Review Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 12, Number 3 (July - August)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Medical Function of Bacterial Extracellular Vesicles

Maryam Ebrahimi Vargoorani[1,2], Mohammad Hossein Modarressi[3], Mojgan Sheikhpour[4,5], Seyed Davar Siadat[4,5]

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Microbiology, College of Basic Sciences, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Department of Medical Genetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
5. Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2017/11/13
Accepted: 2018/07/15
Available online: 2018/10/11

Article Subject:
Clinical Microbiology

IJMM 2018; 12(3): 140-159

Corresponding author:

Seyed Davar Siadat
Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
Tel: 09121442137
Email: d.siadat@gmail.com

Use your device to scan and read the article online

Abstract

Extracellular vesicles are nanoscale particles which were identified about fifty years ago. The studies have shown that all of the gram-negative bacteria secrete extracellular vesicles during their normal growth. Today, the production of membrane vesicles has been reported by gram-positive bacteria, parasites, fungi, and mycobacteria. Since these nanoscale particles carry many of the bacterial components such as DNA, RNA, protein, endotoxin, and virulence molecules, they play a very important role in interacting with the environment and other bacteria. For this reason, many of these vesicles are considered as the transmission of pathogens, antigenic protein compounds, and the development of non-cellular vaccines, as well as drug delivery agents. The studies, have been carried in this field so far, have been focused on the pathogenic and physiological roles of these nanostructures in cross-species relationships. The focus of this article is on the role of extracellular bacterial vesicles and pathological and physiological functions which contribute to the interactions between bacteria and bacterium-host. Since these nanostructures play significant role in pathogenesis, gene transduction, regulation of gene expression, immune response regulation, and cellular signaling, further studies are needed on the medical application of these nanostructures as a new generation of vaccines, adjuvants, drug delivery agents.

Keywords: Extracellular vesicles; Adjuvants; Vaccine; Bacterium; Medical application

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Ebrahimi Vargoorani M, Modarressi M H, Sheikhpour M, Siadat S D. Medical Function of Bacterial Extracellular Vesicles. Iran J Med Microbiol. 2018; 12 (3) :140-159

مقاله مروری

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۲ – شماره ۳ – مرداد-شهریور ۱۳۹۷

Journal homepage: www.ijmm.ir

عملکرد و کاربردهای پزشکی وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها

مریم ابراهیمی ورگورانی[۱،۲]، محمد حسین مدرسی[۳]، مژگان شیخ‌پور[۴،۵]، سید داور سیادت[۴،۵]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲. گروه میکروب‌شناسی، دانشکدهٔ علوم‌پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۳. گروه ژنتیک پزشکی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴. بخش سل و تحقیقات ریوی، انستیتو پاستور، تهران، ایران
۵. مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله

دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۲۲

پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۲۴

انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۰۷/۱۹

موضوع:

میکروب شناسی بالینی

IJMM1397;12(3): 140-159

نویسندهٔ مسئول:

سید داور سیادت

بخش سل و تحقیقات ریوی، انستیتو پاستور، تهران، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۱۴۴۲۱۳۷

پست الکترونیک:

d.siadat@gmail.com

چکیده

وزیکول‌های خارج‌سلولی، نانوساختارهای سلولی هستند که در حدود ۵۰ سال پیش شناسایی شدند. مطالعات نشان داده است که تقریبا همه باکتری‌های گرم منفی، طی رشد طبیعی خود، وزیکول‌های خارج‌سلولی را ترشح می‌کنند. امروزه تولید وزیکول‌های غشایی از سوی باکتری‌های گرم مثبت، انگل‌ها، قارچ‌ها و مایکوباکتری‌ها نیز گزارش شده است. از آنجایی که این ذرات نانومتری بسیاری از اجزای باکتریایی مانند DNA، RNA، پروتئین، اندوتوکسین و مولکول‌های ویرولانس را حمل می‌کنند، در تعامل با محیط و دیگر باکتری‌ها نقش بسیار مهمی دارند؛ به همین جهت بسیاری از این وزیکول‌ها در ارتباط با انتقال عوامل بیماری‌زا، ترکیبات پروتئینی آنتی‌ژنیک و توسعهٔ واکسن‌های غیرسلولی و همچنین به‌عنوان انتقال‌دهنده‌های دارو مطرح هستند. مطالعات صورت‌گرفته در این زمینه تا به امروز بیشتر در ارتباط با نقش‌های بیماری‌زایی و فیزیولوژیکی این نانوساختارها در ارتباطات بین‌گونه‌ای بحث می‌کند. بر این اساس در این مقاله به نقش وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها و نیز عملکردهای پاتولوژی و فیزیولوژی که در میان کنش‌های بین باکتری‌ها و همین‌طور باکتری و میزبان نقش دارند، پرداخته خواهد شد. از آنجایی که وزیکول‌های خارج‌سلولی در بیماری‌زایی، انتقال افقی ژن، تنظیم بیان ژن، تنظیم پاسخ ایمنی و پیام‌رسانی سلولی نقش مؤثری دارند، مطالعات بیشتری در زمینهٔ کاربرد پزشکی این نانوساختارها به‌عنوان نسل جدیدی از واکسن‌ها، ادجوانت‌ها و عوامل انتقال‌دهندهٔ دارو موردنیاز است.

کلمات کلیدی: وزیکول‌های خارج‌سلولی، ادجوانت، واکسن، باکتری، کاربرد پزشکی

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفادهٔ علمی از این مقاله برای مجلهٔ میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان اجزای تکاملی حفاظت شدهٔ بین سلولی هستند. همهٔ انواع قلمروهای حیات روی زمین که شامل باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت و یوکاریوت‌ها هستند، به شکل فعال وزیکول‌هایی با اندازهٔ نانومتری ترشح می‌کنند (۲، ۱). این ساختارها گرد، دولایه و حاوی مواد فعال بیولوژیکی ازجمله پروتئین، لیپید، اسیدنوکلئیک و متابولیت‌ها هستند (۵-۳). اصطلاحات متنوعی برای وزیکول‌های خارج‌سلولی در نظر گرفته می‌شود که شامل وزیکول‌های غشایی در ارتباط با باکتری‌های گرم مثبت و آرکی‌ها، وزیکول‌های غشای خارجی برای گرم منفی‌ها و اکتوزوم و اگزوزوم دربارهٔ سلول‌های پستانداران است (۶).

وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی نخستین بار در سال ۱۹۶۰ در مطالعات ساختارهای باکتریایی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مشاهده شدند (۷) (شکل ۱). این وزیکول‌های خارج‌سلولی قطری بین ۲۰۰-۲۰ نانومتر دارند و از بسیاری از باکتری‌های گرم منفی ترشح می‌شوند (۱۲-۸).

