

Prostasomer och exosomer – cellbudbärare med terapeutisk potential



GUNNAR RONQUIST, f d överläkare, adjungerad professor, Institutionen för medicinska

vetenskaper, klinisk kemi, Akademiska sjukhuset, Uppsala
gunnar.ronquist@akademiska.se

När vi för mer än 25 år sedan rapporterade våra första fynd om närvaron av membranomgärdade, organellära strukturer i prostatavätska (exprimat) och seminalplasma [1, 2] möttes vi med stor skepsis. Huvudinvändningen var att organellära, membranomgärdade strukturer inte kunde existera extracellulärt under fysiologiska förhållanden – dessa organeller var förbehållna det intracellulära rummet in vivo. En rad studier gav emellertid entydiga hållpunkter för att dessa globulära strukturer var en exklusiv sekretionsprodukt av prostatakörtelns acinära celler [3], och vi myntade begreppet »prostasomer« 1982 [4].

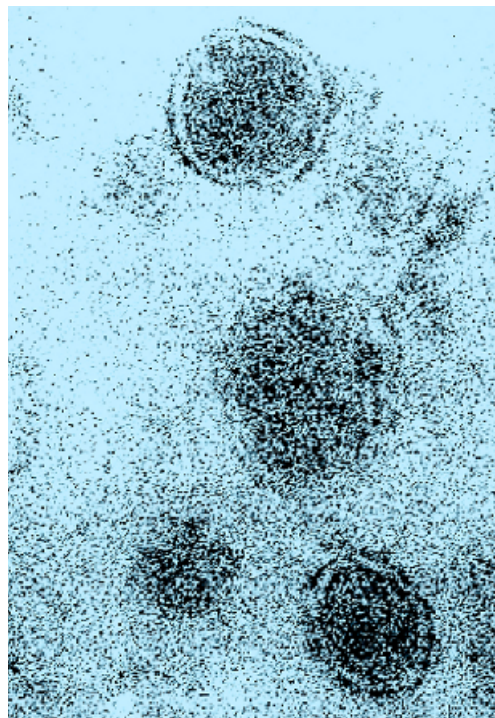
Extracellulär existens möjlig

Immunhistokemiska undersökningar med monoklonala antikroppar riktade mot renade prostasomer kunde senare tydligt påvisa de acinära prostatacellernas inblandning i produktionen och sekretionen av dessa prostasomer [5]. Hur kunde då membranomgärdade prostasomer uppträda extracellulärt under fysiologiska förhållanden (Figur 1)? Det visade sig att prostasomerna intracellulärt bildades och lagrades i vad vi kom att benämna »lagringsvesiklar«, som var mycket snarlika, om inte identiska med, MVB (multivesicular bodies) av Golgiursprung [3]. Dessa lagringsvesiklar (MVB) var i sin tur membranomgärdade och kunde efter fusion med den acinära cellens plasmamembran tömma ut sitt innehåll, dvs de membranomgärdade prostasomerna, direkt i körtellumina via exocytos [3, 6].

Ytterligare undersökningar av prostasommembranet avslöjade ett säregat lipidmönster, med hög andel av fosfolipiden sfingomyelin, som jämte kolesterol bildade en särklassigt hög kolesterol/fosfolipidkvot, som var ca 2; något som kan jämföras med t ex spermie-membranets (och de flesta andra cellers plasmamembran) kvot kring 0,70 [7]. Denna egendomliga lipid-sammansättning är kanske avgörande för prostasomernas kommunikativa roll mellan celler. Ävenså har masspektrometrisk undersökning av prostasomer visat ett mycket brokigt proteinmönster, där en tredjedel utgjordes av diverse enzymer [8].

Prostasomernas pluripotens gynnar spermerna

Genom sin interaktionsförmåga med spermier, som visats på flera sätt [9–11], kan prostasomerna förlåna spermerna många



Figur 1. Transmissionselektronmikroskopi av prostasomer isolerade ur seminalplasma i kraftig uppförstoring (× 250 000). Omgärdande dubbelmembran framträder tydligt.

Bild: Isser Brody

förmågor, till gagn för det slutliga uppdraget – att penetrera zona pellucida och befrukta ägget. Prostasomer befördrar den framåtriktade spermierörligheten och framkallandet av hyperaktiva spermier [12, 13]. De påverkar kapacitering och akrosomreaktion, som är två obligatoriska moment som måste föregå spermies konfrontation med ägget för att den skall bli lyckosam. Prostasomerna med sitt kolesterolinnehåll anses kunna förhindra prematur aktivering av spermerna [14]. Samtidigt kan ett speciellt hydrolytiskt enzym hos prostasomerna överföras till spermerna [15], vilket är kritiskt för själva igångsättandet av akrosomreaktionen [16].

