

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСОСОМ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ПРИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Г.В. Тишкин<sup>1</sup>, М.С. Верещагина М.С.<sup>2</sup>, З.С. Кайтова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Московский медицинский колледж №5, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

ГБТ: <https://orcid.org/0000-0002-3436-7201>, [lem19051917@gmail.com](mailto:lem19051917@gmail.com), ВМС: <https://orcid.org/0000-0002-2036-080X>, [mkosareva@list.ru](mailto:mkosareva@list.ru), КЗС: [zinfira\\_kaitova@mail.ru](mailto:zinfira_kaitova@mail.ru)

## PERSPECTIVES FOR USING EXOSOMES FOR TARGET DELIVERY IN HER2-POSITIVE BREAST CANCER

G. V. Tishkin<sup>1</sup>, M. S. Vereshchagina<sup>2</sup>, Z.S. Kaitova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Moscow College of medicine №5, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Резюме:** Рак женской молочной железы - один из наиболее часто встречающихся типов злокачественных опухолей. Поиск новых способов лечения агрессивного HER2-позитивного рака является актуальной задачей. Одним из перспективных методов является адресная доставка лекарственных средств с помощью экзосом, связанных с каркасными белками DARRPin G3.

**Ключевые слова:** Дарпин, DARRPin G3, экзосома, таргетная терапия, рак молочной железы, her-2 положительный рак.

DOI: 10.25792/HN.2022.10.2.S2.137-140

**Для цитирования:** Тишкин Г.В., Верещагина М.С., Кайтова З.С. Перспективы использования экзосом в качестве средства адресной доставки при HER2-положительном раке молочной железы. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Прил. 2):137-140.

**Abstract:** Breast cancer is one of the most common types of malignant tumors. The search for new ways to treat aggressive HER2-positive cancer is an urgent task. Targeted drug delivery using exosomes associated with DARRPin G3 scaffold proteins is one of the promising methods.

**Key words:** DARRPin, DARRPin G3, exosome, targeted therapy, breast cancer, HER2-positive cancer.

**For citations:** Tishkin G.V., Vereshchagina M.S., Kaitova Z.S. Perspectives for using exosomes for target delivery in HER2-positive breast cancer. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Suppl. 2): 137-140 (In Russian).

**Введение.** Целью нашего исследования было проведение обзора научной литературы по целесообразности использования экзосом как средства адресной доставки лекарственных средств при HER-2 положительном раке молочной железы.

**Материалы и методы.** Нами выполнен обзор имеющейся литературы по данной теме с 2002 по 2021 год. Использованные базы данных – MedLine и Google Scholar. Проведен сравнительный анализ имеющихся и перспективных методов лечения HER-2 положительного рака молочной железы, в том числе включающих адресную доставку и предлагаемого нового метода с использованием экзосом.

**Результаты и обсуждение.** Онкологические заболевания – одна из основных причин смерти в современном мире. В 2020 году зарегистрировано 19,3 млн случаев заболевания и 10,0 млн случаев смерти. Опухоли молочной железы – наиболее часто встречающийся тип и по данным на 2020 год составляет 11,7% от общего числа новых случаев появления у обоих полов [1].

Причина смерти от рака молочной железы среди женщин насчитывает 24,5% от общего числа новых случаев и 15,5% всех смертей от онкологических заболеваний [1].

В настоящий момент важное диагностическое значение для рака молочной железы имеет определение экспрессии определенных белков: рецепторов эстрогенов, рецепторов прогестерона, Ki-67 и HER2. Эти данные, наряду с размером опухоли (T), степенью дифференцировки (G) и метастазами в регионарные (N) и отдаленные (M) лимфатические узлы, позволяют типировать опухоль, и выбрать оптимальную методику лечения [2].

HER2+ опухоли молочной железы встречаются достаточно часто (15%-20%) и являются умеренно или низко дифференцированными, агрессивными, но характеризуются высоким риском рецидива и частым ранним метастазированием [3-5]. Стоит отметить, что HER2 – 2-й рецептор эпидермального фактора роста, трансмембранный белок массой 185 кДа, сверхэкспрессируется при данном подвиде рака [6]. Her2 представляет собой тирозинкиназу, передающую сигнал через пути PI3K/AKT/mTOR и Ras-Raf-MEK-ERK [7,8]. Его активация способствует увеличению размеров опухоли и повышению выживаемости, подвижности, адгезии и

метастатической активности опухолевых клеток [9]. Сообщается, что HER2+/CD44+ опухолевые стволовые клетки при также обладают более агрессивным фенотипом, чем HER2-/CD44+ [10]

Современные методики борьбы с HER-2+ опухолями молочной железы включают хирургическое лечение, лучевую терапию и химиотерапию. Также используется таргетная анти-HER-2 терапия с применением антител (трастузумаб, пертузумаб) и адресная доставка лекарственного препарата с использованием адо-трастузумаба [11-13]. Несмотря на то, что данные препараты повышают эффективность лечения, выявлено, что они практически не приводят к увеличению продолжительности жизни пациентов более 5 лет [14]. Поэтому поиск новых способов терапии HER2+ рака, в том числе новых способов адресной доставки лекарственных средств, представляет особый интерес.