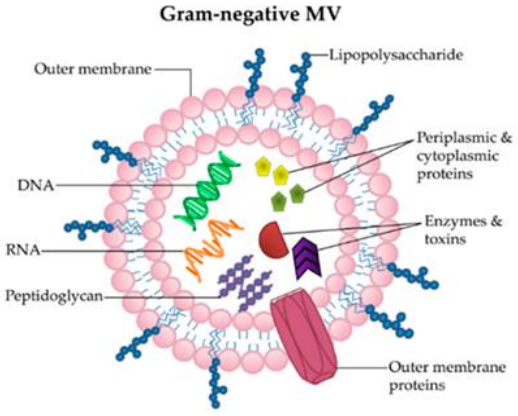
علاوه بر این وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی در شرایط محیطی مختلف کشف شدند؛ ازجمله در شرایط آزمایشگاهی در داخل بیوفیلم (۱۵-۱۳)، به‌صورت آزاد و یا در

محیط‌های طبیعی همانند فاضلاب، خاک، مایعات بیولوژیکی و بافت‌ها، مایعات مغزی ـ نخاعی و خون و حتی در معدهٔ بیماران آلوده به *Helicobacter pylori* (۱۶, ۱۷).

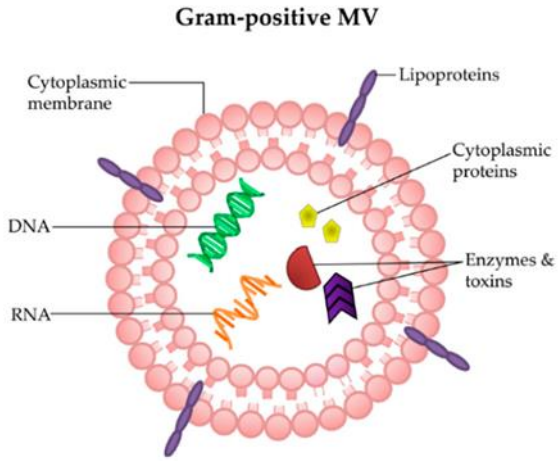
وزیکول‌های خارج‌سلولی از باکتری‌های گرم منفی با جوانه‌زدن از غشای خارجی آزاد می‌شود و محتویات داخل این وزیکول‌ها از فضای پری پلاسمیک نشئت می‌گیرد (۱۸, ۱۹). به نظر می‌رسد که هیچ سد فیزیکی برای آزادسازی این وزیکول‌ها به فضای خارج‌سلولی وجود ندارد؛ اما از طرف دیگر به‌دلیل حضور دیوارهٔ ضخیم در باکتری‌های گرم مثبت، قارچ‌ها و مایکوباکترها پژوهش‌های ناچیزی در ارتباط با وزیکول‌های خارج‌سلولی صورت گرفته است زیرا تصور بر این بوده که این وزیکول‌ها از چنین سدهای بزرگ نمی‌توانند عبور کنند.

برخلاف باکتری‌های گرم منفی دیوارهٔ باکتری‌های گرم مثبت حاوی پپتیدوگلیکان ضخیم هستند و همچنین غشای خارجی در این گروه از باکتری‌ها وجود ندارد. در سال ۱۹۹۰ ساختارهای شبیه وزیکول در باسیلوس گزارش شد (۲۰). به‌تازگی تولید این نانوساختارها در انواع دیگری از باکتری‌های گرم مثبت شرح داده شده است. وزیکول‌های خارج‌سلولی در باکتری‌های گرم مثبت بین ۲۰ تا ۱۰۰ نانومتر قطر دارند که قابل‌مقایسه با وزیکول‌های خارج‌سلولی مترشحه از باکتری‌های گرم منفی هستند (شکل ۲). این وزیکول‌ها حاوی پروتئین‌های متنوعی هستند که برای بقا و ویرولانس باکتری اهمیت دارند (۱).

رهایی وزیکول‌های خارج‌سلولی سلول‌های یوکاریوتی در سال ۱۹۷۰در قارچ‌ها، طی مطالعهٔ پاتوژن فرصت‌طلب *Cryptococcus neoformans* با میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد.



شکل ۱. ساختار و اجزای تشکیل‌دهندهٔ وزیکول خارج‌سلولی در باکتری‌های گرم منفی



شکل ۲. ساختار و اجزای تشکیل‌دهندهٔ وزیکول‌های خارج‌سلولی در باکتری‌های گرم مثبت

نقش وزیکول‌های خارج‌سلولی در باکتری‌ها

وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان سیستم ترشحی برای ترشح توکسین، آنزیم و عوامل بیماری‌زایی در باکتری‌ها می‌توانند عمل کنند (۲۱، ۲۲). از طرف دیگر این ساختارها می‌توانند بقای باکتری‌ها را افزایش دهند. مقاومت در برابر ترکیبات ضدباکتریایی می‌تواند با آزادسازی این وزیکول‌ها در همهٔ مراحل رشد باکتری اتفاق بیفتد. در واقع تولید این وزیکول‌ها می‌تواند بقای باکتری‌ها را در زمانی که از سوی فاژها مورد حمله قرار می‌گیرند، افزایش دهد. همچنین این ساختارها می‌توانند مواد ضدباکتریایی همانند کمپلمان و آنتی‌بیوتیک‌ها را حذف کنند (۷، ۲۱، ۲۲). برخی از وزیکول‌های خارج‌سلولی محتوی آنزیم‌هایی همانند زایلاناز وسلولاز هستند که این امر می‌تواند مزیتی برای باکتری‌های تولیدکنندهٔ این وزیکول‌ها در راستای کسب مواد غذایی باشند (۲۱، ۲۳). وزیکول‌های خارج‌سلولی می‌توانند دربیماری‌زایی، کروم سنسینگ، کسب مادهٔ غذایی و میان‌کنش‌های انگل و میزبان نقش داشته باشند. این نانوساختارها یک محیط محافظتی برای موادی همچون مولکول‌های کروم سنسینگ نظیر ۲هپتیل ۲هیدروکسی ۴کینولون (PQS یا سیگنال کینولون سودوموناس) نیز هستند. علاوه بر این، DNA ژنومیک داخل وزیکول‌های خارج‌سلولی یافت می‌شود. از این پدیده می‌توان نتیجه گرفت که این ساختارها به عنوان سیستم انتقال DNA عمل می‌کنند (۷، ۲۴). غشای لیپیدی در اطراف وزیکول‌های غشایی سبب محافظت محتویات داخلی این ساختارها می‌شود. وزیکول‌های غشایی، محتویات خود را از تخریب توسط نوکلئازها (۲۵) محافظت می‌کنند؛ به‌طوری که خاصیت و

