



REVISIÓN

Microvesículas en cáncer de mama



Elisa García Garre*, Ginés Luengo-Gil, Pilar de la Morena Barrios
y Francisco Ayala de la Peña

Servicio de Hematología y Oncología médica, Hospital Universitario Morales Meseguer, Universidad de Murcia, IMIB, Murcia, España

Recibido el 30 de septiembre de 2015; aceptado el 18 de junio de 2016

Disponible en Internet el 18 de julio de 2016

PALABRAS CLAVE

Microvesículas;
Cáncer de mama;
Exosomas;
Micropartículas

Resumen Las microvesículas (exosomas y micropartículas) son cuerpos celulares derivados que conforman un sistema de transmisión de señales entre células, tanto local como a distancia, capaces de portar tanto marcadores de superficie celular como material genético, interviniendo en el comportamiento celular. Participan en los procesos de tumorigénesis, desde la angiogénesis hasta la amplificación de clones tumorales, entre otros. Han sido identificadas en algunas series clínicas como factores de mal pronóstico o incluso marcadores de complicaciones asociadas al cáncer como los eventos trombóticos.

Con un prometedor papel como vehículo de transporte para dirigir de forma selectiva microRNA o moléculas capaces de modificar el comportamiento tumoral, con un enfoque terapéutico, a través de la transmisión de factores proapoptóticos o supresores tumorales. Así como con el desarrollo de sistemas de ultrafiltración selectiva de microvesículas.

En cáncer de mama son aún escasos los resultados obtenidos pero sí prometedores, en cuanto que abren una nueva línea de conocimiento en la biogénesis tumoral, por su valor tanto en diagnóstico precoz como en su asociación con el pronóstico tumoral e incluso como marcadores predictivos.

© 2016 SESPM. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Microvesicles;
Breast cancer;
Exosomes;
Microparticles

Microvesicles in breast cancer

Abstract Microvesicles (exosomes and microparticles) are subcellular bodies. They constitute a cell-to-cell signalling system, both locally and at a distance, and are able to carry both cell surface biomarkers and genetic material, influencing cell behaviour. These vesicles participate in tumorigenesis, including angiogenesis and amplification of tumour clones, among other processes. They have been identified in some clinical series as markers of poor prognosis and even as markers of cancer-associated complications such as thrombotic events.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: eliggarre3@yahoo.es (E. García Garre).

These subcellular bodies have a promising role as a "transport vehicle" or "signal vector" to selectively direct microRNA or molecules able to modify tumour behaviour, and may even have a therapeutic role, through transmission of proapoptotic factors or tumour suppressors, respectively. In addition, selective microvesicle ultrafiltration systems are under development, which are able to eliminate those microvesicles that play a precursor role in tumour development.

The results obtained in breast cancer are scarce but promising, insofar as they open up new areas of knowledge in tumour biogenesis, due to their value both in early diagnosis and in tumour prognosis and even as predictive biomarkers.

This article reviews the literature on the role of microvesicles in breast cancer, with special emphasis on related clinical studies.

© 2016 SESPM. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Definición y descripción de las microvesículas

La vesiculación celular fue descrita por primera vez en 1967 por Wolf, que describió la liberación de «residuos» celulares tras la activación plaquetaria¹.

Las microvesículas (MV) son cuerpos celulares liberados de una variedad de células normales (fundamentalmente células endoteliales, plaquetas, leucocitos y monocitos) así como de células tumorales, que portan material génico, proteico etc., por lo que constituyen un sistema de comunicación célula-célula tanto local como sistémico². Dependiendo de su tamaño y mecanismo de liberación, las MV pueden clasificarse en exosomas, cuerpos apoptóticos y micropartículas (MP) o ectosomas.

Las MV son detectables en condiciones fisiológicas, pero sus niveles aumentan en plasma cuando estímulos inflamatorios, tales como las citocinas (factor de necrosis tumoral, interleucina-1) o agentes citotóxicos actúan sobre la superficie celular, generando un aumento en su liberación^{3,4}. Por ello, en procesos tumorales, enfermedades cardiovasculares, diabetes y procesos inflamatorios, está descrito un aumento en su concentración plasmática. Pueden ser liberadas tras un proceso o bien de activación o bien de apoptosis celular.

Las MP son vesículas de membrana celular de un tamaño entre 0,1 y 1 μm de diámetro. Son liberadas directamente desde la membrana plasmática celular por un proceso de exocitosis. Su liberación viene precedida de la activación celular o de la apoptosis temprana celular. Las MP contienen acúmulos lipídicos, ARN, fosfatidilserina e histonas, mientras que apenas contienen ADN⁵. Tienen una alta capacidad de unión a anexina V⁷.