Spermier uppfattas som kroppsfrämmande celler i kvinnliga genitaltraktus och är därför naturliga mål för kvinnans immunförsvar och komplementsystem. Prostasomerna är potent immun-suppressiva och därför effektiva livvakter åt spermerna [17, 18]. Likaså kan prostasomerna genom direkt överföring av ett skyddande protein till spermerna förhindra komplementsystemets härjningar [19, 20]. Spermerna är konstitutionellt ovanligt känsliga gentemot fria radikalangrepp, men även här ger prostasomerna ett betydande skydd [21]; likaså finns en prostasomal skyddsanordning gentemot bakterieangrepp [22].

Prostasomernas Janusansikte

Efter den reproduktiva perioden, dvs efter 50-årsåldern hos de flesta män, synes de egenskaper hos prostasomer som favoriserar mannens reproduktion vändas inåt till att gynna cancer-cell

SAMMANFATTAT

Prostasomer och exosomer är små organellära strukturer, som uppträder extracellulärt.

De omges av ett membran med komplex uppbyggnad.

De kan fungera som intercellulära budbärare och kan vara ett alternativ/komplement till

cell-cellinteraktion.

Dendritiska celler från cancerpatienter kan bilda och frisätta exosomer med högt innehåll av tumörrejektionsantigen.

Exosomer har börjat användas som antitumörvacciner.

lers reproduktion och spridning hos själva värdorganet, dvs prostatakörteln. Således kan prostasomerna inte a priori frikännas från misstanken att de kan vara medansvariga för den exempellöst höga prostatacancerprevalensen hos män över 50 års ålder [23].

I sammanhanget kan det vara värt att påpeka att den andra större accessoriska könskörteln, som egentligen är två (säd-blåsor) och som inte producerar och utsöndrar några prostasomer, har extremt låg prevalens och incidens av primär cancer. Det må framhållas att prostatacancercellerna i hög grad har bibehållit sin förmåga till prostasombildning och export till det extracellulära rummet [24-28]. Härigenom kommer prostasomerna att omge cancercellen och i denna extracellulära position utgöra ett eminent hinder för såväl immun- som komplementsystemen att utföra sin plikt att förrinta denna fiendecell.

Till yttermera visso kan prostasomerna utgöra utmärkta hjälpmedel för att befördra rörligheten i cancercellerna, något som gynnar deras metastasering. Det har visat sig att flera kritiska funktioner härför är uppreglerade i prostasomer som härrör från prostatacancerceller, jämfört med seminala prostasomer, som har sitt ursprung i normala celler [29-31].

Exosomernas cellulära ursprung

Många, kanske de flesta, celler synes ha förmåga till bildning av exosomer. Begreppet »exosom« myntades av Rose Johnstone och medarbetare 1987, som studerade retikulocyter och deras omvandling till erythrocyter [32]. Precis som i fallet med prostasomer tycks exosomer ha sitt ursprung i Golgiapparaten och härbärgeras inne i cellen i de tidigare omtalade multivesikulära kropparna (MVB) [32], som sannolikt är liktydiga med de av oss benämnda lagringsvesiklarna i de sekretoriska prostatacellerna [3]. MVB med sitt innehåll av exosomer kan ingå fusion med plasmamembranet, varefter exosomer frisätts till det extracellulära rummet på likartat sätt som beskrivits ovan för prostasomer [32].

Liknande fenomen har sedan observerats för en rad andra celler som B-lymfocyter, dendritiska celler (DC), T-celler, mastceller, trombocyter och epiteliala celler [33]. Exosomernas funktion tycks variera beroende på vilken cell eller celltyp de härrör från.

Exosomer från immunceller

Exosomer från immunceller synes kunna modulera immunsvaret i kraft av sitt innehåll av molekyler som är involverade i antigenpresentationen. Av särskild betydelse är MHC I och II samt adhesionsmolekyler. Så tycks t ex DC-exosomer kunna mediera överföringen av MHC klass II-peptidkomplex till en »intermediär« mottagare, som kan vara en DC-cellgranne, varefter aktivering av CD4-positiva T-celler är möjlig [34]. Härigenom åstadkoms ett förstärkt immunsvaret, eftersom antalet celler som bär på de relevanta MHC-peptidkomplexen har ökat. Sådana interaktioner blir möjliga tack vare de närvarande adhesionsmolekylerna på exosomerna.