فعالیت آنزیمی و خاصیت آنتی‌ژنی محتویات خود را در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس و دماهای بالاتر حفظ می‌کنند. در یک مطالعه نشان داده شد که آنزیم فسفودی استرازی که داخل وزیکول‌های غشایی *Escherichia coli* بسته‌بندی می‌شود، فعالیت آنزیمی خود را در مدت‌زمان طولانی و صدبرابر بیشتر از فرم آزاد این آنزیم حفظ می‌کند. در مطالعهٔ دیگر نشان داده شد که خاصیت آنتی‌ژنی وزیکول‌های غشایی *Neisseria. meningitidis* در درجهٔ حرارت ۴ درجهٔ سلسیوس به‌مدت یک سال و در ۳۷ درجهٔ سلسیوس به مدت ۳ ماه حفظ می‌شود (۲۶). در واقع این مطالعات مقاومت طولانی‌مدت وزیکول‌های غشایی را روشن می‌سازد.

عملکردهای وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی

وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی عملکردهای پاتولوژیکی و فیزیولوژیکی متعددی در ارتباطات باکتری ـ باکتری و باکتری ـ میزبان به‌واسطهٔ محتویات داخل وزیکولی خود دارند (۲۸، ۲۷، ۲۵).

نقش وزیکول‌های خارج‌سلولی در ارتباطات باکتری ـ باکتری

باکتری‌ها از وزیکول‌های خارج‌سلولی خود در راستای ارتباط با سایر باکتری‌ها و همچنین تعدیل محیط میکروبی پیرامون خود استفاده می‌کنند. وزیکول‌های خارج‌سلولی سبب افزایش ارتباطات سلول‌به‌سلول و تنوع ژنتیکی از طریق انتقال افقی ژن می‌شوند (۷،۲۸،۲۹). در واقع وزیکول‌های خارج‌سلولی با روش‌های متنوعی سبب ارتباطات باکتری ـ باکتری می‌شوند؛ از جمله، وزیکول‌های خارج‌سلولی *Pseudomonas aeruginosa* نقش مهمی در انتقال یکی از مولکول‌های کروم‌سنسینگ به نام PQS دارند و این مولکول‌های PQS داخل وزیکولی می‌توانند با باکتری‌ها به‌صورت مستقیم از طریق LPS ارتباط برقرار کنند (۲۳).

وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتریایی می‌توانند در تشکیل بیوفیلم و به‌عنوان ابزار رقابت‌کننده در باکتری‌ها عملکرد داشته باشند. وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها می‌توانند هم باکتری‌های گرم منفی و هم گرم مثبت را به کمک آنزیم تخریب‌کنندهٔ پپتیدوگلیکان از بین ببرند (۲۹). باکتری لیزوباکتر در داخل وزیکول‌های خود اندوپپتیداز L5 دارد که می‌تواند باکتری‌های رقابت‌کننده را از بین ببرد (۳۰).

وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌توانند بقای باکتریایی را هم تحت‌تأثیر قرار دهند؛ برای مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی *P.aeruginosa*، پروتئین بتا لاکتاماز را حمل می‌کنند که به این وسیله می‌توانند بقای باکتری‌های دیگری که حساس به آنتی‌بیوتیک هستند را افزایش دهند (۳۱). علاوه براین، وزیکول‌های خارج‌سلولی می‌توانند در مقاومت‌های چنددارویی هم نقش داشته باشند (۳).

وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی، بقای باکتری را به‌دلیل وجود مولکول‌های نجات‌دهنده افزایش می‌دهند. برای مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی *Moraxella catarrhalis* به بقای *Haemophilus influenzae* در مقابل حملات میانجی‌گرهای کمپلمان کمک می‌کنند (۳۲). به‌علاوه وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها با خارج‌کردن پروتئین‌هایی که ساختار خود را از دست داده‌اند، استرس‌های داخلی را کاهش می‌دهند (۳۳).

نقش وزیکول‌های خارج‌سلولی در میان‌کنش‌های باکتری ـ میزبان

میان‌کنش بین وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی با میزبان، منجر به پاسخ‌های متنوعی ازجمله غیرایمونوژنیک تا پیش‌التهابی و یا سایتوتوکسیک برحسب نوع سلول‌های هدف، گونهٔ باکتریایی و مقدار وزیکول می‌شود (۱۷).

نقش وزیکول‌های خارج‌سلولی در اختلال ایمنی و ایجاد بیماری

از آنجایی که وزیکول‌های خارج‌سلولی پاسخ‌های ایمنی ذاتی را دچار اختلال می‌کنند، می‌توانند بیماری‌زایی باکتری را در میزبان سرعت بخشند. میان‌کنش‌های بین وزیکول‌های خارج‌سلولی و سلول‌های اپیتلیالی در سطح مخاط می‌تواند منجر به تخریب یکپارچگی سلول‌های اپیتلیالی شده و خود این عمل سبب بیماری‌زایی می‌شود. برای مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی به روش‌های متعددی مثل رافت‌های لیپیدی غنی از کلسترول وارد سلول‌های اپیتلیال مخاط (در تعدادی از باکتری‌ها همانند وزیکول‌های خارج‌سلولی *Helicobacter pylori*، *Porphyromonas gingivalis* و *P. aeruginosa*) شده و با تخریب یکپارچگی مخاط سبب بیماری‌زایی این گروه از باکتری‌ها می‌شوند (۳۶-۳۴).

سلول‌های اپیتلیالی انسان تعدادی از مولکول‌های پیش‌التهابی همانند IL-8 را در پاسخ به وزیکول‌های خارج‌سلولی ناشی از

پاتوژن‌هایی مثل *H.pylori* (۳۷)، *Campylobacter jejuni* (۳۸) و *E.coli* (۳۹) تولید می‌کنند.