Los exosomas son vesículas de menor tamaño (40-100 nm) y derivan de un proceso de endocitosis de membrana celular que, a su vez, se fusiona con cuerpos intracelulares y son liberados al medio por exocitosis, tras un proceso de activación celular. Contienen microARN, ARNm, fragmentos de ADN y proteínas⁶. Tienen una baja o nula capacidad de ligarse a anexina V⁷.

Los exosomas desempeñan un papel en la respuesta inmune, la progresión tumoral y otros procesos degenerativos^{8,9}.

En muestras de fluidos de pacientes con cáncer, incluyendo cáncer de mama¹⁰, ovario¹¹, glioblastoma¹² y próstata¹³, se han encontrado exosomas con proteínas

y miARN del tumor primario y cuya concentración, en muchas ocasiones, se correlacionaba con el estadio tumoral.

Los cuerpos apoptóticos son fragmentos celulares y miden de 1 a 4 μm . Son liberados de forma tardía en el proceso de apoptosis y contienen ADN e histonas. Tienen alta capacidad de unión a anexina V¹⁴.

La determinación o cuantificación de MV puede hacerse por diversas técnicas, pero es la citometría de flujo la más utilizada por su capacidad de cuantificación y de discriminación entre MV, basada en métodos de fluorescencia¹⁵.

Las MV en el contexto tumoral podrían actuar como transportadores de moléculas o material genético prooncogénico, y contribuir así a la expansión tumoral.

Microvesículas y cáncer

Las MV participan como mediadores biológicos en el cáncer. Tanto las MP como los exosomas son emitidos por la célula y el estroma tumoral. Cada vez son más los estudios que relacionan los niveles elevados MP con el cáncer, así como con las complicaciones asociadas a este.

Mecanismos de progresión tumoral mediados por microvesículas

En el caso de la enfermedad neoplásica, las MV podrían actuar como vehículo de transmisión de oncogenes mutados, es decir, actuar como oncosomas, confiriendo a células no mutadas la capacidad de transformarse en células mutadas para un determinado oncogén y, por lo tanto, con mayor agresividad tumoral o resistencia al tratamiento. En gliomas se ha comprobado que los clones tumorales más agresivos, que expresan un EGFRvIII truncado, estimulan la liberación de MV que, a su vez, portan dicha proteína, transfiriendo así dicha molécula a clones tumorales menos agresivos. Cuando se aplicaba un paninhibidor de Erb-cinasa, ese efecto disminuía.

Se han descrito MV portadoras de factor tisular (TF), FasL, VEGF y otros mediadores, que propagan así su función en otras células, y de marcadores específicos de la célula tumoral de origen, incluyendo moléculas de adhesión de la célula epitelial (EpCam), HER-2, CCR-6, metaloproteínas extracelulares, VEGF, etc.¹⁶⁻²⁰.

La concentración de MP tumorales parece estar relacionada con la progresión tumoral clínica en algunas neoplasias, como el cáncer de próstata y ovario^{18,21}.

Microvesículas y evasión inmune

Existen datos que apoyan la capacidad de las MV tumorales de interferir en la maduración de los monocitos hacia células dendríticas maduras, limitando así una adecuada y efectiva respuesta inmune. Así, las células dendríticas mal diferenciadas bloquean la actividad de los linfocitos T a través del factor de crecimiento transformante β (TGF- β)^{22,23}.

La interacción de la proteína de membrana Fas, miembro de la familia del factor de necrosis tumoral, con su receptor Fas ligando (FasL), induce la apoptosis celular. Por ello, la liberación de MV portadoras de FasL, en su unión con Fas expresado por la célula inmune T, propiciaría su apoptosis y contribuiría a la evasión inmune²⁴. En el plasma de pacientes con carcinoma de cabeza y cuello²⁵, carcinoma colorrectal²⁶ y melanoma²⁷ se han detectado MV tumorales (CD63+ y CEA+) unidas a FasL y, a su vez, fijadas a linfocitos T CD8+ en apoptosis.

Microvesículas, metastatización y angiogénesis tumoral

Diversos estudios han mostrado que las MV tumorales, endoteliales y plaquetarias intervienen en la angiogénesis tumoral mediante su capacidad para transportar VEGF, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), citocinas proinflamatorias y proteasas, que contribuían al desarrollo proangiogénico intratumoral²⁸⁻³¹. Un mecanismo conocido de interacción de las MV unidas a moléculas proangiogénicas es su unión, a través de la fosfatidilserina, al receptor celular de esta (PSR). Uno de estos PSR es BAI1 (inhibidor tipo I de la angiogénesis cerebral), que destaca por su acción inhibitoria en la angiogénesis³².

