بسم الله الرحمن الرحیم

به نام خدا

بیومارکرها در درمان سرطان

نویسنده : هیدکی شیمادا

زیر نظر:

دکتر محمدیحیی وحیدی مهرجردی

استادیار ژنتیک (دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد)

دکتر مریم السادات یزدان پرست

فوق تخصص خون و سرطان کودکان (استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد)

گروه مترجمین:

مهران دهقانیان (کارشناس ارشد ژنتیک انسانی)

ساغر ذاکری (کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی)

غفور یاراحمدی (کارشناس ارشد ژنتیک انسانی)

انتشارات ارسطو

(چاپ و نشر ایران)

۱۴۰۱

سرشناسه : هیدکی، شیمادا
Shimada, Hideaki
عنوان و نام پدیدآور : بیومارکرها در درمان سرطان / اثر هیدکی شیمادا؛ مترجمان مهران دهقانیان، ساغر ذاکری، غفور یاراحمدی، مریم‌السادات یزدان‌پرست، محمدیحیی‌وحیدی‌مهرجردی.
مشخصات نشر : ارسطو (سامانه اطلاع رسانی چاپ و نشر ایران) ، ۱۴۰۱.
مشخصات ظاهری : ۲۷۰ ص.
شابک : ۲-۹۲۶-۴۳۲-۶۰۰-۹۷۸ : ۱۰۸۰۰۰۰ ریال
وضعیت فهرست نویسی : فیپا
یادداشت : عنوان اصلی: Biomarkers in cancer therapy
موضوع : بیومارکرها - درمان سرطان
شناسه افزوده : دهقانیان، مهران، ۱۳۷۳-، مترجم
شناسه افزوده : ذاکری، ساغر، ۱۳۷۳-، مترجم
شناسه افزوده : یاراحمدی، غفور، ۱۳۷۳-، مترجم
شناسه افزوده : یزدان پرست، مریم السادات، ۱۳۶۲-، مترجم
شناسه افزوده : وحیدی مهرجردی، محمدیحیی، ۱۳۶۵-، مترجم
رده بندی کنگره : BF۵۷۳
رده بندی دیویی : ۱۵۱/۲
شماره کتابشناسی ملی : ۸۶۸۴۶۱۳
اطلاعات رکورد کتابشناسی : فیپا

نام کتاب : بیومارکرها در درمان سرطان
نویسنده : هیدکی شیمادا
مترجمان : مهران دهقانیان - ساغر ذاکری - غفور یاراحمدی
دکتر مریم السادات یزدان پرست - محمدیحیی وحیدی مهرجردی
ناشر : ارسطو (سامانه اطلاع رسانی چاپ و نشر ایران)
صفحه‌آرایی، تنظیم و طرح جلد : پروانه مهاجر
تیراژ : ۱۰۰۰ جلد
نوبت چاپ : اول - ۱۴۰۱
چاپ : مدیران
قیمت : ۱۰۸۰۰۰ تومان
فروش نسخه الکترونیکی - کتاب‌رسان :
https://chaponashr.ir/ketabresan
شابک : ۲-۹۲۶-۴۳۲-۶۰۰-۹۷۸
تلفن مرکز پخش : ۰۹۱۲۰۲۳۹۲۵۵
www. chaponashr. ir

انتشارات ارسطو

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش مزید نعمت. دانستن حق آدمی است و کشاکش دهر انسان را در دوراهی دریافتن و غفلت سخت می‌آزماید و هر کس آن را درمی یابد که ظرف وجودش گنجد.

برکسی پوشیده نیست که امروزه بیماری سرطان گریبان گیر تعداد بالایی از افراد شده است. علم پزشکی پیشرفت های بسیاری در زمینه تشخیص زودهنگام و درمان موثر این بیماری داشته است. به امید آن روز که تمام بیماران سرطانی کاملا درمان شوند.

کتابی که پیش رو دارید«بیومارکرها در درمان سرطان» حاصل تلاش و سعی جمعی، مشتاق و علاقه مند به مبحث درمان سرطان در گوشه ای از این کره خاکی است .درتمام مسیر ترجمه این کتاب مترجمین بر این عقیده استوار بودند که ترجمه کامل و جامعی را به شما خواننده گرامی ارائه نمایند.

ساغر ذاکری

کارشناس ارشد ژنتیک ملکولی

فهرست مطالب

عناوین | شماره صفحه

مقدمه مترجم ۱۵

فصل اول : تشخیص بیوپسی مایع با استفاده از وزیکولهای خارج سلولی ۱۷

۱-۱ مقدمه ۱۹

۱-۲ نشانگرهای عمومی در مورد وزیکولهای خارج سلولی به عنوان نشانگرهای زیستی ۲۲

۱-۲-۱ خصوصیات مولکولی وزیکولهای خارج سلولی ۲۲

۱-۲-۲ روش‌های خالص سازی و تشخیص برای نشانگرهای زیستیEV ۲۳

۱-۲-۳ نشانگرهای زیستی پروتئینی وزیکولهای خارج سلولی ۲۳

خلاصه ۲۵

منابع ۲۶

فصل دوم : DNA بدون سلول ۳۱

۲-۱ ساختار cfDNA ۳۳

۲-۲ پیدا کردن منبع ctDNA ۳٤

۲-۳ cfDNA یک عنصر متحرک ژنتیکی است ۳۵

۲-٤ تنوع ژنوم سرطان و تکامل کلونال سرطان ۳٦

۲-۵ سنجش ctDNA در محیط بالینی ۳۷

۲-۵-۱ از ctDNA میتوان برای تشخیص روش درمان استفاده کرد ۳۸

۲-۵-۲ از ctDNA میتوان برای مشاهده اثر درمان در سرطان‌ها استفاده کرد ... ۳۸

۲-۵-۳ از ctDNA می توان برای بررسی باقی ماندن تومور بعد از عمل استفاده

عنـوان | صفحـه

کرد ۳۹
۲-۵-٤ ctDNA برای بررسی تومور در افراد بی علامت ۳۹
۲-۵-۵ ارزیابی ctDNA جهت بررسی پویایی تومور ٤۰
۲-۵-٦ ارزیابی ctDNA بر اساس NGS ٤۱
۲-۶ ژنوتیپ پلاسمای مثبت کاذب به دلیل خونریزی کلونال ٤۲
۲-۷ نتیجه گیری ٤۲
منابع ٤۳

