

Extracellular Vesicles

Wie Zellen kommunizieren: extrazelluläre Vesikel als Signalübermittler

LEONIE WITTE^{1,2} UND JULIA CHRISTINA GROSS^{1,2}

¹HÄMATOLOGIE UND ONKOLOGIE, UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN

²ENTWICKLUNGSBIOCHEMIE, UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN

Development and homeostasis of multicellular organisms requires a constant exchange of information. Intercellular communication can be mediated by extracellular vesicles – tightly packed informational units that are secreted by virtually all cell types. Depending on their origin they carry distinct sets of proteins and RNAs and elicit diverse signaling responses in close and distant target cells. Despite their crucial role for health and disease, their biogenesis remains poorly understood.

DOI: 10.1007/s12268-020-1429-8
© Die Autorinnen 2020

■ Eine grundlegende Voraussetzung für Entstehung und Homöostase komplexer mehrzelliger Organismen ist der regulierte Austausch kontextabhängiger Signale. Signalmoleküle wie Hormone, Wachstumsfaktoren oder Zytokine verteilen sich dazu im extrazellulären Raum und erreichen ferne und nahe Zielzellen. Zusätzlich zur freien Sekretion löslicher Faktoren erfordert der Austausch komplexer Botschaften die Integration verschiedener molekularer Botenstoffe in stabile Informationseinheiten, die mit hoher räumlicher und zeitlicher Präzision im gesamten Organismus verteilt werden können. Extrazelluläre Vesikel sind solche kompakten Informationseinheiten – mit essenziellen Funktionen für physiologische sowie pathologische Entwicklungsprozesse.

Entstehung von extrazellulären Vesikeln

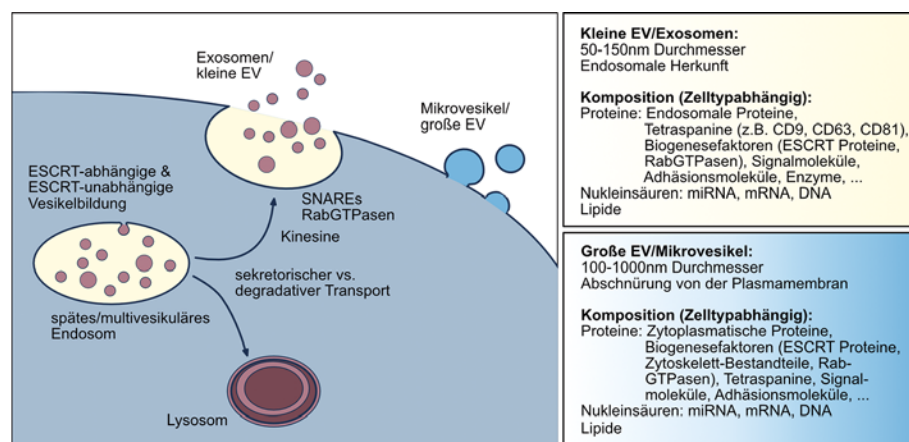
Extrazelluläre Vesikel (EV) sind eine heterogene Gruppe membranöser Vesikel, die von nahezu allen Zellen sekretiert und aufgenommen werden können. Abhängig von Ursprungszelle und biologischem Kontext tragen sie ein vielfältiges Repertoire aus Membranproteinen in ihrer Hülle sowie lösliche Faktoren wie Proteine, DNA und RNA in ihrem Lumen. Zwei Arten von EV werden unterschieden: 1) Mikrovesikel oder große EV, die mit einem Durchmesser von 100–1000 nm

direkt von der Plasmamembran (PM) abgeschnürt werden und 2) Exosomen oder kleine EV (*small EV*, sEV) mit einem Durchmesser von 50–150 nm, die als intraluminale Vesikel ins Innere von multivesikulären Endosomen (MVE) abgeschnürt und anschließend durch Fusion mit der PM freigesetzt werden (Abb. 1, [1]).

Für die Biogenese von sEV werden zunächst Mitglieder der ESCRT (*endosomal sorting complexes required for transport*)-Maschinerie an die MVE-Membran rekrutiert, wo sie die Beladung von sEV mit Fracht-

molekülen, Membraninvagination und Vesikelabschnürung koordinieren [1]. Ebenso existieren ESCRT-unabhängige Entstehungswege unter Beteiligung von Ceramid-reichen Membrandomänen und Tetraspaninen [1]. Während die Beladung von sEV mit microRNA über spezifische Erkennungssequenzen und die Interaktion von ESCRT-Komponenten mit RNA-Bindeproteinen erfolgen kann, sind die Mechanismen hinter der Beladung mit mRNA und DNA noch weitgehend unverstanden. Die letztendliche Sekretion von sEV wird durch sekretorischen MVE-Transport und Fusion mit der PM vermittelt. Da ein Großteil aller MVE lysosomal abgebaut wird, stellt der spezifische sekretorische Transport von MVE-Subpopulationen eine regulatorische Ebene der sEV-Sekretion dar. Endosomale RabGTPasen wie Rab27, Rab35 oder Rab11 sind an der Kontrolle der MVE-Sekretion ebenso beteiligt wie die SNARE (*soluble NSF attachment receptor*)-Proteine VAMP7, SNAP23 und Ykt6, die letztendlich die Fusion der MVE-Membran mit der PM medieren [1].