Las MV podrían modular, así mismo, la expresión de genes relacionados con la angiogénesis, como los genes para citocinas CXCL5, factor inhibidor de la migración de macrófagos, y genes para receptores de VEGF, como el VEGFR-2³³.

En modelos murinos, se ha descrito una cuádruple vía de activación de células endoteliales: las MP circulantes activarían el factor de transcripción NF κ B a través de la vía PARP; las MPE (micropartículas endoteliales) transportadoras de miARN-126, activarían, a través de este, el CXCL12/CXCL4, estimulando así las células endoteliales; las MPP (micropartículas plaquetarias) activarían las células endoteliales a través de lípidos de membrana; y, por último, las MP linfocitarias, bien liberadas tras la activación o bien tras la apoptosis, podrían transportar VEGF y óxido nítrico activador de la célula endotelial³⁴.

Las MPE podrían influir en la regeneración endotelial por 2 vías: interactuando directamente con la célula endotelial y promoviendo la regeneración vascular, o bien a través de la activación de los progenitores endoteliales³⁵.

Las MPE también pueden portar metaloproteinasas activas, desempeñando por ello un papel en el remodelamiento tisular, angiogénesis y expansión tumoral²⁸.

Los datos clínicos sobre la correlación de las MPE con la evolución o el pronóstico de determinadas enfermedades son todavía limitados. En enfermedades no neoplásicas en cuya fisiopatología se produce un deterioro endotelial, como en la esclerosis múltiple y la disfunción eréctil, se ha

correlacionado su evolución o grado de afectación clínica con los niveles de MPE plasmáticas, lo que permite plantear el uso de los niveles de MPE como marcador de respuesta a las terapias para estas enfermedades³⁶⁻³⁸.

Resistencia a los tratamientos antitumorales

Los exosomas de cáncer de mama y colorrectal muestran anfirregulina en su superficie, que junto con HER1/EGFR en las células tumorales puede aumentar su invasividad³⁹. En el mismo estudio, se observó que la anfirregulina unida a exosomas era 5 veces más eficiente en el aumento de la invasividad tumoral en comparación con la misma concentración de anfirregulina recombinante soluble.

Un efecto protumoral importante de los exosomas derivados de las células tumorales es su mediación en la resistencia a los agentes de inmunoterapia. El anticuerpo humanizado monoclonal Herceptin® (trastuzumab; Genentech Inc., San Francisco, CA, EE. UU.), que se une al dominio extracelular de HER2, es el estándar de tratamiento para los cánceres de mama con amplificación de HER2. La proteína HER2 está representada en las superficies de los exosomas de cáncer de mama y se ha demostrado que se unen y son capaces de secuestrar el anticuerpo monoclonal Herceptin®, facilitando de ese modo la proliferación celular tumoral continua⁴⁰. La secreción de exosomas ricos en HER2 en cáncer de mama con sobreexpresión de HER2 podría ser un factor que contribuyera al desarrollo de resistencia a los tratamientos anti-HER2 en el cáncer de mama⁴¹.

Estudios clínicos de microvesículas circulantes como biomarcadores en cáncer de mama

En general, en varios estudios existe una correlación directa entre la carga tumoral o estadio tumoral en cáncer de mama^{42,43}, los eventos trombóticos en cáncer, la mortalidad por cáncer⁴⁴ y la concentración de MV plasmáticas. Por el contrario, existe una reducción en los niveles de MV cuando disminuye la carga tumoral, un fenómeno observado en el caso de los glioblastomas multiformes y cáncer de páncreas tras ser resecados^{45,46}.

En el caso del cáncer de mama, no se dispone de estudios de asociación directa entre niveles de MV y asociación pronóstica. La relación entre los niveles de MV y la carga tumoral y su reducción tras el tratamiento tampoco ha sido demostrada hasta ahora, solo se ha hallado diferencia entre pacientes y controles^{10,47}.

En la [tabla 1](#) se recogen los diversos estudios realizados en cáncer de mama y el comportamiento descrito de las MV⁴⁸.