فصل سوم : اتوآنتی بادی در سرطان ۵٤
۳-۱ اتوآنتی بادی‌ها نشانگرهای زیستی حساس و پایدار هستند ۵۵
۳-۲ روش SEREX برای شناسایی اتو آنتی ژن ها ۵۵
۳-۳ روش بررسی سطح آنتی بادی سرم ۵٦
۳-٤ NY-ESO-1 برای تشخیص و درمان مفید است ۵۸
۳-۵ آنتی بادی p53 در سرطان‌های مختلف ۵۸
۳-٦ اتوآنتی بادی‌ها در ESCC و CRC ۵۹
۳-۷ اتوآنتی بادی‌ها در سرطانهای دیگر ٦۵
منابع ٦٦

فصل چهارم : عوامل آنژیوژنیک سرم به عنوان نشانگرهای زیستی سرطان ۷۹
٤-۱ مقدمه ۸۰
٤-۲ بیان بیش از حد عوامل رگ زایی و پتانسیل بدخیمی سرطان ۸۱
٤-۳ بیان بیش از حد عوامل رگ زایی و پاسخ درمانی ۸۲
٤-٤ اهمیت بالینی سطح سرمی عوامل رگ زایی ۸۳
٤-٤-۱ VEGF سرم ۸۳
٤-٤-۲ تیمیدین فسفوریلاز سرم (dThdPase) ۸۵
٤-٤-۳ HGF سرم ۸۵

عنـوان | صفحـه

٤-٤-٤ میدکین سرم ٨٦
٤-٥ نتیجه گیری ٨٧
منابع ٨٨

فصل پنجم: نشانگرهای زیستی سلول‌های بنیادی سرطان در درمان سرطان ٩٣
٥-١ مقدمه ٩٤
٥-٢ هدف قرار دادن علائم سطح CSC ها ٩٦
٥-٣ درمان‌های مبتنی بر برنامه ریزی مجدد سلول‌های سرطانی ٩٩
٥-٤ هدف گیری درمانی با ریزمحیط تومور ١٠١
٥-٥ نتیجه گیری ١٠٢
منابع ١٠٣

فصل ششم : بخش ١ : سرطان سر و گردن و سرطان مری ١٠٨
٦-١ سرطان سر و گردن ١١٠
٦-١-١ مقدمه ١١٠
٦-١-٢ بیومارکرهای خون ١١١
٦-١-٢-١ DNA توموری در گردش (ctDNA) ١١١
٦-١-٢-٢ MicroRNAهای در گردش (miRNAs) ١١١
٦-٢ سرطان مری ١١٢
٦-٢-١ مقدمه ١١٣
٦-٢-٢ نشانگرهای بافتی ١١٤
٦-٢-٣ نشانگرهای زیستی خون ١١٥
٦-٢-٣-١ سلولهای توموری در گردش (CTCs) ١١٥
٦-٢-٣-٢ DNA بدون سلول (cfDNA) و DNA تومور در گردش (ctDNA) ١١٦
٦-٢-٣-٣ میکرو RNAهای در گردش (miRNA ها) ١١٧

عنـوان | صفحـه

٦-٢-٣-٤ اتوآنتی بادی علیه آنتی ژن‌های مرتبط با تومور (TAA) ١١٨
٦-٢-٣-٥ نشانگرهای تومور سرم ١١٩
٦-٢-٣-٦ اگزوزوم ١٢٠
٦-٢-٤ نشانگرهای زیستی با استفاده از نفس و بخار ١٢٠
٦-٢-٥ دستورالعمل‌های آینده ١٢١
منابع ١٢٢

فصل هفتم : بیومارکرها در سرطان معده ١٣٥
٧-١ مقدمه ١٣٧
٧-٢ بیومارکرهای معمولی پلاسما / سرم برای سرطان‌های معده ١٣٨
٧-٣ نشانگرهای زیستی RNA پلاسما / سرم برای سرطان‌های معده ١٤١
٧-٤ نشانگرهای زیستی محلول صفاقی سرطان‌های معده ١٤٣
٧-٥ نتیجه گیری ١٤٥
منابع ١٤٥

فصل هشتم : نمونه برداری مایع در کارسینومای هپاتوسلولار(سلولی کبد) ١٤٩
٨-١ مقدمه ١٥٠
٨-١-١ سلولهای چرخشی تومور ١٥١
٨-١-٢ DNA چرخشی تومور ١٥٣
٨-١-٣ MicroRNA ها ١٥٥
٨-٢ چشم انداز ١٥٦
منابع ١٥٩

فصل نهم : نشانگرهای زیستی سرطان لوزالمعده ١٦٣
٩-١ مقدمه ١٦٥
٩-٢ DNA در گردش تومور (ctDNA) ١٦٦

عنـوان | صفحـه

۹-۳ RNA در گردش بدون سلول (cfRNA) ۱۶۸
۹-٤ رویکرد تشخیص ضایعه پیش سرطانی ۱۷۰
۹-۵ پتانسیل برای نشانگر پیش آگهی ۱۷۱
۹-٦ نتیجه گیری ۱۷۱
منابع ۱۷۲

فصل دهم : نشـانگرهای زیسـتی سـرطان ریـه: نمونه‌برداری مایع توسـعه می‌یابد ۱۷۸
۱۰-۱ مقدمه ۱۸۰
۱۰-۲ مواد نمونه برداری مایع ۱۸۰
۱۰-۲-۱ ctDNA ۱۸۲
۱۰-۲-۲ qPCR در زمان واقعی ۱۸۳
۱۰-۲-۳ PCR دیجیتال (dPCR) و BEAMing ۱۸۳
۱۰-۲-٤ توالی نسل بعدی (NGS) ۱۸٤
۱۰-۲-۵ سلولهای در گردش تومور (CTC) ۱۸٤
۱۰-۲-٦ کاربرد بالینی CTCها ۱۸۵
۱۰-۳ نمونه برداری مایع برای تشخیص همراه ۱۸٦
۱۰-٤ جهت گیری آینده نمونه برداری مایع ۱۸۷
۱۰-۵ نتیجه گیری ۱۸۸
منابع ۱۸۹

فصل یازدهم : نشانگرهای زیستی جهت درمان سرطان سینه ۱۹۳
۱۱-۱ گیرنده‌های هورمونی ۱۹٤
۱۱-۱-۱ پیشینه پژوهش در مورد گیرنده‌های هورمونی در سرطان سینه ۱۹٤
۱۱-۱-۲ ساختار گیرنده‌های هورمونی ۱۹۵
۱۱-۱-۳ گیرنده‌های هورمونی به عنوان نشانگر زیستی جهت درمان سرطان سینه ۱۹٦