Förutom antigenpresentation synes också DC-exosomer kunna befrämja överlevnaden av naiva CD4-positiva T-celler via NFκB-aktivering [35]. Således har det visat sig i djurförsök att priming av cytotoxiska T-celler kan åstadkommas med hjälp av DC-exosomer, varvid en rejektion av tumörer inträffat, som uttryckt de relevanta antigenerna [36]. Sådana exosomer kan också stimulera till NK-cellaktivering hos immunkompetenta möss och ge upphov till NK-cellberoende antitumöreffekter. Dessa resultat har varit utgångspunkten för kliniska försök som påbörjats [37].

I en förlängning har man också tänkt sig olika vaccinationsstrategier, där man använt sig av exosomer från tumörceller

FAKTA 1

Prostasomer och exosomer är nyupptäckta kommunikatörer mellan celler. De är små (100–150 nm i medeldiameter), membranomgärdade, globulära strukturer med en mycket komplex membransammansättning vad beträffar både protein- och lipiduppsättning. **De kan interagera** med andra celler och därmed överföra budskap i form av diverse mo-

lektyler från »budscapsellen« (varifrån de härrör) till mottagarcellen.

Härigenom effektiviseras den konventionella cell-till-cell-kommunikationen (1:1-stökiometri). I stället kan en enda sådan budscapsell, via dessa små globulära strukturer, nå ut till mångdubbelt fler mottagarceller med sitt budskap.

FAKTA 2

Prostasomerna tycks ha ett exklusivt ursprung i prostatakörtels acinära, sekretoriska celler.

Dessa prostataceller kan via prostasomer i sitt sekret påverka spermerna i ejakulatet på flera sätt för att gynna spermernas farofyllda färd till ägget för befruktning.

Prostatacancerceller har visat sig kunna behålla förmågan till syntes och export av prostasomer till det extracellulära rummet. Här kan dessa prostasomer verka i för cancer-

cellen gynnsam riktning genom att stimulera rörligheten och motverka kroppens försvarsmekanismer genom immunsuppression och hämning av komplementsystemet.

På så vis framstår prostasomer som opålitliga med dubbla lojaliteter:

Först är de ett viktigt rekvisit i den mänskliga reproduktionen, för att senare i livet låta sig utnyttjas i reproduktionen och spridningen av prostatacancerceller.

FAKTA 3

Exosomer kan frisättas från flertalet celler i kultur.

Dessutom finns starka hållpunkter för närvaro av exosomer i blodplasma, maligna och pleurala utgjutningar och i urin, något som ger stöd åt en in vivo-existens av exosomer.

Intresset för exosomer ökade

påtagligt sedan det visat sig att de fanns i antigenpresenterande celler och att de kan stimulera immunsvaret in vivo.

Fas I-studier har inletts med exosomer för immunterapi av patienter med avancerad icke-småcellig lungcancer.

med de relevanta tumörantigenerna ackumulerade på sig [38, 39]. Det är fullt möjligt att tänka sig att exosomer med sin säregna membranstruktur i en nära framtid kan fungera som tämligen ideala immunogena substanser i olika kliniska immunterapeutiska program.

Exosomer från andra celler

Cellers förmåga att producera och utsöndra exosomer innebär en ny typ av kommunikation mellan celler. I stället för den klassiska cell-cellinteraktionen (1:1-stökiometri) kan en enda cell via exosomer förmedla sitt budskap till ett flertal andra celler. Som en extremvariant framstår den epiteliala sekretoriska cellen i prostata med sin utsöndring av prostasomer i prostatavätskan, vilka kan nå och interagera med en mängd spermier i ejakulatet.

Vi har nyligen visat med flödescytometri att prostasomer i ett ejakulat finns i betryggande överskott visavi spermier [40]. Primära kortikala neuron frisätter exosomer som har glutamatre-

ceptorer [41], och exosomer från mikroglia-celler har en hög halt av CD13, aminopeptidas N (i likhet med prostasomer), med förmodligen att klyva neuropeptider [42]. Exosomer från tunntarm har ett rikligt uttryck av MHC II, varigenom tolerans kan induceras gentemot antigen som tillförs via födan. Därför har dessa exosomer ibland också kallats »tolerosomer« [43].

Attraktiva för vaccination

Av intresse är att njurepitelceller är i stand att producera och utsöndra exosomer, som kunnat isoleras i urin [44]. Likaså har

exosomer kunnat isoleras direkt ur bronkoalveolarlavagevätska [45]. Dessa senare två iakttagelser ger stöd åt tankegången att exosomer (liksom prostasomer) kan produceras in vivo.