Nach ihrer Ausschüttung erreichen EV über den extrazellulären Raum und nahezu alle Körperflüssigkeiten ihre Zielzellen. So ergibt sich, z. B. im Blutplasma, eine immense



▲ **Abb. 1:** Biogenese und Zusammensetzung kleiner und großer extrazellulärer Vesikel (EV). Kleine EV werden als intraluminale Vesikel in multivesikuläre Endosomen abgeschnürt und können durch deren Fusion mit der Plasmamembran unter Beteiligung von Motorproteinen, SNARE-Proteinen und RabGTPasen ausgeschüttet werden. Große EV werden dagegen direkt von der Plasmamembran abgeschnürt. Die Komposition von EV spiegelt die endosomale bzw. cytoplasmatische Herkunft wieder und unterliegt zelltyp- und kontextabhängiger Regulation.

Vielfalt an EV aus allen denkbaren Organen und Zelltypen. Aus dem jeweiligen Beladungsmuster ergeben sich kontextabhängige Botschaften, die in ihren Zielzellen komplexe Signalkaskaden auslösen.

Extrazelluläre Vesikel im gesunden und kranken Organismus

Der Grunderhalt eines Organismus hängt von Zell- und Gewebemöostase ab. Hier leisten EV einen wichtigen Beitrag: Durch eine Membranhülle geschützt erhöht sich Stabilität und Reichweite sekretierter Botenstoffe und die spezifische Interaktion von EV mit Zielzellen ermöglicht eine zielgerichtete und effiziente Kommunikation (Abb. 2). So wird der Erhalt der Stammzellnische von Stammzell-EV gesichert, die Faktoren wie *nanog*, *Oct-4* oder *Wnt* tragen [2, 3]. Durch ihre proliferationsfördernden und pro-angiogenen Eigenschaften bergen EV, insbesondere sEV mesenchymaler Stromazellen (MSZ), ein hohes regeneratives Potenzial. Die vielfältigen therapeutischen Eigenschaften von MSZ-sEV zeigen sich in kardialen und zerebralen Infarktmodellen sowie bei fibrotischen Nieren- und Lungenerkrankungen [4].

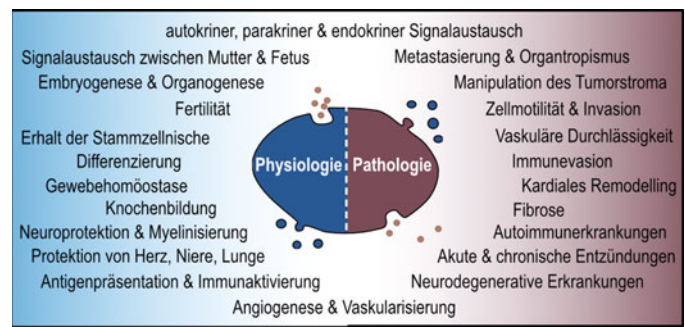
Auch Tumorzellen machen sich EV zu Nutze, um proliferationsfördernde Signale auszutauschen, Immunzellen abzuwehren und die Metastasierung voranzutreiben. So modulieren Tumor-sEV (T-EV) das Immunsystem, indem sie, z. B. durch Transfer von *miR-1246* in sEV, Makrophagen zu pro-tumorigenen, tumorassoziierten Makrophagen umprogrammieren [5]. Durch Sekretion von Fibronectin auf sEV können Tumorzellen zudem die Interaktion mit der extrazellulären Matrix erhöhen und durch die sEV-Sekretion von Matrixmetalloproteasen, wie *MT1-MMP*, *Motilität* und *Invasivität* steigern [6]. Am Beispiel von Brustkrebszellen konnte gezeigt werden, dass *Motilität*, *Invasion* und *Metastasierung* zudem von sEV stimuliert werden, die von tumorassoziierten Fibroblasten sekretiert werden [6]. Erreichen T-EV den Blutkreislauf, können sie in verschiedenen Organen metastatische Nischen vorbereiten, wobei der Organotropismus der Metastasierung maßgeblich von T-EV-ständigen Integrinen vermittelt wird [7]. Daher stellt die Charakterisierung von T-EV aus Flüssigbiopsien eine schonende und vielversprechende Möglichkeit dar, Tumore frühzeitig zu diagnostizieren, sowie Therapieerfolge langfristig zu überwachen. Beispielsweise sind im Prostatakarzinom *Claudin-3* und *microRNA* (*miR-10a-5p* und *miR-29b-3p*) spezifisch in

Blutproben erkrankter Patienten angereichert [8]. Voraussetzung dafür, ihr diagnostisches und therapeutisches Potenzial voll auszunutzen, ist jedoch zunächst ein besseres Verständnis für die Biogenese und kontextabhängige Sekretion von EV.