عنــوان | صفحــه

۱۱-۲ HER2 ..... ۱۹۷
۱۱-۲-۱ HER2 به عنوان نشانگر زیستی برای درمان سرطان سینه ۱۹۷
۱۱-۳ پروتئین هسته ای Ki67 ..... ۱۹۸
۱۱-۳-۱ Ki67 به عنوان نشانگر زیستی برای درمان سرطان سینه ۱۹۹
۱۱-٤ Oncotype DX ۱۹۹
۱۱-٥ جهش BRCA1/2 ..... ۲۰۱
۱۱-٦ نشانگر تومور ۲۰۲
منابع ۲۰٤

فصل دوازدهم : نشانگرهای زیستی سرطان پروستات ۲۱۰
۱۲-۱ مقدمه ۲۱۱
۱۲-۲ نشانگرهای سرم ۲۱۳
۱۲-۲-۱ PSA (آنتی ژن اختصاصی پروستات) ۲۱۳
۱۲-۲-۲ proPSA ۲۱٥
۱۲-۲-۳ NSE (آنــولاز خاص نورون) / کروموگرانین A / proGRP (پپتید آزاد کننده پرو-گاسترین) ۲۱٦
۱۲-۲-٤ نشانگر ساخت و تخریب استخوان ۲۱٦
۱۲-۳ نشانگر ادرار ۲۱۷
۱۲-۳-۱ PC3 (ژن سرطان پروستات ۳) ۲۱۷
۱۲-٤ نمونه برداری مایع ۲۱۸
۱۲-٤-۱ CTC (سلولهای در گردش تومور) ۲۱۸
۱۲-٤-۲ cfDNA (DNA بدون سلول)/ctDNA(DNA در گردش تومور) ۲۱۹
۱۲-٤-۳ miRNA (MicroRNA) ۲۱۹
منابع ۲۲۰

عنـــوان صفحـــه

فصل سیزدهم : نشانگرهای زیستی سرطان‌های مربوط به زنان ۲۲۳
۱۳-۱ تخمدان ، لوله فالوپ و سرطان‌های صفاقی ۲۲۵
۱۳-۱-۱ نشانگرهای زیستی سروم ۲۲۵
۱۳-۱-۱-۱ CA125 ..... ۲۲۵
۱۳-۱-۱-۲ پروتئین انسانی اپیدیدیم ٤ ..... ۲۳۳
۱۳-۱-۱-۳ خطر الگوریتم بدخیمی تخمدان ۲۳٤
۱۳-۱-۱-٤ DNA بدون سلول ۲۳٤
۱۳-۱-۱-٥ متیلاسیون DNA ۲۳٥
۱۳-۱-۱-٦ متابولیتها ۲۳٥
۱۳-۱-۱-۷ MicroRNA ها ۲۳٦
۱۳-۱-۱-۸ RNAهای طولانی غیر کدکننده ۲۳۷
۱۳-۱-۱-۹ آنتی ژن کارسینوآمبریک ۲۳۷
۱۳-۱-۱-۱۰ آلفا-فتوپروتئین ۲۳۸
۱۳-۱-۱-۱۱ اینهیبین ۲۳۸
۱۳-۱-۱-۱۲ سیتوکین ها ۲۳۸
۱۳-۱-۱-۱۳ سایر نشانگرها ۲۳۹
۱۳-۲ سرطان رحم ۲٤۰
۱۳-۲-۱ CA125 ..... ۲٤۰
۱۳-۲-۲ HE4 ..... ۲٤۱
۱۳-۲-۳ سایر نشانگرها ۲٤۱
۱۳-۳ سرطان دهانه رحم ۲٤۲
۱۳-۳-۱ آنتی ژن کارسینومای سلول سنگفرشی ۲٤۲
۱۳-۳-۲ قطعات سرم سیتوکراتین ۲٤۳
۱۳-۳-۳ CA125 ..... ۲٤۳
۱۳-۳-٤ سایر نشانگرها ۲٤۳

عنـوان | صفحـه

منابع ۲٤٤
فصل چهاردهم : نشانگرهای زیستی مزوتلیوما پلور بدخیم ۲۵۷
۱٤–۱ پپتیدهای محلول مرتبط با مزوتلین (SMRPs) ۲۵۹
۱٤–۲ عامل تقویت کننده مگاکاریوسیت (MPF) ۲٦۱
۱٤–۳ OPN ۲٦۲
۱٤–٤ فیبولین –۳ ..... ۲٦۳
۱٤–۵ نشانگرهای زیستی دیگر ۲٦۳
۱٤–۵–۱ فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) ۲٦۳
۱٤–۵–۲ پروتئین گروه ۱ با تحرک بالا (HMGB1) ۲٦٤
۱٤–۵–۳ میدکین ۲٦۵
۱٤–٦ نتیجه گیری ۲٦۵
منابع ۲٦٦

مقدمه مترجم

بیومارکرهـــای سرطان نشـــانگرهایی هســـتند کـــه حاصل ترشح از سلـــول توموری یا حاصل نکروز و آپوپتوز این سلول‌ها هستند. تغییرات اختصاصی مولکول‌های سلول‌های سرطانی در صورتی که قابل اندازه گیری باشند می‌توانند به عنوان بیومارکر معرفی شوند. مولکول‌هـــای مختلـــف از جملـــه DNA، RNA، پروتئین و متابولیـــت می‌توانند به عنوان بیومارکرهای بالقوه باشند. از آنجایی که کتاب جامعی در این زمینه در حال حاضر موجود نمی‌باشـــد بر آن شدیم تا جدیدترین نســـخه از کتاب « بیومارکرهـــا در درمان سرطان» را ترجمه نمائیم تا مورد استفاده محققان ، دانشجویان و اساتیدی که در حوزه زیست پزشکی فعالیت می‌کنند ، قرار گیرد.