Los exosomas portadores de miARN tienen mayor capacidad de incorporación a la célula tumoral o a su ambiente circundante que el miARN libre. En un estudio llevado a cabo en pacientes con cáncer de mama en neoadyuvancia, tratadas con epirrubina y paclitaxel, se determinó la expresión plasmática de miR-503 (un inhibidor de las ciclinas D2 y D3, que participan en la proliferación tumoral), y se hallaron mayores niveles tras el tratamiento, con relación a la liberación de exosomas endoteliales portadoras de miARN-503 por efecto del tratamiento quimioterápico⁴⁹. Estos hallazgos establecen una relación entre los efectos de la quimioterapia en el endotelio vascular y su influencia en el desarrollo

Tabla 1 Relación de enfermedad tumoral por cáncer de mama y comportamiento de las microvesículas

Enfermedad	Niveles de MP plasmáticas	Referencia
Cáncer de mama con HT	Elevación de MP	43
Cáncer de mama metastásico	Elevación de MP-FT (MP unidas a factor tisular)	42,44
Diferentes tumores	Elevación de MP procoagulantes	63,64
Complicaciones tromboembólicas en cáncer	Elevación de MP	46
Cáncer de mama, diversos estadios y controles con tumor benigno	Mayores niveles de MPP en pacientes (estadios I a IV) respecto a controles sanos	65
Cáncer de mama localizado y controles	Mayores niveles de MP en cáncer local y N+ respecto a controles	42

MP: micropartículas; MP-FT: micropartículas de factor tisular; MPP: micropartículas plaquetarias.

tumoral. También es relevante el estudio de Eichelser con 168 pacientes con cáncer de mama, en el que, en el plasma de las pacientes con tumores triple negativo, los niveles de exosomas con miR-373 eran superiores respecto al resto de subtipos moleculares, lo que apoya su implicación en la expresión de fenotipos más agresivos⁵⁰.

En el reciente estudio de Hoshino et al., en modelo murino y en líneas celulares tumorales humanas de cáncer de mama, se muestra la afinidad por el lugar de metastatización en función de la integrina que expresen los exosomas tumorales⁵¹.

En el estudio de Menck⁵², los niveles de MV portadoras de EMMPRIN (metaloproteínasa de matriz inducida asociada a mal pronóstico tumoral⁵³) hiperglicosilada eran mayores en el plasma de pacientes con cáncer de mama metastásico respecto a plasma de controles sanos, e *in vitro* estas MV inducían una mayor invasividad en las líneas celulares de cáncer de mama. Por el contrario, con la deglicosilación de EMMPRIN, la invasividad de las células disminuía.

La posible implicación clínica de estos datos está siendo ya valorada en ensayos clínicos como el NCT01344109, en el que participan pacientes con cáncer de mama en neoadyuvancia y donde se hacen determinaciones de exosomas basales, mensuales durante el tratamiento quimioterápico y tras la resección quirúrgica del tumor residual. Su objetivo principal es correlacionar los niveles de exosomas con la respuesta tumoral (<https://clinicaltrials.gov>).

Microvesículas y trombosis en pacientes con cáncer de mama

El factor tisular (FT) también es portado por las MV, que representan la fracción mayoritaria del FT plasmático. Está sobreexpresado en el tumor y en las células sanas

circundantes en las neoplasias de mama humana⁵⁴, mientras que sus niveles son menores en controles sanos.

Existe una correlación entre la concentración de MP-FT y los eventos trombóticos en pacientes con cáncer que ha sido particularmente estudiada en pacientes con cáncer de mama, colon y páncreas⁴⁴ y en pacientes tratados con quimioterapia⁵⁵.

En estudios realizados en pacientes con cáncer de mama o páncreas avanzado, los niveles de MP-FT plasmáticos elevados se asocian a una menor supervivencia y a mayor número de eventos trombóticos⁴⁴. En cuanto a los cambios relacionados con el tratamiento, también en cáncer de mama Marijke et al., con plasma de 40 pacientes tratadas con hormonoterapia, tanto en adyuvancia como en enfermedad metastásica, detectaron una elevación en los niveles de MP-FT, respecto a controles sanos. A su vez, al valorar la actividad procoagulante de estas pacientes a través del test de generación de trombina, esta actividad era mayor en las pacientes respecto a los controles, sin diferencias entre pacientes con enfermedad avanzada o en adyuvancia⁴³.

Existen 2 ensayos clínicos en marcha en los que se evalúan las MP y su asociación con eventos trombóticos en pacientes con cáncer: el estudio MICA (NCT02095925) en pacientes con estadio III-IV de cáncer tratados con quimioterapia y con alto riesgo de trombosis según la escala de Khorana, a los que se les determinan niveles de MP-FT y se relaciona con el evento trombótico; y el estudio NCT01299038: pacientes con cáncer de mama metastásico con hormonoterapia y tratadas con rosvastatin, en las que se analiza el descenso en los niveles plasmáticos de MP-FT (<https://clinicaltrials.gov>).