وزیکول‌های خارج‌سلولی و تعدیل سیستم ایمنی

میان‌کنش‌هایی که بین وزیکول‌های خارج‌سلولی و سلول‌های اپیتلیالی وجود دارد، می‌توانند مکانیسم‌های سلولی را تعدیل کنند و خود این پدیده می‌تواند مکانیسم‌های سلولی همانند آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلولی) (۴۰،۴۱)، تکثیر (۴۲) و درنهایت پاسخ‌های ایمنی را کنترل کند. *Cronobacter sakazakii* به‌عنوان یک عامل ایجادکنندهٔ مننژیت نوزادان و انتروکولیت، وزیکول‌های خارج‌سلولی تولید می‌کند که از طریق سلول‌های اپیتلیالی ورود پیدا می‌کند و باعث القای تکثیر سلولی و ترشح IL-8 می‌شود و درنهایت بقای باکتری را سرعت می‌دهد (۴۳). علاوه بر این RNA باکتریایی که در وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌هایی مثل *E.coli*(۴۴)، *P.aeruginosa* (۴۵)، *P.gingivalis* (۴۶) و *Vibrio cholerae* (۴۷) وجود دارد توانایی تحریک سیستم ایمنی را در سلول‌های اپیتلیال دارد. وزیکول‌های خارج‌سلولی که از سوی *اشریشیا کول* بسیار ویرولانت O104:H4 تولید می‌شوند، از طریق اندوسیتوز وارد سلول‌های اپیتلیال دستگاه گوارش انسان شده و درنهایت منجر به القای آپوپتوز وابسته به کاسپاز۹ و تولید IL-8 می‌شوند (۴۰).

میان‌کنش وزیکول‌های خارج‌سلولی با سیستم ایمنی ذاتی

با توجه به مطالعات صورت‌گرفته، معلوم شده است که وزیکول‌های خارج‌سلولی می‌توانند نقش مهمی در کشتار وابسته به کمپلمان باکتریایی داشته باشند؛ بنابراین می‌توانند بقای پاتوژن را در میزبان تسهیل کنند. وزیکول‌های خارج‌سلولی *V.cholerae* محتوی فاکتور ویرولانس ompU هستند که بقای این باکتری را از طریق کشته‌شدن به‌واسطهٔ کمپلمان افزایش می‌دهند (۴۸).

وزیکول‌های خارج‌سلولی *P.gingivalis* محتوی آنزیم Peptidyl arginine deiminase است که عملکرد فاکتور کمپلمانی C5a را مختل می‌کند و این پدیده تهاجم *P.gingivalis* را تسریع می‌سازد (۴۹). وزیکول‌های خارج‌سلولی *N.meningitidis* به پنتاکسین ۳ متصل می‌شود که از جمله گلیکوپروتئین‌های فاز التهابی حاد است و در فعال‌شدن کمپلمان نقش دارد (۵۰). مطالعات اولیه مشخص کرد که وزیکول‌های خارج‌سلولی، حاوی تعدادی از الگوهای مولکولی در ارتباط با میکروارگانیسم همانند: لیپوپروتئین، DNA، RNA، لیپوپلی‌ساکارید و پپتیدوگلیکان هستند که می‌توانند با رسپتورهای شناسایی‌کننده الگو میزبان میان‌کنش دهند و نهایتا منجر به القای پاسخ ایمنی ذاتی شوند (شکل۱). برای مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی تولیدشده از سوی *H.pylori*، *Neisseria gonorrehoeae* و *P.aeruginosa* وارد سلول‌های اپیتلیالی میزبان می‌شوند و درنهایت از طریق رسپتور ایمنی سیتوپلاسمی NOD1 شناسایی می‌شوند که منجر به ایجاد پاسخ‌های ایمنی ذاتی وابسته به وزیکول‌های خارج‌سلولی در رفتار وابسته به NOD1 خواهد شد (۳۶). به‌تازگی نشان داده شده است که وزیکول‌های خارج‌سلولی با رسپتورهای Toll-like بیان شده در سطح سلول‌های اپیتلیال ارتباط برقرار می‌کنند و باعث القای پاسخ‌های التهابی در میزبان می‌شوند؛ به‌عنوان مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی *Salmonella typhimurium*، *Yersinia pseudotuberculosis* و *Yersinia pestis* که پاسخ‌های التهابی از طریق TLR-4 را میانجی‌گری می‌کنند (۵۱). علاوه بر این، وزیکول‌های خارج‌سلولی می‌توانند از طریق TLR های سلول‌های ایمنی ذاتی سیگنال دهند تا بیماری‌زایی و التهاب را تنظیم کنند. برای مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی *P.gingivalis*، پاسخ‌های TNFα از سوی مونوسیت‌ها را در پاسخ وابسته به TLR-4 خنثی می‌کنند (۵۲). وزیکول‌های خارج‌سلولی *Bacteroides fragilis* محتوی پلی‌ساکاریدهای کپسولی است که می‌توانند از طریق TLR-2 با سلول‌های دندریتیک ارتباط برقرار کنند و تمایز سلول‌های T تنظیمی تولیدکننده IL-10 و حفاظت در برابر کولیت ایجادشده را میانجی‌گری کنند (۵۳).

نقش وزیکول‌های خارج‌سلولی در تعدیل پاسخ‌های ایمنی اکتسابی

تعدیل پاسخ‌های ایمنی اکتسابی علیه باکتری‌های بیماری‌زا با مکانیسم‌های مختلفی صورت می‌گیرد. اختلاف در توانایی وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌منظور فعال یا سرکوب‌کردن پاسخ‌های ایمنی می‌تواند وابسته به محتویات آن باشد و دارای منشأ باکتریایی باشد. برای مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی *N.meningitidis* می‌توانند فعال‌شدن و تکثیر T-cell های +CD4 را مهار کنند و نوعی سرکوب ایمنی را در اطراف جایگاه عفونت ایجاد کنند (۵۴) و یا اینکه تکثیر سلول‌های CD4+ T cells را القا سازند (۵۵). این یافته‌های متناقض در سویه‌های مختلف باکتریایی نشان می‌دهد که به

پژوهش‌های بیشتری در این زمینه نیاز است (۵۵). وزیکول‌های خارج‌سلولی *H.pylori* پاسخ‌های ایمنی را تعدیل می‌کنند؛ به طوری که تکثیر CD4+ T cells را مهار و باعث القای آپوپتوز می‌شود (۵۶). در مقابل وزیکول‌های خارج‌سلولی *Haemophilus* و *Moraxella*می‌توانند سلول‌های B انسانی را فعال کنند (۵۷).

وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم مثبت

شواهدی مستقیم در ارتباط با تولید وزیکول‌های خارج‌سلولی در باکتری‌های گرم مثبت به‌وسیلهٔ میکروسکوپ الکترونی ترانسمیشن و آنالیز پروتئومیکس وجود دارد (۱). در پژوهشی وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* از سوپرناتانت جداسازی شد. این وزیکول‌های جداسازی‌شده گرد، دولایه و ساختارهای غشایی بسته با قطر۱۰۰-۲۰ نانومتر بودند (شکل۲). علاوه براین آنالیز پروتئومیکس، آشکار ساخت که وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* محتوی ۹۰ پروتئین وزیکولی است. این وزیکول‌ها حاوی پروتئین‌های ویرولانت خارج‌سلولی و یا در ارتباط با سطح همانند: بتالاکتاماز، کوآگولاز، همولیزین و پروتئین متصل‌شونده به IgG (SbI) هستند (۵۸).