К перспективным средствам адресной доставки относятся наночастицы, в частности, липосомы [15,16]. Обнаружено, что они снижают системную токсичность лекарственных препаратов и способны инкапсулировать малорастворимые вещества. В то же время установлено, что наночастицы обладают негативным воздействием на организм. Они вызывают иммунный ответ и окислительный стресс [17,18]. Этих недостатков лишены экзосомы. Экзосомы – небольшие (30-150 нм) мембранные пузырьки, покрытые двухслойной фосфолипидной мембраной. Экзосомы синтезируются большинством типов клеток и играют важную роль в межклеточной коммуникации [19]. Обнаружено, что в качестве транспортера лекарственных средств они характеризуются высокой биосовместимостью, низкой иммуногенностью и не обладают цитотоксическим эффектом. Экзосомы способны преодолевать гематоэнцефалический барьер, проникать и накапливаться в объеме солидной опухоли [20].

Экзосомы и их содержимое могут попадать в клетку путем эндоцитоза [21]. Однако, в то же время, производство экзосом сопряжено с трудностями, их можно выработать только с помощью культуры эукариотических клеток, в отличие от наночастиц, которых можно создать искусственно [22,23].

Был разработан способ создания таргетных экзосом с помощью присоединения к собственному белку экзосомы LAMP2b различных нацеливающих конструкций [24,25]. Для создания аффинных к HER 2+ клеткам экзосом создан лентивирусный вектор pLEX-LAMP DARPin [26,27]. Благодаря вектору возможно присоединение к белку LAMP2b пептида DARPin G3, обладающего высоким сродством к HER2.

Дарпины – небольшие каркасные белки на основе анкириновых повторов. Они хорошо растворимы в воде, устойчивы к действию протеаз и высоких температур. Установлено, что в отличие от антител дарпины обладают низкой иммуногенностью и высокой проникающей способностью [14]. Вероятнее всего, конструкция экзосома-DARPin G3 будет обладать более низкой иммуногенностью и будет легче проникать в объем солидной опухоли, чем аналогичная конструкция с антителами или наночастицами.

Была продемонстрирована высокая тропность адресных экзосом к HER-2 положительным клеткам [28]. Установлено, что препарат, загруженный в нецелевые экзосомы, не отличается по эффективности от свободного препарата [28]. В то же время выявлено более выраженное цитотоксическое действие загруженного в целевую экзосому лекарственного средства по сравнению с нецелевыми экзосомами [18]. Вероятнее всего, это происходит за счет их избирательного накопления в HER2+ клетках. Это подтверждается тем, что цитотоксический эффект препарата в целевых экзосомах усиливается со временем [22]. Таким образом, использование целевых экзосом, вероятнее всего, будет повышать противоопухолевый эффект препарата и снижать его системное воздействие. Также установлена способность таргетных экзосом уменьшать размеры HER2+ опухоли у мышей [22].

Исходя из сказанного выше, выявлено, что адресные экзосомы способны проникать в объем опухоли, накапливаться в клетках, гиперэкспрессирующих HER-2, избирательно доставлять в них лекарственные препараты, вызывать гибель опухолевых клеток и уменьшать размер опухоли. Данная конструкция также обладает низкой иммуногенностью и токсичностью.

Эту конструкцию можно использовать при других HER-2 положительных онкологических заболеваниях. HER2+ опухоли могут встречаться при раке легкого, мочевого пузыря и толстой кишки, могут насчитывать до 30% случаев при раке пищевода, желудка, яичника, эндометрия [29,30], и до 60% случаев при остеосаркоме [31].

При использовании других нацеливающих белков доставка лекарств с помощью экзосом может быть использована при иных онкологических заболеваниях.

Также, избирательное накопление таргетных экзосом в HER-2 положительных клетках рака молочной железы можно использовать для диагностики рака с использованием ПЭТ-КТ.

**Заключение.** Использование адресных экзосом, связанных с DARPin G3, лучше имеющихся методов таргетной терапии HER2+ опухолей молочной железы. Возможно применение в клинической

практике таргетных экзосом для диагностики и лечения HER-2 положительного рака молочной железы.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