Forschung an extrazellulären Vesikeln im Tiermodell

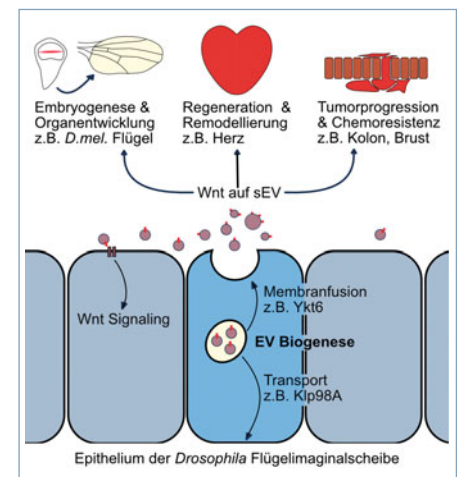
Um die komplexen Mechanismen zu verstehen, die die Bildung und Ausschüttung von EV beeinflussen, sind entwicklungsbiologische Tiermodelle ein praktisches Werkzeug. Während der Entwicklung muss aus einer einzelnen Zelle ein gesamter Organismus aufgebaut werden. Die dafür nötige präzise Koordination von Zellproliferation, -migration und -differenzierung wird durch regen interzellulären Signalaustausch gewährleistet, bei dem EV eine entscheidende Rolle spielen [9]. In Studien mit *Drosophila* und *Danio rerio* (Zebrafisch) konnte gezeigt werden, dass die Sekretion von Morphogenen wie *Wnt* oder *Hedgehog* auf EV grundlegend zum Aufbau von Morphogengradienten in der Entwicklung beiträgt [9]. Morphogengradienten orchestrieren Muster- und Gewebeformung, indem sie zeitlich und räumlich koordiniert abgegeben werden und dosisabhängige Differenzierungsprozesse in ihren Zielzellen auslösen. So trägt z. B. die Sekretion von *wingless* (*Wg*, *Drosophila* *Wnt-1*) auf sEV zur *Drosophila*-Flügelentwicklung aus Imaginalscheiben bei und die Inhibition endosomaler *Wg*-Sekretion führt zu Fehlern in der Flügelentwicklung [9].

In unserem Labor wird das Modellsystem der *Drosophila* *Wg*-Sekretion dazu genutzt, *in vivo* neue Faktoren zu identifizieren, die an der Biogenese von EV beteiligt sind. So können mittels RNAi-Screens offene Fragen direkt unter Einbeziehung von Gewebekontext und funktioneller Relevanz beantwortet werden, z. B. wie die Entscheidung zwischen degradativem und sekretorischem MVE-Transport getroffen wird. Diese bestimmt nicht nur grundlegend die Menge sekretierter EV, sondern könnte auch die kontextabhängige Sekretion von EV mit bestimmten Beladungsmustern regulieren. Kürzlich konnte von uns das Kinesin *Klp98A* als



▲ Abb. 2: Überblick über physiologische und pathologische Funktionen extrazellulärer Vesikel [2].

hauptverantwortlich für den endosomalen Transport von *Wg* in *Drosophila*-Flügelimaginalscheiben identifiziert werden [10]. *Klp98A* vermittelt dabei den Transport von MVE von der apikalen zur basalen Zellseite. Obwohl *Wg* in Abwesenheit von *Klp98A* stark an der apikalen PM akkumuliert, schreitet die Flügelentwicklung ungestört voran. Dies deutet darauf hin, dass die endosomale *Wg*-Sekretion an der apikalen anstatt, wie vorher angenommen, an der basalen Zellseite maßgeblich zu *Wg*-Gradientenbildung beiträgt (Abb. 3). Ebenfalls in diesem Modellsystem konnten wir das SNARE-Protein *Ykt6*



▲ Abb. 3: Die *Drosophila*-Flügelimaginalscheibe als Modellsystem für die Sekretion von *Wnt* auf extrazelluläre Vesikel (EV). Im polarisierten, einschichtigen Epithelium der *Drosophila*-Flügelimaginalscheibe wird während der Flügelentwicklung *Wnt* auf sEV sekretiert. Es ist daher ein beliebtes Modellsystem für die Forschung an molekularen Mechanismen der EV-Biogenese und der *Wnt*-Sekretion. Die Sekretion von *Wnt* auf sEV ist neben ihrer entwicklungsbiologischen Funktion maßgeblich an physiologischen Regenerationsprozessen beteiligt und spielt eine wichtige Rolle im Kontext der Tumorentstehung.

identifizieren, das in *Drosophila* und in humanen Zellen für die Sekretion von Wnt auf sEV notwendig ist [11]. Ykt6 wird an entsäuerte endosomale Kompartimente rekrutiert und vermittelt dort das Wnt-Recycling an der apikalen Zellseite aus Rab4-positiven Endosomen [12].