مطالعات بیشتر در ارتباط با گونه‌های گرم مثبت، آشکار ساخت که *Bacillus anthracis*، *Streptomyces coelicolor*، *Listeria monocytogenes*، *Clostridium perfringens*، *Streptococcus mutans*، *Streptococcus pneumoniae*، *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus casei* هم وزیکول‌های خارج‌سلولی تولید می‌کنند (۱،۵۹،۶۰).

این مشاهدات بیان می‌کند که ترشح وزیکول‌های خارج‌سلولی یک پروسهٔ کاملا حفاظت‌شدهٔ تکاملی در باکتری‌های گرم مثبت است.

وزیکول‌های خارج‌سلولی *استافیلوکوکوس اورئوس*

بعد از کشف اولیهٔ وزیکول‌های خارج‌سلولی *استافیلوکوکوس اورئوس* ATTC14458 که شامل بسیاری از پروتئین‌های ویرولانت و پاتوژنیک بود (۱)، نقش‌های عملکردی در میان‌کنش‌های باکتری ـ باکتری و باکتری ـ میزبان آنها در طول پنج سال گذشته گزارش شد. در سال ۲۰۱۱ برای نخستین بار ارتباط وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* با پیشرفت درماتیت آتوپیک گزارش شد (۶۱). در مطالعهٔ دیگر ثابت شد که وزیکول‌های خارج‌سلولی، فیبروبلاست‌های پوستی را فعال می‌کنند تا واسطه‌های پیش‌التهابی بیان شوند (۵۸). به‌علاوه خود وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* سبب ضخیم‌شدن اپیدرم و التهابی شبیه درماتیت آتوپیک می‌شوند (با افزایش نفوذ ائوزینوفیل‌ها و ماست سل‌ها). علاوه بر این مشاهده شد که آنتی‌بادی‌های IgE اختصاصی بر علیه وزیکول‌های خارج‌سلولی در بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک بیشتر از افراد سالم است. به‌تازگی Hong و همکاران نقش مهم آلفاهمولیزین وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* را در تخریب پوستی و درماتیت آتوپیک آشکار ساختند (۶۲). وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* هر دو نوع Th1 وTh17 را القا می‌کنند و باعث التهاب نوتروفیلی ریه می‌شوند و افزایش حساسیت مسیر تنفسی نسبت به انواعی از آلرژن‌ها را در پی خواهند داشت (۶۳). وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* حاوی بتالاکتاماز باعث بقای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی حساس به آمپی‌سیلین تحت حضور و فشار آمپی‌سیلین می‌شوند. علاوه بر *S.aureus* ATTC14458 (۱،۶۱-۶۴) شواهد بیشتر نشان داد که گونه‌های آزمایشگاهی دیگر و ایزوله‌های کلینیکی *S.aureus* هم وزیکول‌های خارج‌سلولی در محیط کشت ترشح می‌کنند. مهم‌تر اینکه وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* در زخم بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک (۶۲) و هم در بافت ریهٔ موش‌های آلوده به *S.aureus* مورد شناسایی قرار گرفتند (۶۵). در واقع همهٔ این شواهد نشان می‌دهد که تولید وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌صورت معمول اتفاق می‌افتد. علاوه بر نقش این وزیکول‌ها در میان‌کنش باکتری ـ میزبان وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* می‌توانند فعالیت سایتوتوکسیک بر بسیاری از سلول‌ها داشته باشند؛ مانند وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* که حاوی آلفاهمولیزین هستند و فعالیت سایتوتوکسیسیتهٔ بیشتری روی کراتینوسیت‌های انسانی HaCaT نسبت به نوع محلول آلفاهمولیزین دارند (۶۲).

وزیکول‌های خارج‌سلولی دیگر باکتری‌های گرم مثبت

B. anthracis، باکتری تولیدکنندهٔ اسپور و مولد سیاه‌زخم در مهره‌داران است. رهاسازی وزیکول در *B. anthracis* نیز گزارش شده است. این وزیکول‌ها یک ساختار غشایی دولایه با قطر۵۰ تا ۳۰۰ نانومتر دارند. اجزای توکسین آنتراکس که شامل آنتی‌ژن محافظتی، فاکتورکشنده، عامل ایجادکنندهٔ ورم و آنترولیزین

هستند، در وزیکول‌های غشایی *B. anthracis* شناسایی شده‌اند (۵۹). بر این اساس مطالعات نشان داده است که موش‌های ایمن شده با وزیکول‌های *B. anthracis* در برابر این باکتری، ایمن می‌شوند (۵۹).

Mycobacterium ulcerans، باکتری‌ای با رشد کند است که پوست و بافت‌های زیرجلدی را درگیر می‌کند و به‌عنوان یک عامل اتیولوژیک از زخم Buruli است. مایکولاکتون به‌عنوان تنها فاکتور ویرولانس ایجادکنندهٔ زخم Buruli است (۶۶).

M.ulcerans بیوفیلمی از ماتریکس خارج‌سلولی تشکیل می دهد که این ماتریکس حاوی وزیکول و مایکولاکتون است. وزیکول‌های حاصل از *M.ulcerans* فعالیت سایتوتوکسیک دارد که به نظر می‌رسد به‌دلیل حضور مایکولاکتون در این وزیکول‌ها است (۶۷). Prados-Rosales و همکاران (۲۰۱۱)، کشف کردند که سویه‌های مایکوباکتریوم ویرولانت و غیرویرولانت مانند *Mycobacterium bovis*، *Mycobacterium tuberculosis*، *Mycobacterium Kansasii* و *Mycobacterium phlei*، *Mycobacterium avium* وزیکول‌های غشایی آزاد می‌کنند. آنالیز پروتئومیکس آشکار ساخت که فقط وزیکول‌هایی از *M.bovis* و *M.tuberculosis* غنی از پروتئین‌هایی در ارتباط با فاکتور ویرولانس هستند؛ زیرا این وزیکول‌ها حاوی لیگاندهای TLR2 همانند لیپوپروتئین ۱۹کیلودالتونی، LprA، LprG هستند. میان‌کنش وزیکول‌های غشایی با ماکروفاژهای موش باعث القای سیتوکاین و کموکاین از طریق مسیر وابسته به TLR-2 می‌شوند (۶۸).