#### Список литературы:

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(3): 209–249.
2. Gao J.J., Swain S.M. Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *Oncologist.* 2018; 23(5): 556–565.
3. Chen Y., Liu L., Ni R., Zhou W. Advances in HER2 testing. *Adv Clin Chem.* 2019; 91: 123–162.
4. Korkaya H., Wicha M.S. HER2 and breast cancer stem cells: more than meets the eye. *Cancer Res.* 2013; 73(12): 3489–3493.
5. Curigliano G., Burstein H.J., Winer E., Gnant M. et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol.* 2017; 28(8): 1700–1712.
6. Spizzo G., Obrist P., Ensinger C., Theurl I., et al. Prognostic significance of Ep-CAM AND Her-2/neu overexpression in invasive breast cancer. *Int J cancer.* 2002; 98(6): 883–888.
7. Lucas F.A.M., Cristovam S.N. HER2 testing in gastric cancer: An update. *World J Gastroenterol.* 2016; 22(19): 4619–4625.
8. Jiang N., Lin J.J., Wang J., Zhang B.M., et al. Novel treatment strategies for patients with HER2-positive breast cancer who do not benefit from current targeted therapy drugs (Review). *Exp Ther Med.* 2018; 16(3): 2183–2192.
9. Herbst R.S. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004; 59(2): S21–S26.
10. Duru N., Fan M., Candas D., Mena C. et al. HER2 associated radioresistance of breast cancer stem cells isolated from HER2-negative breast cancer cells. *Clin cancer Res.* 2012; 18(24): 6634–6647.
11. Waks A.G., Winer E.P. Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA.* 2019; 321(3): 288–300.
12. Kang I., Dong S., Lu J., Xia B. Recent Developments in HER2-Directed Therapy in Breast Cancer. *Curr Breast Cancer Rep.* 2019; 11(4): 311–325.
13. Harbeck N., Gnant M. Breast cancer. *Lancet.* 2017; 389(10074): 1134–1150.
14. Shilova O.N., Deyev S.M. DARPins: Promising scaffolds for theranostics. *Acta Naturae.* 2019; 11(4): 42–53.
15. Yousefpour P., Atyabi F., Vasheghani-Farahani E., Movahedi A.A.M., Dinarvand R. Targeted delivery of doxorubicin-utilizing chitosan nanoparticles surface-functionalized with anti-Her2 trastuzumab. *Int J Nanomedicine.* 2011; 6: 1977–1990.
16. Shmeeda H., Tzemach D., Mak L., Gabizon A. Her2-targeted pegylated liposomal doxorubicin: Retention of target-specific binding and cytotoxicity after in vivo passage. *J Control Release.* 2009; 136(2): 155–160.
17. Tang K., Zhang Y., Zhang H., Xu P. et al. Delivery of chemotherapeutic drugs in tumour cell-derived microparticles. *Nat Commun.* 2012; 3(1): 1–11.
18. Limoni S.K., Moghadam M.F., Moazzeni S.M., Gomari H., Salimi F. Engineered Exosomes for Targeted Transfer of siRNA to HER2 Positive Breast Cancer Cells. *Appl Biochem Biotechnol.* 2019; 187(1): 352–364.
19. Li P., Kaslan M., Lee S.H., Yao J., Gao Z. Progress in exosome isolation techniques. *Theranostics.* 2017; 7(3): 789–804.
20. Tarasov V.V., Svistunov A.A., Chubarev V.N., Dostdar S.A. et al. Extracellular vesicles in cancer nanomedicine. *Semin Cancer Biol.* 2021; 67: 212–225
21. El-Andaloussi S., Lee Y., Lakkhal-Littleton S., Li J. et al. Exosome-mediated delivery of siRNA in vitro and in vivo. *Nat Protoc.* 2012; 7(12): 2112–2126.
22. Gomari H., Moghadam M.F., Soleimani M., Ghavami M., Khodashenas S. Targeted delivery of doxorubicin to HER2 positive tumor models. *Int J Nanomedicine.* 2019; 14: 5679–5690.
23. Jafari D., Malih S., Eini M., Jafari R. et al. Improvement, scaling-up, and downstream analysis of exosome production. *Crit Rev Biotechnol.* 2020; 40(8): 1098–1112.
24. Alvarez-Erviti L., Seow Y., Yin H., Betts C., Lakkhal S., Wood M.J.A. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol.* 2011; 29(4): 341–345.
25. Salimi F., Forouzandeh Moghadam M., Rajabibazi M. Development of a novel anti-HER2 scFv by ribosome display and in silico evaluation of its 3D structure and interaction with HER2, alone and after fusion to LAMP2B. *Mol Biol Rep.* 2018; 45(6): 2247–2256.
26. Khodashenas S., Moghadam M.F., Moazzeni S.M. In Silico design and verification of a chimer protein to target exosomes towards HER2 positive cancer cells. *Biosci Biotechnol Res Asia.* 2016; 13(2): 911–916.
27. Khodashenas Limoni S., Salimi F., Forouzandeh Moghadam M. Designing pLEX-LAMP-DARPin lentiviral vector for expression of HER2 targeted DARPin on exosome surface. *J Maz Univ Med Sci.* 2017; 27(151): 12–23.
28. Gomari H., Moghadam M.F., Soleimani M. Targeted cancer therapy using engineered exosome as a natural drug delivery vehicle. *Onco Targets Ther.* 2018; 11: 5753–5762.
29. Iqbal N., Iqbal N. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Mol Biol Int.* 2014; 2014: 1–9.
30. Mahdi H., Hasipek M., Guan Y., Grabowski, D. et al.

Dual anti-HER2 therapy in HER2+ uterine and ovarian carcinomas: Durable effect with combined therapy. *Gynecol Oncol.* 2019; 154: 85–86.

31. Rainusso N., Brawley V.S., Ghazi A., Hicks, M.J. et al. Immunotherapy targeting HER2 with genetically

modified T cells eliminates tumor-initiating cells in osteosarcoma. *Cancer Gene Ther.* 2012; 19(3): 212–217