ایـــن کتاب شامل ١٤ فصل است که در بخـــش اول مقدمه ای در مورد کاربرد مایعات خـــارج سلولی در تشـــخیص بیماری است و فصل دوم به بحـــث در رابطه با قطعات آزاد DNA در محیـــط خارج سلول پرداخته است. در فصل ســـوم ارتباط آنتی بادی و سرطان بصـــورت کامل بیان شده است، فصل چهـــارم به بیان اهمیت فاکتورهای رگزایی به عنوان یـــک بیومارکر تشـــخیصی پرداخته است. فصل پنجم در رابطه بـــا بیومارکرهای سلولهای بنیـــادی وبحث سلول درمانی سرطان صحبت شده است. فصل ششـــم بحث سرطانهای ناحیـــه سر و گردن و سرطان مری بیان شـــده و در فصل هفتم نقش بیمارکرها در سرطان معـــده توضیح داده شده است. فصل هشـــتم بحث پیرامون بیوپســـی مایـــع در کارسینوم سلول‌هـــای کبدی و فصل نهـــم بحث بیومارکرها و سرطان پانکـــراس می‌باشد. در فصل دهم ارتباط سرطان ریه و بیومارکرها و در فصل یازدهم ارتباط سرطان سینه و بیومارکرها بررســـی شده است. فصـــل دوازده و سیزده به بیان سرطانها ی زنـــان و پروستات و نقش بیومارکرهـــا پرداخته است و در نهایـــت در فصل چهاردهم بیومارکرهای مزوتلیوم پلورال

بدخیم مطرح شده است. این کتاب به بحث بیومارکرهای تشخیصی در سرطانهای مختلف پرداخته وکاربرد این بیومارکرها به عنوان مارکرهای تشـــخیصی جهت شناسایی زودهنگام بیماری‌های مزمن و پیشرونده به خصوص سرطان مطرح شده است.

امیدوارم این کتاب زمینه ساز مطالعات بیشـــتر در مورد بیومارکرهای دخیل در سرطان و راهنمایی برای اساتید و دانشجویان علاقه مند در این زمینه باشد.

با تشکر از تمام دوستانی که در ترجمه و ویراستاری این کتاب مرا همراهی کرده اند.

مهران دهقانیان

کارشناس ارشد ژنتیک انسانی

فصل اول

تشخیص بیوپسی مایع با استفاده از وزیکولهای خارج سلولی

وزیکول خارج سلولی (EV[1]) ساختارهای غشـایی هسـتند کـه توسط سلولها ترشح می‌شوند، که شامل اگزوزومها، میکرو وزیکولها، اجسـاد آپوپتوزی و بسیاری دیگر است. مطالعات اخیر نشـان داد که EVs مرتبط با سرطان نقش محوری را در ساختن محیطهای مطلـوب سلولهـای سرطانی از طریق ارتباطات با سلولهای مختلـف نزدیک یا دور بازی می‌کنـد. در حقیقت ، آنهـا از طریق انتقال اسیدهای نوکلئیک عملکـردی ، پروتئین‌ها و متابولیـت ها، سرکوب سیسـتم ایمنـی، آنژیوژنز و انتقال اپیتلیال مزانشـیمی (EMT[2]) را تحریک می‌کنند. آنها همچنین آنتی ژن‌های مرتبط با تومور را به سلولهای ارائه دهنده آنتی ژن انتقـال می‌دهند. از آنجا که وزیکولهای خـارج سلولی ناشی از سرطان ، خصوصیات مولکولـی سلول اولیه خود را حفظ می‌کنند و سلولهای سرطانی به طور فعال وزیکولهای خـارج سلولـی را در مایعات بدن کـه به راحتی قابـل دسترسی هسـتند، آزاد می‌کنند، وزیکولهای خارج سلولی به عنوان منابع جذاب برای توسعه نشـانگرهای سرطان در نظر گرفتـه می‌شود. در فصل بعد، بیولوژی وزیکولهای خـارج سلولی و همچنین روش‌ها و موضوعات مرتبط با خالص سازی و اندازه گیری نشانگرهای زیستی آنها را شرح می‌دهیم. ما همچنین مروری بر مولکولهای نشـانگر وزیکولهای خارج سلولی ارائه می‌دهیم و در

1. Extracellular vesicles
2. Epithelial-mesenchymal transition

مورد امکان بیوپسی مایع مبتنی بر آنها بحث می‌کنیم.

کلمـــات کلیدی: وزیکولهای خارج سلولی • اگـــزوزوم • سرطان • نمونه برداری مایع • پروتئوم

۱-۱ مقدمه

هر ساله حدود ١٤ میلیون نفر در سراسر جهان مبتلا به سرطان تشخیص داده می‌شوند. توسعه نشـانگرهای زیستی سرطان به عنوان ابزار تشـخیصی برای غربالگری یا مدیریت سرطـان ممکن است نقش مهمی در کاهش مرگ و میـر ناشی از سرطان داشته باشد. در واقـع ، تشـخیص زودهنگام یکی از مؤثرترین روشها برای کاهـش میزان مرگ و میر در سرطـان است. تشـخیص اولیه ممکن اسـت با غربالگری جمعیت عمومـی با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر خون انجام شود. بیوپسی مایع با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر خون همچنیـن ممکن است درمان هدفمند خاص بیمار یا نظارت بر میزان دستیابی به مقاومت دارویی توسط سلولهای تومور را بررسی کند [۱]. سلولهای توموری در گردش (CTCs[1]) و DNA عاری از سلول (cfDNA[2]) مواد امیدوار کننده ای برای بیوپسـی مایع هسـتند. با این حال ، چندین موضوع هنوز حل نشـده است، به ویژه در مورد حساسیت وزیکولهای خارج سلولی [۲] که وزیکولهای غشـایی هسـتند و توسط هر نوع سلول در بدن ما آزاد می‌شوند. عملکـرد وزیکولهای خارج سلولی شامل حفظ هموستـاز سلولی و ارائه آنتی ژن داخـل سلولـی است [۳,٤] . انواع مختلفی از استرس‌ها مانند هیپوکسـی ، تغییر pH ، استرس اکسیداتیو ، فشار برشی یا تابش ، باعث ترشح وزیکولهای خارج سلولی می‌شود [۵]. سلول‌هـای سرطانی به طور فعـال وزیکولهای خارج سلولی را حتی در مرحله اولیه بیماری ترشح می‌کنند [٦]. وزیکولهای خارج سلولی حاوی محموله‌های زیست مولکولی هسـتند که از آنزیم‌های تخریب کننده در مایعات بدن محافظت می‌شوند [۷,۸] به عنوان مثال، cfDNAها به شدت در خون تخریب می‌شوند ، که به طور معمول به عنوان قطعات

1. Circulating tumor cells
2. cell-free DNA

کوتـاه با کمتر از ۱۰۰ جفت باز تشـخیص داده می‌شونـد [۸]. در مقابل ، قطعات DNA در وزیکولهـای خـارج سلولی DNA از ۱۰۰ جفت باز تا ۱۷ کیلوباز دیده می‌شود، و این نشان می‌دهد که طیف وسیع تری از اطلاعات ژنتیکی در EV-DNAها قابل دستیابی است [۹]. حفاظت از محموله‌های RNA در مقابل RNase در مایعات زیسـتی توسط وزیکولها همچنین عمق تجزیه و تحلیل ترانسـکریپتوم توسط NGS را افزایش می‌دهد [۱۰]. علاوه بر این، محموله‌های وزیکولهای خارج سلولی مسـتقیماً مشـخصات منابع آنها را منعکس می‌کنند. در واقع، جهشهای NOTCH1 ، TP53 ، KRAS و BRCA2 در وزیکولهای خارج سلولـی بیو فلوئید از بیماران مبتلا به سرطان لوزالمعده و سرطان آمپولار تشـخیص داده شدنـد [۱۰]. وزیکولهای خارج سلولی مربوط به سرطـان همچنین حاوی محموله‌های پروتئینی مخصوص سرطان است.