Estudios clínicos de micropartículas endoteliales en cáncer de mama

En el caso de la enfermedad neoplásica, y en particular del cáncer de mama, los datos son muy limitados. No existen estudios de correlación entre la respuesta al tratamiento y los niveles de MPE en la enfermedad tumoral, aunque sí existe relación entre enfermedad tumoral y mayores niveles de MPE (tabla 2) donde, en general, los niveles de MPE están más elevados en pacientes respecto a controles sanos y sus niveles están más elevados a medida que aumenta la carga tumoral.

Datos preliminares de nuestro grupo apuntan a que los niveles de MPE podrían ser útiles como marcadores de respuesta al tratamiento, en tanto que la disminución de sus niveles tras el efecto del tratamiento antitumoral se relaciona con la respuesta tumoral objetiva.

Potencial terapéutico de las microvesículas

Una estrategia de tratamiento del cáncer prometedora implica la hemofiltración extracorpórea de factores inmunosupresores que incluyen exosomas de la circulación. En el estudio pionero de Lentz, se utilizó ultraaféresis continua de sangre entera para eliminar las proteínas de bajo peso molecular (<120, 000 Da) de la sangre de 16 pacientes con cáncer, de los cuales 6 presentaron una reducción de al menos un 50% en el tamaño de los tumores⁵⁶. La base biológica para estos tratamientos es similar a la terapia de inmunoadsorción de proteínas plasmáticas, realizada con el

Tabla 2 Estudios clínicos de micropartículas endoteliales en cáncer de mama

Autor	N	Tipo de tumor	Tipo de MP-FT	Comportamiento
Campello ⁴⁷	30 pacientes con TVP 30 pacientes con cáncer y TVP 30 pacientes con cáncer 90 controles	Cualquier tipo de tumor	MPE MPP (MP plaquetarias) MP-FT	Niveles MPE y MPP más elevados en los pacientes que en los controles Niveles de MP-TF más elevados en pacientes con cáncer y TVP respecto a pacientes con cáncer sin TVP
Toht ¹⁰	41 pacientes 25 controles	Cáncer de mama	MPE MPL (MP leucocitarias)	Sin diferencias en niveles de MPE entre pacientes y controles Mayores niveles de MPL en pacientes y en correlación con el tamaño tumoral

MP-FT: micropartículas de factor tisular; MPE: micropartículas endoteliales; MPP: micropartículas plaquetarias; TVP: tromboembolia venosa.

dispositivo ProSORBA Column, y aprobado por la FDA para pacientes con artritis reumatoide o PTI como complemento al tratamiento inmunosupresor. De hecho, en un estudio que examina la eficacia de la columna ProSORBA en el cáncer, hubo una reducción medible en la carga del tumor en 22 de 104 pacientes⁵⁷. Sin embargo, en un ensayo de fase II en cáncer de mama metastásico tratados mediante ProSORBA, este no confirió beneficios clínicos⁵⁸.

Otra compañía, Aethlon Medical, ha ideado un enfoque terapéutico basado en hemofiltración, denominado Aethlon ADAPTTM (plataforma tecnológica de diálisis con afinidad adaptada). La sangre del paciente pasa a través del dispositivo y los componentes del plasma con tamaño < 200 nm (exosomas y viriones) interactúan y se adsorben selectivamente en los poros de la membrana, mientras que las células de la sangre y los componentes del suero no unido pasan⁵⁹. Hipotéticamente, de manera similar podría utilizarse para el reconocimiento de proteínas tumorales específicas en la superficie de los exosomas con el fin de capturar exosomas tumorales sin afectar exosomas producidos por las células no malignas. Por ejemplo, en el cáncer de mama con sobreexpresión de HER2, mediante dicha hemofiltración, podrían eliminarse exosomas portadores de HER2, así como HER2 soluble escindido por proteólisis de la superficie celular tumoral, el cual participa en la resistencia a la terapia anti-HER2 (trastuzumab)⁶⁰.

De la otra forma, se trata de aislar exosomas o MP y unirlos a complejos inmunes o antiangiogénicos capaces de tener una actividad antitumoral en la reinyección al tumor, terapia conocida como «ExoDrug»^{61,62}.