Ausblick

Da die Funktion vieler humaner Proteine evolutionär konserviert ist, ist die Identifikation neuer an der EV-Biogenese beteiligter Faktoren in *Drosophila* ein vielversprechender Weg, um auch in menschlichen Zellen Biogenese und Regulation von EV zu verstehen. Parallel arbeitet unser Labor an Proteinen, die in Krebszelllinien an endosomalem Transport und Sekretion beteiligt sind. Durch ihre hohe Tumorrelevanz ist insbesondere die Wnt-Sekretion auf sEV von hoher Bedeutung. Viele Fragen der Regulation der sEV-Sekretion sind noch offen, z. B. wie zellulärer Stress sich auf Beladung und Ausschüttung von EV auswirkt. Seit einigen Jahren ist die wissenschaftliche EV-Community international (International Society of EV) und deutschlandweit (German Society of EV) organisiert – mit dem Ziel, EV langfristig sowohl therapeutisch als auch diagnostisch nutzbar zu machen. ■

Literatur

- [1] Van Niel G, D'Angelo G, Raposo G (2018) Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 19:213–228
- [2] Yáñez-Mó M, Siljander PR-M, Andreu Z et al. (2015) Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell vesicles* 4:27066
- [3] Saha S, Aranda E, Hayakawa Y et al. (2016) Macrophage-derived extracellular vesicle-packaged WNTs rescue intestinal stem cells and enhance survival after radiation injury. *Nat Commun* 7:1–16

- [4] Phinney D, Pittenger M (2017) Concise Review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Cells, Spermatogenic Stem* 35:851–858
- [5] Cooks T, Pateras IS, Jenkins LM et al. (2018) Mutant p53 cancers reprogram macrophages to tumor supporting macrophages via exosomal miR-1246. *Nat Commun* 9:771
- [6] Tkach M, Théry C (2016) Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell* 164:1226–1232
- [7] Hoshino A, Costa-Silva B, Shen TL et al. (2015) Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature* 527:329–335
- [8] Worst TS, Previti C, Nitschke K et al. (2020) Vesicle-associated prostate cancer detection markers. 1–21
- [9] Witte L, Gross J (2019) Extracellular Vesicles – Developmental messengers of tissue crosstalk. *Trillium Extracell Vesicles* 1:1–52
- [10] Witte L, Linnemannstøns K, Schmidt K et al. (2020) Kinesin motor Klp98A mediates apical to basal Wg transport. *Development*, <https://doi.org/10.1242/dev.186833>
- [11] Gross JC, Chaudhary V, Bartscherer K, Boutros M (2012) Active Wnt proteins are secreted on exosomes. *Nat Cell Biol* 14:1036–1045
- [12] Linnemannstøns K, Witte L, Karuna P et al. (2020) Ykt6-dependent endosomal recycling is required for Wnt secretion in the *Drosophila* wing epithelium. *Development*. <https://doi.org/10.1242/dev.185421>

Funding Open Access funding provided by Projekt DEAL.

Open Access Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Julia Christina Gross
Hämatologie und Onkologie/Entwicklungs-
biochemie
Universitätsmedizin Göttingen
Justus-von-Liebig Weg 11
D-37077 Göttingen
julia.gross@med.uni-goettingen.de
www.isev.org
www.extracellular-vesicles.de

AUTOREN



Leonie Witte

2011–2016 Studium der Molekularen Medizin an der Universität Göttingen; seit 2016 Promotion an der Universitätsmedizin Göttingen im Bereich Entwicklungsbiochemie/ Extrazelluläres Signaling im Labor von Dr. J. Groß.



Julia Groß

1999–2005 Studium der Biologie an den Universitäten Frankfurt a. M., Málaga (Spanien), und Stanford (CA, USA). 2005–2009 Promotion am Institut für Molekulare Zellbiologie und Humangenetik, Universität Frankfurt a. M. 2010–2015 Postdoc am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg. Seit 2015 Nachwuchsgruppenleiterin an der Universitätsmedizin Göttingen; dort seit 2019 Vertretungsprofessorin für Biochemie.

Hier steht
eine Anzeige.

 Springer