NYO-ESO-1 و TP53 در وزیکولهـای خارج سلولی از سرم بیماران مبتلا به سرطان تشـخیص داده شد ، که می‌تواند اهداف موثری برای بیوپسـی مایـع سرطان باشد [۱۱]. مطالعـات اخیر درباره وزیکولهای خارج سلولی به عنوان نشـانگرهای زیسـتی سرطانی عمدتـاً روی اسیدهـا و پروتئینهای نوکلئیک متمرکز شده اسـت. گزارش‌ها حاکی از آن است که عملکرد تشخیصی اسیدهای نوکلئیک بسیار عالی است ، اما چندین مشکل عمده هنوز حل نشـده است. این مسـائل اساساً از روشهای تصفیـه وزیکولهای خارج سلولی ناقـص ناشی می‌شوند. از طرف دیگر ، گزارش‌های مربـوط به پروتئین‌های وزیکولهای خـارج سلولی با سرعت ثابت جمع می‌شوند. این پروتئین‌های وزیکولهای خارج سلولی اکنـون در پایگاه‌های داده عمومی فهرست بندی می‌شوند و می‌توانند در متاآنالیزها مورد استفـاده قرار گیرند. برای فن آوری‌های تشـخیص ، روش ایمنـی تحریک کننده ایمنی مرتبط با آنزیم (EVmicroarray ، (ELISA[1] و ExoScreen به طور گسترده ای در اندازه گیری نشـانگرهای زیسـتی پروتئین وزیکولهای خارج سلولی استفاده می‌شود [۱۳,۱٤]. این روشها در کاربردهای بالینی از نشـانگرهای زیستی پروتئین وزیکولهای خارج سلولی مزیت قابل توجهی دارند زیرا غلظت پروتئین وزیکولهای خارج سلولی را می‌توان به طور مسـتقیم و بدون تصفیه آنها اندازه گیری کرد. در این فصل ، نشـانگرهای زیستی پروتئین

1. enzyme-linked immunosorbent assay

وزیکولهـای خـارج سلولی گزارش شده است (جـدول ۱,۱) ، و پس از آن مقادیر بالینی برای بیوپسی مایع مبتنی بر وزیکولهای خارج سلولی در نظر گرفته شده است.

جدول۱,۱ : نشانگرهای پروتئینی زیستی EV که برای تشخیص سرطان گزارش شده است.

Type of cancer	Author, year	Number of samples	Type of assay	Target
NSCLC	Wang, 2018	153	ELISA	Lipopolysaccharide-binding proteins
	Sandfeld, 2016	276	EV array	NY-ESO-1
	Ueda, 2014	178	ELISA	CD91
	Yamashita, 2013	9	ELISA	EGFR
Breast cancer	Moon, 2016	169	ELISA	DEL-1
	Lee, 2018	111		
	Toth, 2008	66	FCM	CD45+ LMP
	Salma, 2014	50	ELISA and WB	Survivin, survivin-2B
	Kibria, 2016	120	Micro FCM	CD47
Colorectal cancer	Yoshioka, 2014	385	ExoScreen	CD147
Renal cell carcinoma	Jingushi, 2017	29	LC/MS	AZU1
Melanoma	Peinado, 2012	36	WB	TYRP2

NSCLC non-small cell lung cancer, *EGFR* epidermal growth factor receptor, *DEL-1* developmental endothelial locus-1, *FCM* flow cytometry, *LMP* leukocyte-derived microparticles, *WB* western blotting, *LC/MS* liquid chromatography-mass spectrometry, *AZU1* azurocidin, *TYRP2* tyrosinase-related protein 2

جدول۱,۲: مطالعات در مورد بیوپسی مایع EVS

Type of cancer	Author, year	Target	Utility of liquid biopsy
NSCLC	Lino, 2018	BRAF, EGFR, and KRAS mutations in exoNA	NGS of plasma exoNA for common BRAF, KRAS, and EGFR mutations has high sensitivity compared with clinical testing of tumor and plasma cfDNA
	Elena, 2018	EGFR T790M mutation	The combination of exoRNA/DNA and cfDNA for T790M detection has higher sensitivity and specificity compared with historical cohorts using cfDNA alone
Breast cancer	Yang, 2017	GSTP1 mRNA expression	GSTP1 mRNA containing exosomes predicted clinical outcome of breast cancer with anthracycline/taxane-based chemotherapy
	Wang, 2017	Exosome-carrying TRPC5	Exo-TRPC5 level predicted acquired chemoresistance to anthracycline/taxane-based chemotherapy
	Fang, 2017	Exosomal HER2	Exosomal HER2 expression levels were almost consistent with that in tumor tissue expression
Pancreatic cancer	Allenson, 2017	Mutant KRAS in exoDNA	Mutant KRAS exoDNA was detected in 43.6% of early-stage PDAC patients
Prostate cancer	Kharaziha, 2015	MDR-1, MDR-3, endophilin-A2, and PABP4	Comparative proteomics analysis of exosomes secreted from cell lines showed the candidates of biomarkers for response to docetaxel therapy

NSCLC non-small cell lung cancer, *NGS* next-generation sequences, *EGFR* epidermal growth factor receptor, *BRAF* v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, *KRAS* Kirsten rat sarcoma viral oncogene, *exoNA* exosomal nucleic acids, *cfDNA* cell-free DNA, *GSTP1* glutathione S-transferase P, *TRPC5* short transient receptor potential channel 5, *HER2* human epidermal growth factor receptor 2, *MDR* multidrug resistance, *PABP4* poly(A)-binding protein