Utnyttjandet av exosomers unika struktur och egenskaper och de goda möjligheter som finns att isolera dem gör dessa extracellulära organeller högeligen attraktiva för olika vaccinationsprogram mot cancer.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

- Ronquist G, Hedström M. Restoration of detergent-inactivated adenosine triphosphatase activity of human prostatic fluid with concanavalin A. *Biochim Biophys Acta*. 1977;483:483-6.
- Ronquist G, Brody I, Gottfries A, Stegmayr B. An Mg^{2+} and Ca^{2+} -stimulated adenosine triphosphatase in human prostatic fluid, del I och del II. *Andrologia*. 1978;10:261-72, 427-31.
- Ronquist G, Brody I. The prostatesome: its secretion and function in man. *Biochim Biophys Acta*. 1985; 822:203-18.
- Nilsson BO, Jin M, Einarsson B, Persson BE, Ronquist G. Monoclonal antibodies against human prostasomes. *Prostate*. 1998;35:178-84.
- Sahlén GE, Egevad L, Ahlander A, Norlén BJ, Ronquist G, Nilsson BO. Ultrastructure of the secretion of prostasomes from benign and malignant epithelial cells in the prostate. *Prostate*. 2002;53:192-9.
- Arvidson G, Ronquist G, Wikander G, Öjteg AC. Human prostatesome membranes exhibit very high cholesterol/phospholipid ratios yielding high molecular ordering. *Biochim Biophys Acta*. 1989;984:167-73.
- Ronquist G, Nilsson BO, Hjertén S. Interaction between prostasomes and spermatozoa from human semen. *Arch Androl*. 1990;24:147-57.
- Fabiani R, Johansson L, Lundkvist Ö, Ronquist G. Enhanced recruitment of motile spermatozoa by prostasome inclusion in swim-up medium. *Hum Reprod*. 1994;9: 1485-9.
- Minelli A, Allegrucci C, Liguori L, Ronquist G. Ecto-diadenosine polyphosphate hydrolase activity on human prostasomes. *Prostate*. 2002;51:1-9.
- Kelly RW, Holland P, Skibinski G, Harrison C, McMillan L, Hargreave T, et al. Extracellular organelles (prostasomes) are immunosuppressive components of human semen. *Clin Exp Immunol*. 1991;86: 550-6.
- Babiker AA, Ronquist G, Nilsson UR, Nilsson B. Transfer of prostasomal CD59 to CD59-deficient red blood cells results in protection against complement-mediated hemolysis. *Am J Reprod Immunol*. 2002;47:183-92.
- Ronquist G, Nilsson BO. The Janus-faced nature of prostasomes: their pluripotency favours the normal reproductive process and malignant prostate growth. *Prost Cancer Prost Dis*. 2004;7:21-31.
- Babiker AA, Ronquist G, Nilsson B, Nilsson Ekdahl K. Overexpression of ecto-protein kinases in prostasomes of metastatic cell origin. *Prostate*. 2006;66:675-86.
- Johnstone RM, Adam M, Orr L, Hammond J, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. *J Biol Chem*. 1987;262:9412-20.
- Stoorvogel W, Kleijmeer MJ, Geuze HJ, Raposo G. The biogenesis and functions of exosomes. *Traffic*. 2002;3:321-30.
- Thery C, Duban L, Segura E, Veron P, Lantz O, Amigorena S. Indirect activation of naive CD4+ T cells by dendritic cell-derived exosomes. *Nat Immunol*. 2002;3:1156-62.
- Matsumoto K, Morisaki T, Kuroki H, Kubo M, Onishi H, Nakamura K, et al. Exosomes secreted from monocyte-derived dendritic cells support in vitro naive CD4+ T cell survival through NF-(kappa)B activation. *Cell Immunol*. 2004;231:20-9.
- Morse MA, Garst J, Osada T, Khan S, Hobeika A, Clay TM, et al. A phase I study of exosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Trans Med*. 2005;3:9-12.
- 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;7:297-303.
- Andre F, Scharz NE, Chaput N, Flament C, Raposo G, Amigorena S, et al. Tumor-derived exosomes: a new source of tumor rejection antigens. *Vaccine*. 2002;20, suppl 4:A28-A31.

Det finns fler än 30 000 artiklar i Läkartidningens artikelarkiv.

Som medlem i Sveriges läkarförbund når du arkivet via vår webbplats www.lakartidningen.se



Utmanande
saklig

Läkartidningen