Conclusiones

El conocimiento de las MV en el cáncer de mama es un campo en desarrollo, que nos puede aportar datos no solo de la biología tumoral, sino que quizá pueda tener también valor como potenciales marcadores pronósticos y predictivos de respuesta a los tratamientos antitumorales.

Dado su papel de «vectores biológicos intercelulares», exosomas o MP podrían ser usados como vehículo de

transporte para dirigir de forma selectiva microARN o moléculas capaces de modificar el comportamiento tumoral, con un enfoque terapéutico.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol.* 1967;13:269–88.
2. Al-Nedawi K, Rak J, D'Asti E, Magnus N, Lee TH, Meehan B. Microvesicles as mediators of intercellular communication in cancer—the emerging science of cellular «debris». *Semin Immunopathol.* 2011;455–67.
3. Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: Pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* 2007;21(3):157–71.
4. Lynch SF, Ludlam CA. Plasma microparticles and vascular disorders. *Br J Haematol.* 2007;137(1):36–48.
5. Orozco AF, Lewis DE. Flow cytometric analysis of circulating microparticles in plasma. *Cytometry A.* 2010;77(6):502–14.

6. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9(6):654–9.
7. Février B, Raposo G. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol.* 2004;16(4):415–21.
8. Webber J, Steadman R, Mason MD, Tabi Z, Clayton A. Cancer exosomes trigger fibroblast to myofibroblast differentiation. *Cancer Res.* 2010;70(23):9621–30.
9. Cho JA, Park H, Lim EH, Lee KW. Exosomes from breast cancer cells can convert adipose tissue-derived mesenchymal stem cells into myofibroblast-like cells. *Int J Oncol.* 2012;40(1):130–8.
10. 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.
11. Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2008;110(1):13–21.
12. Skog J, Würdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Sena-Esteves M, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol.* 2008;10(12):1470–6.
13. Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, Baranov V, Mincheva-Nilsson L, Breakefield XO, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: A novel approach to biomarkers for prostate cancer. *Br J Cancer.* 2009;100(10):1603–7.
14. Distler JH, Huber LC, Gay S, Distler O, Pisetsky DS. Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity.* 2006;39(8):683–90.
15. Barteneva NS, Fasler-Kan E, Bernimoulin M, Stern JN, Ponomarev ED, Duckett L, et al. Circulating microparticles: Square the circle. *BMC Cell Biol.* 2013;14:23.
16. Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(8):581–93.
17. Baran J, Baj-Krzyworzeka M, Węglarczyk K, Szatanek R, Zembala M, Barbasz J, et al. Circulating tumour-derived microvesicles in plasma of gastric cancer patients. *Cancer Immunol Immunother.* 2010;59(6):841–50.
18. Coumans FA, Doggen CJ, Attard G, de Bono JS, Terstappen LW. All circulating EpCAM+CK+CD45- objects predict overall survival in castration-resistant prostate cancer. *Ann Oncol.* 2010;21(9):1851–7.
19. Kim HK, Song KS, Park YS, Kang YH, Lee YJ, Lee KR, et al. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: Possible role of a metastasis predictor. *Eur J Cancer.* 2003;39(2):184–91.
20. Nieuwland R, van der Post JA, Lok CA, Gemma CA, Kenter G, Kenter G, et al. Microparticles and exosomes in gynecologic neoplasias. *Semin Thromb Hemost.* 2010;36(8):925–9.
21. Ginestra A, Miceli D, Dolo V, Romano FM, Vittorelli ML. Membrane vesicles in ovarian cancer fluids: a new potential marker. *Anticancer Res.* 1999;19(4C):3439–45.
22. Valenti R, Huber V, Filipazzi P, Pilla L, Sovena G, Villa A, et al. Human tumor-released microvesicles promote the differentiation of myeloid cells with transforming growth factor-beta-mediated suppressive activity on T lymphocytes. *Cancer Res.* 2006;66:9290–8.
23. Valenti R, Huber V, Iero M, Filipazzi P, Parmiani G, Rivoltini L. Tumor-released microvesicles as vehicles of immunosuppression. *Cancer Res.* 2007;67:2912–5.