۱-۲ نشانگرهای عمومی در مورد وزیکولهای خارج سلولی به عنوان نشانگرهای زیستی

۱-۲-۱ خصوصیات مولکولی وزیکولهای خارج سلولی

براســاس فرآیندهای زیســت زایی و اندازه ذرات ، وزیکولهــای خارج سلولی به سه گروه اصلی طبقه بندی می‌شوند. اگزوزومها به اندازه ۲۰۰-۳۰ نانومتر هســتند و به عنوان وزیکول داخل شکمی (ILVs[1]) در لومن اجســام چند وجهی (MVBs[2]) تشکیل می‌شوند. MVBها با غشای پلاسمایی برای آزاد سازی ILVها الحاق می‌شوند. اگزوزومهای حاصل از سلولهای سرطانی حاوی آنتی ژنهای مرتبط با تومور هســتند و این آنتی ژنها می‌توانند سلولهای دندریتیک را دگرگون کنند. میکرو وزیکولها ، که قطر ۱۰۰-۱۰۰۰ نانومتر دارند ، هنگامی تشــکیل می‌شوند که غشاهای سلولی به طور جزئی از آن جدا شوند و مستقیماً از سلولهای مبدا آزاد شوند. اجســام آپوپتوزی ذرات نســبتاً بزرگی (۵۰۰-۲۰۰۰ نانومتر) هستند و در اواخر مرحله آپوپتوز تشکیل می‌شوند. انواع کمتری از اجسام آپوپتوزی (قطر تقریباً ۵۰۰ نانومتر) نیز حاوی آنتی ژن داخل سلولی هستند [۱۶]. زیرگروه‌های وزیکولهای خارج سلولی دارای پروفایل‌های مختلف محموله هســتند که نشان می‌دهد نقش آنها نیز ممکــن است متفاوت باشد. اعضای خانواده تتراسپانین (CD9,CD63,CD81) معمولاً به عنوان نشانگرهای اگزوزوم مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال ، این عوامل همچنین در اجســام آپوپتوزی و میکرووزیکولها دیده شده است. این پروتئین‌ها همچنین بر روی سطــح سلول بیان شــده و بنابراین در انواع دیگر وزیکولهای خــارج سلولی که با جوانه زدن مســتقیم از غشــای پلاسما تولید می‌شوند ، دیده می‌شوند. گزارشهای مختلف نشان داده‌اند که CD63 ، CD9 و CD81 نه تنها در اگزوزومها بلکه در میکروزیکولها یا اجسام آپوپتوزی نیز فراوان هستند. بنابراین ، عوامل دیگری برای تمایز در بین این انواع مختلف وزیکولهای خارج سلولی مورد نیاز است [۱۸].

1. Intraluminal vesicles
2. Multivesicular bodies

۱-۲-۲ روش‌های خالص سازی و تشخیص برای نشانگرهای زیستی EV

اندازه گیری اسیدهای نوکلئیک ، مانند RNA یا DNA ، در وزیکولهای خارج سلولی‌ها بایـد با مراحل جداسـازی مناسب آنها همراه باشد. مسـئله ای که پیش می‌آید اینسـت کـه جمعیت وزیکولهـای خارج سلولی بدست آمده با توجه بـه روشهای تصفیه استفاده شده متفـاوت است [۱۹]. روش‌هـای موجود در دسترس برای جداسـازی وزیکولهای خارج سلولی ، مانند اولتراسانترافت ، کروماتوگرافی ،گرفتن مبتنی بر آنتی بادی و سیستم میکروسیالی دارای مزایا و معایبی است. بنابراین ، بهینه سازی روشی که بالاترین خلوص جمعیـت مورد نظر را به دست آورد ، ضروری است [۱۸]. تجزیه و تحلیل پروتئین نقش مهمی در شناسایی نشـانگرهای زیستی در بین اهداف پروتئین ایفا می‌کند. یک استراتژی تحلیلـی جدید بـرای آنالیز پروتئوم تهیه شـده است. این تکنیـک از وزیکولهای خارج سلولی که مسـتقیماً از بافتهـای تازه جراحی ترشح می‌شود به جـای آنکه از نمونه‌های خون بیمار یا رده‌های سلولی کشـت گرفته شود استفاده می‌کند. این روش امکان بدست آوردن وزیکولهـای خـارج سلولی با خلوص بـالا و خاص ارگانیسـم را فراهم کرده و تجزیـه و تحلیل عمیق OMICS از وزیکولهای خارج سلولی را اجازه می‌دهد [۱۹] برای انـدازه گیری اهداف پروتئین بیان شده در وزیکولهای خارج سلولی ، ایمونواسی‌ها اغلب بـا استفاده از یک جفـت آنتی بادی به کـار می‌روند. پس از گرفتـن وزیکولهای خارج سلولـی توسط آنتی بادی ضد تتراسپانین ، مانند آنتی بادی ضد CD9 ، ضد CD63 یا ضد CD81 ، یک آنتی بادی هدفمند می‌تواند پروتئین نشانگر سطح هدفمند وزیکولهای خارج سلولی (EV sandwich ELISA) را تشخیص دهد. این روش امکان شناسایی نشانگرهای زیستی را که مستقیماً از نمونه‌های مایعات بدن به روش توان بالا و بدون هرگونه فرآیند جداسـازی ، بر روی وزیکولهای خارج سلولی بیان شده است ، نشـان می‌دهد. این نکته برای کاربردهای بالینی یک مزیت بزرگ است [۲۰].

۱-۲-۳ نشانگرهای زیستی پروتئینی وزیکولهای خارج سلولی

مطالعات زیست نشانگر وزیکولهای خارج سلولی برای سرطان ریه فراهم شده است. اودا و همکاران [۲۱] روی اگزوزوم جدا شده از سرم بیماران مبتلا به سرطان ریه تجزیه

و تحلیل پروتئوم انجام دادند و ۱۳۶۹ پروتئین شناسایی شده است. محققان با موفقیت بین بیمـــاران مبتلا به آدنوکارسینوما ریه و کنترل (اهدا کنندگان سالم و بیماریهای خوش خیم ریـــه) با استفاده از آنتی ژن Exo-CD91 تفکیک ایجاد کردند. Jakobsen و همکاران [۲۲] و Sandfeld-Paulsen و همکـــاران [۱۱] بیومارکرهای پروتئینی را در نمونه‌های پلاسما از بیماران مبتلا به سرطان ریه با استفاده از ریزآرایه‌های EV تجزیه و تحلیل کردند و ارتباط بین NY-ESO-1 و پیش آگهی را گزارش داد.ند.