Listeria monocytogenes، یک باکتری بیماری‌زای انتقال‌یابنده از طریق غذا است که نسبت به استرس‌های محیطی مختلف مقاومت دارد. به‌تازگی آزادسازی وزیکول‌های خارج‌سلولی از این باکتری گزارش شده است. یک موتانت از این باکتری در ارتباط با این پرسش که آیا فاکتور رونویسی مربوط به شرایط استرس σB، تولید وزیکول‌های غشایی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد یا خیر مورد بررسی قرار گرفت. *L. monocytogenes* وحشی و موتانت sigB، وزیکول‌هایی از ۲۰ تا ۱۰۰ نانومتر را تولید می‌کنند. وزیکول‌های غشایی خالص‌شده توسط LC–ESI–MS/MS آنالیز شدند. ۱۳۰ پروتئین در وزیکول‌های غشایی سویه وحشی و ۱۸۰ پروتئین به‌عنوان پروتئین‌های وابسته به σB در *L.monocytogenes* تحت شناسایی قرار گرفت. اینترنالین B و لیستریولیزین O در وزیکول‌های غشایی شناسایی شدند و مشخص شد که هم در سویهٔ وحشی و هم سویهٔ موتانت، اینترنالین B برای ورود *L.monocytogenes* به سلول‌های اپیتلیال میزبان نیاز است؛ در حالی که لیستریولیزین O باعث لیز واکوئل‌ها می‌شود (۶۹).

لاکتوباسیلوس یک جنس از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری گرم مثبت است (۷۰). به‌طور کلی این باکتری، غیربیماری‌زا و بی‌خطر شناخته شده و به‌طور گسترده در غذاهای تخمیری مورد استفاده قرار می‌گیرد. اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها تحت بررسی‌های گستردهٔ آزمایشگاهی و کلینیکی ثابت شده است (۷۲، ۷۱). لاکتوباسیل‌ها، آپوپتوز القاشده (۷۳) از سوی سایتوکاین را مهار می‌کنند و همین‌طور بیماری‌زایی پاتوژن‌هایی همانند *E.coli* (۷۴) و انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین (۷۵) را کاهش می‌دهند. لاکتوباسیلوس‌ها می‌توانند اثرات تعدیل‌کننده روی مکانیسم‌های مختلف داشته باشند؛ همانند اتصال مستقیم به C-type lectin receptors و یا Toll-like receptors در سطح سلول میزبان که یکی از مکانیسم‌های تعدیل‌کننده محسوب می‌شود (۷۷، ۷۶). برای مثال تجویز *لاکتوباسیلوس کازئی* CRL 431، بیان TLR2، TLR9،TLR4 را افزایش می‌دهد و تولید TNFα و IFN γ و IL-10 را بهبود می‌بخشد (۷۶). از طرف دیگر لاکتوباسیل‌ها مواد ضدمیکروبی را تولید می‌کنند که رشد پاتوژن‌های مختلف را مهار می‌کنند؛ برای مثال باکتریوسین ترشح‌شده از سوی لاکتوباسیل‌ها باعث ایجاد منفذ در غشای پاتوژن‌ها و درنهایت منجر به نشت سلول هدف می‌شود (۷۹, ۷۸). امروزه مطالعات ثابت کرده است که وزیکول‌های خارج‌سلولی لاکتوباسیل‌ها و پروتئین‌های مربوط به آنها می‌توانند فعالیت سلول‌های ایمنی را تعدیل کرده و پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی را تحت‌تأثیر قرار دهند (۸۱, ۸۰). برای مثال وزیکول‌های خارج‌سلولی لاکتوباسیل‌ها پاسخ‌های سلولی TLR2/1 و TLR4 را افزایش می‌دهند در حالی که انتقال سیگنال TLR2/6 را مهار می‌کنند (۸۲).

در مطالعه‌ای پژوهشگران دریافتند که وزیکول‌های خارج‌سلولی *Lactobacillus plantarum* توانایی افزایش بیان ژن‌های دفاعی میزبان را دارد؛ به طوری که می‌توان از وزیکول‌های خارج‌سلولی این باکتری در درمان *Enterococcus faecium* مقاوم به ونکومایسین استفاده کرد (۸۳).

در پژوهش دیگری ثابت شد که وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری *پروبیوتیک Bifidobacterium longum* می‌توانند به سلول‌های اپیتلیالی روده نفوذ کرده و پاسخ‌های آلرژیک نسبت به موادغذایی را کاهش دهد (۸۴).

وزیکول‌های خارج‌سلولی پاتوژن‌های غیرباکتریایی

امروزه شواهد قطعی در ارتباط با اینکه باکتری‌های گرم مثبت، قارچ‌ها و مایکوپلاسماها وزیکول‌های خارج‌سلولی تولید می‌کنند وجود دارد این وزیکول‌ها در دسترس بوده و از نظر بیولوژیکی فعال هستند و در بیماری‌زایی بسیاری از بیماری‌ها نقش دارند (۸۵).

پاتوژن‌های غیرباکتریایی هم وزیکول‌های خارج‌سلولی تولید می‌کنند که عامل بیماری‌زایی هستند. *Trichomonas vaginalis* وزیکول‌های خارج‌سلولی تولید می‌کند که وارد سلول‌های اکتوسرویکال شده، باعث القای تولید IL-6 و IL-8 می‌شوند و اتصال انگل به سلول‌های میزبان را تسریع می‌کنند (۸۶).

وزیکول‌های خارج‌سلولی *Trypanosoma brucei*، پروتئین‌های مقاومت سرمی را به دیگر تریپانوزوما انتقال می‌دهند و کم‌خونی را در میزبان القا می‌کنند (۸۷).

سلول‌های یوکاریوتیک که به‌وسیلهٔ پاتوژن‌های داخل سلولی آلوده می‌شوند نیز می‌توانند وزیکول‌های خارج‌سلولی تولید کنند که شامل اجزایی از پاتوژن و میزبان باشند. اگرچه بسیاری از وزیکول‌های مشتق از میزبان ـ پاتوژن وجود دارد اما همهٔ آنها وزیکول‌های خارج‌سلولی نامیده می‌شوند.

انگل‌هایی مثل *Plasmodium falciparum* هم می‌توانند سبب تولید وزیکول‌های خارج‌سلولی از سلول‌های آلودهٔ میزبان شوند. وزیکول‌های خارج‌سلولی *P.falciparum* حاوی پروتئین‌های تعدیل‌کنندهٔ سیستم ایمنی، پروتئین‌های لازم برای تهاجم به سلول میزبان و پروتئین‌های ارتباط‌دهندهٔ سلول‌به‌سلول هستند (۸۸). علاوه براین وزیکول‌های خارج‌سلولی آزادشده از *P.falciparum* که گلبول‌های قرمز خون را آلوده می‌کنند، می‌توانند به‌عنوان مکانیسم ارتباط سلول‌به‌سلول و انتقال پلاسمید بین انواعی از انگل‌ها باشند (۸۹).