24. Abrahams VM, Straszewski-Chavez SL, Guller S, Mor G. First trimester trophoblast cells secrete Fas ligand which induces immune cell apoptosis. *Mol Hum Reprod.* 2004;10:55–63.
25. Kim JW, Wieckowski E, Taylor DD, Reichert TE, Watkins S, Whiteside TL. Fas ligand-positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes. *Clin Cancer Res.* 2005;11:1010–20.
26. Huber V, Fais S, Iero M, Lugini L, Canese P, Squarcina P, et al. Human colorectal cancer cells induce T-cell death through release of proapoptotic microvesicles: Role in immune escape. *Gastroenterology.* 2005;128:1796–804.
27. Andreola G, Rivoltini L, Castelli C, Huber V, Perego P, Deho P, et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles. *J Exp Med.* 2002;195:1303–16.
28. Tarabozetti G, D'Ascenzo S, Borsotti P, Giavazzi R, Pavan A, Dolo V. Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. *Am J Pathol.* 2002;160:673–80.
29. Janowska-Wieczorek A, Marquez-Curtis LA, Wysoczynski M, Ratajczak MZ. Enhancing effect of platelet-derived microvesicles on the invasive potential of breast cancer cells. *Transfusion.* 2006;46:1199–209.
30. Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, Marquez-Curtis L, Machalinski B, Ratajczak J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer.* 2005;113:752–60.
31. Millimaggi D, Mari M, D'Ascenzo S, Carosa E, Jannini EA, Zucker S, et al. Tumor vesicle-associated CD147 modulates the angiogenic capability of endothelial cells. *Neoplasia.* 2007;9:349–57.
32. Zhou Z. New phosphatidylserine receptors: Clearance of apoptotic cells and more. *Dev Cell.* 2007;13:759–60.
33. Nazarenko I, Rana S, Baumann A, McAlear J, Hellwig A, Trendelenburg M, et al. Cell surface tetraspanin Tspan8 contributes to molecular pathways of exosome-induced endothelial cell activation. *Cancer Res.* 2010;70:1668–78.
34. Martinez MC, Andriantsitohaina R. Microparticles in angiogenesis: Therapeutic potential. *Circ Res.* 2011;109:110–9.
35. Hoyer FF, Nickenig G, Werner N. Microparticles-messengers of biological information. *J Cell Mol Med.* 2010;14:2250–6.
36. Sheremata WA, Jy W, Delgado S, Minagar A, McLarty J, Ahn Y. Interferon-beta1a reduces plasma CD31 + endothelial microparticles (CD31 + EMP) in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2006;3:23.
37. Lowery-Nordberg M, Eaton E, Gonzalez-Toledo E, Harris MK, Chalamidas K, McGee-Brown J, et al. The effects of high dose interferon-β1a on plasma microparticles: Correlation with MRI parameters. *J Neuroinflammation.* 2011;8:43.
38. La Vignera S. New immunophenotype of circulating endothelial progenitor cells and endothelial microparticles in patients with erectile dysfunction and metabolic syndrome: Effects of tadalafil administration. *Int Angiol.* 2011;30(5):415–23.
39. Higginbotham JN, Demory Beckler M, Gephart JD, Franklin JL, Bogatcheva G, Kremers G-J, et al. Amphiregulin exosomes increase cancer cell invasion. *Curr Biol.* 2011;21(9):779–86.
40. Ciravolo V, Huber V, Ghedini GC, Venturelli E, Bianchi F, Campiglio M, et al. Potential role of HER2-overexpressing exosomes in countering trastuzumab-based therapy. *J Cell Physiol.* 2012;227(2):658–67.
41. Nahta R, Esteva FJ. HER2 therapy: Molecular mechanisms of trastuzumab resistance. *Breast Cancer Res.* 2006;8(6):215.
42. Liebhardt S, Ditsch N, Nieuwland R, Rank A, Jeschke U, von Koch F, et al. CEA-, Her2/neu-, BCRP- and Hsp27-positive microparticles in breast cancer patients. *Anticancer Res.* 2010;30(5):1707–12.
43. Trappenburg MC, van Schilfgaarde M, Bredewold EO, van Aalderen MC, Spronk HMH, Ten Cate H, et al. Elevated numbers and altered subsets of procoagulant microparticles in breast cancer patients using endocrine therapy. *Thromb Res.* 2011;127(4):363–9.
44. Tesselaar MET, Romijn FPHTM, van der Linden IK, Prins FA, Bertina RM, Osanto S. Microparticle-associated tissue factor activity: A link between cancer and thrombosis? *J Thromb Haemost.* 2007;5:520–7.