مهرمان و همکارانش با بیوپســـی مایع از بافت سرطان ریـــه اسیدهای نوکلئیک غربال شده در اگزوزومها (exoNA[1]) جهشهای درایور KRASG12 / G13 ، BRAFV600 و EG-FRexon19del / L858R را شناسایی کرد. این جهش‌ها در exoNA با حســـاسیت بیشتری نسبت به cfDNA مشاهده شدند [۲۳]. علاوه بر این، Castellanos–Rizaldos و همکاران گـــزارش موفقیت آمیز جهش EGFR T790M در exoNA ، که مســـئول مقاومت دارویی EGFR TKI است را گزارش داده‌اند [۲٤].

DEL-1، کـــه از طریـــق تجزیـــه و تحلیل LC-MS / MS سرم بیمـــاران مبتلا به سرطان پســـتان مشـــخص می‌شود ، در یک مطالعه گذشته نگر با استفاده از ELISA از نظر بالینی دارای ارزش بالینی است. تشخیص DEL-1 بر روی وزیکولهای خارج سلولی در گردش، تشـــخیص سرطان پســـتان در مراحل اولیه و تبعیض سرطان پستان از بیماری خوش خیم پســـتان را تســـهیل می‌کند [۲۵] سلما و همکاران. نشـــان می‌دهد که EV-Survivin ممکن است در تشخیص سرطان پستان مفید باشد [۲٦]. کیبریا و همکاران نشان می‌دهد که EV-CD47 ممکن است یک نشـــانگر مهم سرطان پســـتان باشد [۲۷]. توت و همکاران مقایسه نمونـــه خون از بیمـــاران مبتلا به سرطان پســـتان و افراد سالم با استفـــاده از مرتب سازی سلول‌هـــای فعال شده بـــا فلورسانس (FACS[2])انجام دادند و آنها گـــزارش کردند که ریز ذرات مشتق از لکوسیت CD45 + از حساسیت و ویژگی های مشابه با نشانگرهای موجود CA15–3 برخوردار است [۲۸]. GSTP1 و TRPC5 ممکن است به عنوان عوامل پیش بینی کننده منفی برای رژیم‌های شیمی درمانی مبتنی بر آنتراسایکلین / تاکسان در بیماران مبتلا

1. Nucleic acids in exosomes

2. F fluorescence-activated cell sorting

به سرطان پستان مفید باشد[۲۹,۳۰] فنگ و همکاران گزارش دادند که اگزوزوم HER2 مثبت در پلاسما از بیماران مبتلا به سرطان پستان با بیان HER2 در بافت سرطان پستان ارتباط مثبت دارد [۳۱].

یوشیوکا و همکاران ExoScreen و CD147 را به عنوان نشانگرهای مهم پروتئین وزیکولهای خارج سلولی برای سرطان کولورکتال گزارش کرده است [۱٤]. آلنسون و همکاران گزارش KRAS جهش یافته در exoDNA از بیماران مبتلا به سرطان لوزالمعده در مراحل اولیه را داده اند. [۳۲]. جینگوشی و همکاران AZU1 به عنوان یک بیومارکر کاندید از طریق تجزیه و تحلیل پروتئوم سلولهای کارسینومای کلیوی -EV اگزوداتیو- بافت کلیه شناخته‌اند [۳۳]. تجزیه و تحلیل طیف سنجی جرمی اگزوزومهای مشتق از تومور، VLA ، TYRP2-٤ و HSP70 را به عنوان کاندیدای بیومارکر بودن نشان داد .[۳٤] خوارزیها و همکاران تجزیه و تحلیل پروتئوم از اگزوزوم‌های مشتق از سلول تومور سرطان پروستات را برای شناسایی عوامل پیش بینی کننده برای درمانdocetaxel انجام داده‌اند و نتایج آنها حاکی از آن است که endophilin-A2 ، MDR-3 ، MDR-1 و PABP4 ممکن است کاندیدهای بیومارکری باشند [۳۵].

خلاصه

وزیکولهای خارج سلولی منابع جذابی برای بیوپسی مایع سرطان هستند. برخی از گزارشات قبلاً نتایج مطلوبی در توسعه فناوریهای تشخیص سرطان مبتنی بر وزیکولهای خارج سلولی نشان داده بودند. با این حال ، هنوز هم چالش‌های بزرگی برای کاربردهای بالینی از جمله استاندارد سازی روش‌های تصفیه آنها و درک ناقص از خصوصیات و ترکیب مولکولی آنها وجود دارد. با غلبه بر این موارد ، غربالگری جمعیت عمومی با نشانگر وزیکولهای خارج سلولی ممکن است به تشخیص زودهنگام سرطان و کاهش میزان مرگ و میر سرطان منجر شود.

منابع

1. Ahronian LG, Corcoran RB. Strategies for monitoring and combating resistance to combination kinase inhibitors for cancer therapy. Genome Med. 2017;9(1):37. https://doi.org/10.1186/s13073-017-0431-3.

2. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, Diehn M, Hurley P, Lazar AJ, et al. Circulating tumor DNA analysis in patients with cancer: American society of clinical oncology and college of American pathologists joint review. J Clin Oncol. 2018;36(16):1631–41. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.76.8671.

3. Takahashi A, Okada R, Nagao K, Kawamata Y, Hanyu A, Yoshimoto S, et al. Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells. Nat Commun. 2017;8:15287. https://doi.org/10.1038/ncomms15287.

4. Smith VL, Cheng Y, Bryant BR, Schorey JS. Exosomes function in antigen presentation during an in vivo Mycobacterium tuberculosis infection. Sci Rep. 2017;7:43578. https://doi.org/10.1038/srep43578.

5. Kucharzewska P, Belting M. Emerging roles of extracellular vesicles in the adaptive response of tumour cells to microenvironmental stress. J Extracell Vesicles. 2013;2:20304. https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20304.

6. Abak A, Abhari A, Rahimzadeh S. Exosomes in cancer: small vesicular transporters for cancer progression and metastasis, biomarkers in cancer therapeutics. PeerJ. 2018;6:e4763. https://doi.org/10.7717/peerj.4763.

7. Huang X, Yuan T, Tschannen M, Sun Z, Jacob H, Du M, et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. BMC Genomics. 2013;14:319. https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-319.

8. Ridder K, Keller S, Dams M, Rupp AK, Schlaudraff J, Del Turco D, et al. Extracellular vesicle-mediated transfer of genetic information between the hematopoietic system and the brain in response to inflammation. PLoS Biol. 2014;12(6):e1001874.

https:/ doi.org/10.1371/journal.pbio.1001874.

9. Kalluri R, LeBleu VS. Discovery of double-stranded genomic DNA in circulating exosomes. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 2016;81:275–80. https://doi.org/10.1101/ sqb.2016.81.030932.

