Kosanovic M., Kralj-Iglic V., Kramer-Albers E.M., Laitinen S., Lasser C., Lener T., Ligeti E., Line A., Lipps G., Llorente A., Lotvall J., Mancek-Kerber M., Marcilla A., Mittelbrunn M., Nazarenko I., Nolte-’t Hoen E.N., Nyman T.A., O’Driscoll L., Olivan M., Oliveira C., Pallinger E., Del Portillo H.A., Reventos J., Rigau M., Rohde E., Sammar M., Sanchez-Madrid F., Santarem N., Schallmoser K., Ostendorf M.S., Stoorvogel W., Stukelj R., Van der Grein S.G., Vasconcelos M.H., Wauben M.H., De Wever O. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J. Extracell. Vesicles*. 2015; 4: 27066. DOI: 10.3402/jev.v4.27066
2. Fais S., Logozzi M., Lugini L., Federici C., Azzarito T., Zarovni N., Chiesi A. Exosomes: the ideal nanovectors for biodelivery. *Biol. Chem.* 2013; 394(1): 1-15. DOI: 10.1515/hsz-2012-0236
3. Perez-Herrero E., Fernandez-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2015; 93: 52-79. DOI: 10.1016/j.ejpb.2015.03.018
4. Hood J.L. Post isolation modification of exosomes for nanomedicine applications. *Nanomedicine (Lond.)*. 2016; 11(13): 1745-1756. DOI: 10.2217/nnm-2016-0102
5. Xitong D., Xiaorong Z. Targeted therapeutic delivery using engineered exosomes and its applications in cardiovascular diseases. *Gene*. 2016; 575(2): 377-384. DOI: 10.1016/j.gene.2015.08.067
6. Johnsen K.B., Gudbergsson J.M., Skov M.N., Pilgaard L., Mosos T., Duroux M. A comprehensive overview of exosomes as drug delivery vehicles — Endogenous nanocarriers for targeted cancer therapy. *Biochim. Biophys. Acta*. 2014; 1846(1): 75-87. DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.04.005
7. Garcia-Manrique P., Gutierrez G., Blanco-Lopez M.C. Fully Artificial Exosomes: Towards New Theranostic Biomaterials. *Trends Biotechnol.* 2018; 36(1): 10-14. DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.10.005
8. Jo W., Kim J., Yoon J., Jeong D., Cho S., Jeong H., Yoon Y.J., Kim S.C., Gho Y.S., Park J. Large-scale generation of cell-derived nanovesicles. *Nanoscale*. 2014; 6(20): 12056-12064. DOI: 10.1039/c4nr02391a
9. Jo W., Jeong D., Kim J., Cho S., Jang S.C., Han C., Kang J.Y., Gho Y.S., Park J. Microfluidic fabrication of cell-derived nanovesicles as endogenous RNA carriers. *Lab. Chip*. 2014; 14(7): 1261-1269. DOI: 10.1039/c3lc50993a