45. Sartori MT, Della Puppa A, Ballin A, Saggiorato G, Bernardi D, Padoan A, et al. Prothrombotic state in glioblastoma multiforme: An evaluation of the procoagulant activity of circulating microparticles. *J Neurooncol.* 2011;104(1):225–31.
46. Zwicker JI, Liebman HA, Neuberg D, Lacroix R, Bauer KA, Furie BC, et al. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy. *Clin Cancer Res.* 2009;15(22):6830–40.
47. Campello E, Spiezia L, Radu CM, Bulato C, Castelli M, Gavasso S, et al. Endothelial, platelet, and tissue factor-bearing microparticles in cancer patients with and without venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2011;127(5):473–7.
48. Langer F, Bokemeyer C. Crosstalk between cancer and haemostasis. Implications for cancer biology and cancer-associated thrombosis with focus on tissue factor. *Hamostaseologie.* 2012;32(2):95–104.
49. Bovy N, Blomme B, Frères P, Dederen S, Nivelles O, Lion M, et al. Endothelial exosomes contribute to the antitumor response during breast cancer neoadjuvant chemotherapy via microRNA transfer. *Oncotarget.* 2015;6(12):10253–66.
50. Eichelser C, Stückerath I, Müller V, Milde-Langosch K, Wikman H, Pantel K, et al. Increased serum levels of circulating exosomal microRNA-373 in receptor-negative breast cancer patients. *Oncotarget.* 2014;5(20):9650–63.
51. Hoshino A, Costa-Silva B, Shen T-L, Rodrigues G, Hashimoto A, Tesic Mark M, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature.* 2015;527(7578):329–35.
52. Menck K, Scharf C, Bleckmann A, Dyck L, Rost U, Wenzel D, et al. Tumor-derived microvesicles mediate human breast cancer invasion through differentially glycosylated EMMPRIN. *J Mol Cell Biol.* 2015;7(2):143–53.
53. Nabeshima K, Iwasaki H, Koga K, Hojo H, Suzumiya J, Kikuchi M. Emmprin (basigin/CD147): matrix metalloproteinase modulator and multifunctional cell recognition molecule that plays a critical role in cancer progression. *Pathol Int.* 2006;56(7):359–67.
54. Ueno T, Toi M, Koike M, Nakamura S, Tominaga T. Tissue factor expression in breast cancer tissues: Its correlation with prognosis and plasma concentration. *Br J Cancer.* 2000;83:164–70.
55. Lechner D, Weltermann A. Chemotherapy-induced thrombosis: A role for microparticles and tissue factor? *Semin Thromb Hemost.* 2008;34:199–203.
56. Lentz MR. Continuous whole blood UltraPheresis procedure in patients with metastatic cancer. *J Biol Response Mod.* 1989;8(5):511–27.
57. Snyder HW, Balint JP, Jones FR. Modulation of immunity in patients with autoimmune disease and cancer treated by extracorporeal immunoadsorption with PROSORBA columns. *Semin Hematol.* 1989;26 2 Suppl 1:31–41.
58. Fennelly DW, Norton L, Sznol M, Hakes TB. A phase II trial of extracorporeal plasma immunoadsorption of patient plasma with PROSORBA columns for treating metastatic breast cancer. *Cancer.* 1995;75(8):2099–102.
59. Tullis RH, Duffin RP, Zech M, Ambrus JL. Affinity hemodialysis for antiviral therapy. II. Removal of HIV-1 viral proteins from cell culture supernatants and whole blood. *Blood Purif.* 2003;21(1):58–60.
60. Brodowicz T, Wiltschke C, Budinsky AC, Krainer M, Steger GG, Zielinski CC. Soluble HER-2/neu neutralizes biologic effects of anti-HER-2/neu antibody on breast cancer cells in vitro. *Int J Cancer.* 1997;73(6):875–9.
61. Marleau AM, Chen C-S, Joyce JA, Tullis RH. Exosome removal as a therapeutic adjuvant in cancer. *J Transl Med.* 2012;10:134.
62. Escudier B, Dorval T, Chaput N, André F, Caby M-P, Novault S, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: Results of the first phase I clinical trial. *J Transl Med.* 2005;3(1):10.
63. Manly DA, Wang J, Glover SL, Kasthuri R, Liebman HA, Key NS, et al. Increased microparticle tissue factor activity in cancer patients with venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2010;125(6):511–2.
64. Thaler J, Ay C, Weinstabl H, Dunkler D, Simanek R, Vormittag R, et al. Circulating procoagulant microparticles in cancer patients. *Ann Hematol.* 2011;90(4):447–53.
65. Galindo-Hernandez O, Villegas-Comonfort S, Candanedo F, González-Vázquez M-C, Chavez-Ocaña S, Jimenez-Villanueva X, et al. Elevated concentration of microvesicles isolated from peripheral blood in breast cancer patients. *Arch Med Res.* 2013;44(3):208–14.