10. San Lucas FA, Allenson K, Bernard V, Castillo J, Kim DU, Ellis K, et al. Minimally invasive genomic and transcriptomic profiling of visceral cancers by next-generation sequencing of circulating exosomes. Ann Oncol. 2016;27(4):635–41. https://doi.org/10.1093/annonc/mdv604.

11. Sandfeld-Paulsen B, Aggerholm-Pedersen N, Baek R, Jakobsen KR, Meldgaard P, Folkersen BH, et al. Exosomal proteins as prognostic biomarkers in non-small cell lung cancer. Mol Oncol. 2016;10(10):1595–602. https://doi.org/10.1016/j.molonc.2016.10.003.

12. Rosa-Fernandes L, Rocha VB, Carregari VC, Urbani A, Palmisano G. A perspective on extracellular vesicles proteomics. Front Chem. 2017;5:102. https://doi.org/10.3389/ fchem.2017.00102.

13. Jorgensen M, Baek R, Pedersen S, Sondergaard EK, Kristensen SR, Varming K. Extracellular vesicle (EV) array: microarray capturing of exosomes and other extracellular vesicles for multiplexed phenotyping. J Extracell Vesicles. 2013;2:20920. https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20920.

14. Yoshioka Y, Kosaka N, Konishi Y, Ohta H, Okamoto H, Sonoda H, et al. Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular

15. Wolfers J, Lozier A, Raposo G, Regnault A, Thery C, Masurier C, et al. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. Nat Med. 2001;7(3):297–303. https://doi.org/10.1038/85438.

16. Schiller M, Bekeredjian-Ding I, Heyder P, Blank N, Ho AD, Lorenz HM. Autoantigens are translocated into small apoptotic bodies during early stages of apoptosis. Cell Death Differ. 2008;15(1):183–91. https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402239.

17. Crescitelli R, Lںsser C, Szab´TG, Kittel A, Eldh M, Dianzani I, et al. Distinct RNA profiles in subpopulations of extracellular vesi-

cles: apoptotic bodies, microvesicles and exosomes. J Extracell Vesicles. 2013;2:20677. https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20677.

18. Willms E, Cabanas C, Mager I, Wood MJA, Vader P. Extracellular vesicle heterogeneity: subpopulations, isolation techniques, and diverse functions in cancer progression. Front Immunol. 2018;9(738):738. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00738.

19. Buschmann D, Kirchner B, Hermann S, Mۏrte M, Wurmser C, Brandes F, et al. Evaluation of serum extracellular vesicle isolation methods for profiling miRNAs by next-generation sequencing. J Extracell Vesicles. 2018;7(1):1481321. https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1481321.

20. Li W, Li C, Zhou T, Liu X, Liu X, Li X, et al. Role of exosomal proteins in cancer diagnosis. Mol Cancer. 2017;16:145. https://doi.org/10.1186/s12943-017-0706-8.

21. Ueda K, Ishikawa N, Tatsuguchi A, Saichi N, Fujii R, Nakagawa H. Antibody-coupled monolithic silica microtips for highthroughput molecular profiling of circulating exosomes. Sci Rep. 2014;4:6232. https://doi.org/10.1038/srep06232.

22. Jakobsen KR, Paulsen BS, Baek R, Varming K, Sorensen BS, Jorgensen MM. Exosomal proteins as potential diagnostic markers in advanced non-small cell lung carcinoma. J Extracell Vesicles. 2015;4:26659. https://doi.org/10.3402/jev.v4.26659.

23. Mohrmann L, Huang HJ, Hong DS, Tsimberidou AM, Fu S, Piha-Paul SA, et al. Liquid biopsies using plasma exosomal nucleic acids and plasma cell-free DNA compared with clinical outcomes of patients with advanced cancers. Clin Cancer Res. 2018;24(1):181–8. https://doi. org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2007.

24. Castellanos-Rizaldos E, Grimm DG, Tadigotla V, Hurley J, Healy J, Neal PL, et al. Exosome-based detection of EGFR T790M in plasma from non-small cell lung cancer patients. Clin Cancer Res. 2018;24(12):2944–50. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3369.

25. Moon PG, Lee JE, Cho YE, Lee SJ, Jung JH, Chae YS, et al. Identification of developmental endothelial locus-1 on circulat-

ing extracellular vesicles as a novel biomarker for early breast cancer detection. Clin Cancer Res. 2016;22(7):1757–66. https://doi.org/10.1158/1078-0432. CCR-15-0654.

26. Khan S, Bennit HF, Turay D, Perez M, Mirshahidi S, Yuan Y, et al. Early diagnostic value of survivin and its alternative splice variants in breast cancer. BMC Cancer. 2014;14:176. https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-176.

27. Kibria G, Ramos EK, Lee KE, Bedoyan S, Huang S, Samaeekia R, et al. A rapid, automated surface protein profiling of single circulating exosomes in human blood. Sci Rep. 2016;6:36502. https://doi.org/10.1038/srep36502.

28. Toth B, Nieuwland R, Liebhardt S, Ditsch N, Steinig K, Stieber P, et al. Circulating microparticles in breast cancer patients: a comparative analysis with established biomarkers. Anticancer Res. 2008;28(2A):1107–12.

29. Yang SJ, Wang DD, Li J, Xu HZ, Shen HY, Chen X, et al. Predictive role of GSTP1-containing exosomes in chemotherapy-resistant breast cancer. Gene. 2017;623:5–14. https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.04.031.

30. Wang T, Ning K, Lu TX, Sun X, Jin L, Qi X, et al. Increasing circulating exosomes-carrying TRPC5 predicts chemoresistance in metastatic breast cancer patients. Cancer Sci. 2017;108(3):448–54. https://doi.org/10.1111/cas.13150.

31. Fang S, Tian H, Li X, Jin D, Li X, Kong J, et al. Clinical application of a microfluidic chip for immunocapture and quantification of circulating exosomes to assist breast cancer diagnosis and molecular classification. PLoS One. 2017;12(4):e0175050. https://doi.org/10.1371/journal. pone.0175050.

32. Allenson K, Castillo J, San Lucas FA, Scelo G, Kim DU, Bernard V, et al. High prevalence of mutant KRAS in circulating exosome-derived DNA from early-stage pancreatic cancer patients. Ann Oncol. 2017;28(4):741–7. https://doi.org/10.1093/annonc/mdx004.

33. Jingushi K, Uemura M, Ohnishi N, Nakata W, Fujita K, Naito T, et al. Extracellular vesicles isolated from human renal cell