کاربردهای مهم پزشکی وزیکول‌های خارج‌سلولی

وزیکول‌های خارج‌سلولی کاربردهای پزشکی متنوعی برای انسان می‌توانند داشته باشند. یکی از کاربردهای مهم پزشکی وزیکول‌های خارج‌سلولی استفاده از این نانوساختارها به‌عنوان واکسن است.

وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان نسل جدیدی از واکسن و ادجوانت

امروزه به‌دلیل مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی گسترده تقاضای بیشتری در راستای تولید نسل جدیدی از واکسن‌ها وجود دارد. ترکیبات تولیدشده براساس وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌سبب ویژگی‌های ایمونولوژیکی که دارند، به‌عنوان کاندید مناسبی برای واکسن مطرح هستند.

Raeven و همکاران (۲۰۱۵) پاسخ‌های ایمنی ایجادشده از وزیکول‌های خارج‌سلولی B. pertussis را بررسی کرده و در سال ۲۰۱۶ با توجه به نتایج کسب‌شده، واکسن‌های کامل کشته‌شده (whole-cell, killed antigen *Bordetella pertussis*) را با واکسن‌هایی براساس وزیکول‌های خارج‌سلولی مقایسه کردند. در هر دو مطالعه ثابت شد که پاسخ ایمنی مؤثری ایجاد می‌شود (۹۱، ۹۰). در مطالعه‌ای که Zariri و همکاران (۲۰۱۶) انجام دادند، فعال‌سازی پاسخ‌های ایمنی ذاتی از سوی وزیکول‌های خارج‌سلولی *N. meningitidis* اثبات شد (۹۲).

Choi و همکاران (۲۰۱۵) از وزیکول‌های خارج‌سلولی *S.aureus* علیه عفونت‌های استافیلوکوکی ریه استفاده کردند؛ به‌طوری که واکسیناسیون موش‌ها با وزیکول‌های غشایی *S.aureus* منجر به پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال شد. علاوه بر این، با توجه به ویژگی‌های ادجوانتی این وزیکول‌ها، به افزایش ادجوانت‌های اضافی که می‌توانند اثرات جانبی مخرب داشته باشند، نیازی نیست. از آنجایی که محدودیت ادجوانت مناسب برای انسان وجود دارد، ویژگی ادجوانتی این وزیکول‌ها آنها را به عنوان واکسن مؤثر و مفید نسبت به دیگر واکسن‌ها مطرح می‌کند (۹۳). Mcconnel و همکاران (۲۰۱۱) از وزیکول‌های خارج‌سلولی *Acinetobacter baumannii* به‌عنوان واکسن غیرسلولی استفاده کردند. در این مطالعه ثابت شد که پاسخ‌های ایمنی مؤثری در مدل‌های حیوانی ایجاد می‌شود (۹۴). Muralinath و همکاران (۲۰۱۱) از وزیکول‌های خارج‌سلولی برای انتقال پروتئین pspA به‌منظور ایمنی‌زایی علیه *Streptococcus pneumoniae* استفاده کردند. در این پژوهش پاسخ‌های ایمنی به شکل مؤثری القا شد (۹۵). Schild و همکاران (۲۰۰۸) از وزیکول‌های خارج‌سلولی *V. cholerae* برای ایمنی‌زایی موش‌های ماده استفاده کردند و سطح قابل‌قبولی از آنتی‌بادی IgA را مشاهده کردند (۹۶). Nakao و همکاران (۲۰۰۶) از وزیکول‌های خارج‌سلولی *P. gingivalis* به عنوان آنتی‌ژن واکسن در راستای ایمنی‌زایی موش‌های BALB/c

بهره بردند؛ به‌طوری که در موش‌های ایمن‌شده با این واکسن میزان بالایی از آنتی‌بادی اختصاصی یافت شد (۹۷). در مطالعه‌ای که Watkins و همکاران انجام دادند، وزیکول‌های خارج‌سلولی از *E. coli* به یک کایمر شامل پروتئین clyA و پروتئین ماتریکس آنفلوآنزا که یک پروتئین بسیار محافظت‌شده روی سطح ویروسی است، متصل شد. این واکسن نوترکیب بدون نیاز به ادجوانت باعث تولید سطح بالایی از *IgG* می‌شود و می‌تواند محافظت کاملی علیه آنفلوآنزای کشندهٔ *PR8* ایجاد کند. همچنین این واکسن موجب محافظت علیه دو سویهٔ آنفلوآنزا *H1N1* و *H3N2* هم می‌شود (۹۹، ۹۸). Huang و همکاران (۲۰۱۶) از وزیکول‌های خارج‌سلولی *E. coli* به‌عنوان انتقال‌دهندهٔ آنتی‌ژن که ایجاد ایمنی علیه عفونت‌های *A. baumannii* می‌کند، بهره بردند (۱۰۰).

Hasrris و همکاران (۲۰۱۷) اثربخشی واکسن‌های بر پایهٔ وزیکول‌های خارج‌سلولی منینگوکوک را علیه گونورهآ گزارش کردند (۱۰۱). در پژوهشی Watkins و همکاران از وزیکول‌های خارج‌سلولی نوترکیب *E. coli* برای ایمنی علیه آنفلوآنزا بهره گرفته و اثربخشی و ایمنی این نوع واکسن را گزارش کردند (۹۹). در سال ۲۰۱۸ پژوهشگران ثابت کردند که واکسیناسیون با وزیکول‌های خارج‌سلولی *P . aeruginosa* باعث القای پاسخ ایمنی در موش می‌شود (۱۰۲).

توانایی این وزیکول‌ها در فعال‌کردن سیستم ایمنی ذاتی، آنها را تبدیل به ادجوانت‌های مؤثری برای واکسن‌های دیگر کرده است. ادجوانت‌های معمول مثل آلوم، توکسین کلرا و دیفتری، اغلب اثراتی همانند التهاب و تحریک ضعیف ایمنی مخاطی را ایجاد می‌کنند (۱۰۴، ۱۰۳). علاوه بر این، از آنجایی که وزیکول‌های غشایی در القای ایمنی مخاطی و سلولی بسیار مؤثر هستند، به عنوان ادجوانت برای واکسن‌های غیرفعال، زنده و آنتی‌ژن‌های خالص مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. Siadat و همکاران (۲۰۱۱) و Salmani و همکاران (۲۰۰۹) از وزیکول‌های خارج‌سلولی *N. meningitidis* سروگروه B به‌عنوان ادجوانت استفاده کردند (۱۰۶، ۱۰۵).

وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان سیستم تحویل دهندهٔ دارویی

استفاده از وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها به‌عنوان سیستم انتقال‌دهنده (Delivery system) از جمله کاربردهای پزشکی مهم دیگر این نانوساختارها است. توانایی وزیکول‌های غشایی مهندسی‌شده برای هدف قرار دادن سلول‌های خاص آنها را به‌عنوان یک گزینهٔ مناسب برای درمان سرطان مطرح می‌کند (۱۰۸، ۱۰۷). شیمی‌درمانی در حال حاضر همهٔ سلول‌های بدن را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد و درنهایت منجر به اثرات جانبی شدید و طولانی‌مدت می‌شود (۱۰۹). علاوه بر این برای از بین‌بردن همهٔ سلول‌های سرطانی یک دوز بالایی از شیمی‌درمانی لازم است. برای رسیدن به این هدف که حتما همه سلول‌های سرطانی از بین بروند، می‌توان از سیستم تحویل‌دهندهٔ دارویی وزیکول‌های غشایی استفاده کرد (۱۱۰). وزیکول‌های غشایی مزایای بسیاری برای درمان سرطان دارند. این وزیکول‌ها مانند غشاهای محافظت‌کننده می‌تواند محتویات وزیکول‌های غشایی را از تخریب‌های نوکلئازی و پروتئازی حفاظت کنند؛ بنابراین می‌توانند نیمه عمر دارو را افزایش دهند. علاوه بر این هدفمندکردن این وزیکول‌ها تحویل دارو را به بافت مدنظر آسان کرده و با این روش می‌توان از اثرات سمی عوامل دارویی به بافت‌هایی که دلخواه ما نیست جلوگیری کرد (۱۰۷). داروهای ضدسرطانی حمل‌شده از طریق این وزیکول‌ها می‌تواند منجر به درمان تومور با اثرات سمی پایین شود (۱۰۷). Gujrati و همکاران (۲۰۱۴) در ارتباط با نقش بالقوهٔ وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتریایی به‌عنوان یک گزینهٔ مناسب انتقال‌دهندهٔ دارو در درمان سرطان پژوهشی را ترتیب دادند و اثربخشی این نانوساختارها بدون اثرات جانبی مخرب را گزارش کردند (۱۱۱). Kim و همکاران (۲۰۱۷) از نانووزیکول‌های مشتق از پروتوپلاست باکتری در راستای انتقال مواد شیمی‌درمانی مثل doxorubicine استفاده کردند و این نانوذرات را به‌عنوان نسل جدید و کارآمد برای انتقال مواد شیمی‌درمانی معرفی کردند (۱۱۲). Alves و همکاران (۲۰۱۵) از وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان عوامل تحویل‌دهندهٔ دارویی (بسته‌بندی اپی‌توپ‌های نوترکیب) بهره بردند (۱۱۳). در سال ۲۰۱۷ پژوهشگران نشان دادند زمانی که وزیکول‌های با اندازهٔ نانومتری در بافت توموری تجمع پیدا می‌کنند، پاسخ‌های ضدتوموری مثل تولید IFN-γ القا می‌شوند (۱۰۸). نکتهٔ جالب‌توجه در این مطالعه این است که از وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری به‌عنوان واکسن و عوامل انتقال دهندهٔ دارو در درمان سرطان استفاده نشده، بلکه از آنجایی که این نانوساختارها دارای اپی‌توپ‌های پروتئینی خاصی هستند پاسخ‌های ضدتوموری مثل تولید IFN-γ را القا می‌کنند.

با توجه به مطالعات صورت‌گرفته، وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌دلیل داشتن غشای محافظت‌کننده و اندازهٔ نانومتری و قابلیت هدفمندشدن به‌عنوان نسل جدید و کارآمدی از انتقال‌دهندهٔ دارو می‌توانند استفاده کنند.

تولید وزیکول‌های خارج‌سلولی نوترکیب

سهولت نسبی تغییر باکتری‌ها منجر به توسعهٔ وزیکول‌های خارج‌سلولی نوترکیب می‌شود. از این ویژگی می‌توان در راستای تولید وزیکول‌های خارج‌سلولی با محتویات خاص استفاده کرد. یکی از اجزای وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی لیپوپلی ساکارید (LPS) است. LPS از اجزای توکسیک باکتری‌های گرم منفی محسوب می‌شود که می‌تواند منجر به شوک سپتیک شود (۱۱۴)؛ بنابراین برای استفادهٔ کاربردی وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان واکسن، ادجوانت، و عوامل تحویل‌دهنده باید با دستکاری ژنتیکی، سویه‌ای از باکتری تولید شود که وزیکول‌های خارج‌سلولی آن خاصیت سمی خود را از دست بدهد. این راهکار در راستای تولید واکسن از *E.coli* و*N.meningitidis* کاربرد دارد (۱۱۵). Van Der Ley و همکاران (۲۰۰۱)، موتانتی از *N. meningitidis* را ایجاد کردند که وزیکول‌های خارج‌سلولی آن خاصیت ادجوانتی خود را حفظ کرده بود؛ در حالی که به‌دلیل داشتن lpxL1 اثرات سمی لیپوپلی ساکارید کاهش یافته بود (۱۱۶). این تغییرات در سویه‌ها باعث ایجاد وزیکول‌های خارج‌سلولی با خاصیت سمی کم می‌شود. Muralinath و همکاران (۲۰۱۱) از وزیکول‌های خارج‌سلولی *Salmonella enterica* مهندسی‌شده برای بیان پروتئین pspA *S.pneumoniae* استفاده کردند (۹۵).

امروزه وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان ابزار جدید درمانی شناخته شده‌اند؛ به‌طوری که می‌توانند عناصر ویرایش ژنی (CRISPR/Cassett) را به سلول‌های انسانی اعطا کنند (۱۱۷).

بحث و نتیجه‌گیری

وزیکول‌های خارج‌سلولی را انواعی از باکتری‌ها ترشح می‌کنند. محتویات داخل این نانوساختارها بستگی به منشأ تولیدکنندهٔ آنها دارد. امروزه استفاده از وزیکول‌های خارج‌سلولی به عنوان واکسن، انتقال‌دهندهٔ دارو و ادجوانت بسیار موردتوجه قرار گرفته است؛ مثلا در ارتباط با تولید واکسن به دلیل داشتن انواعی از الگوهای میکروبی توانایی تحریک ایمنی ذاتی و اکتسابی را دارند.

مطالعاتی که در ارتباط با کاربرد وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان واکسن انجام شده است نشان داده‌اند که این مدل واکسن‌ها دارای اثرات محافظتی بالا و با کمترین اثر جانبی می‌باشند مثلا واکسن‌های قدیمی که علیه *B. pertussis* استفاده می‌شدند به‌صورت عمده باعث بیماری‌های عصبی حاد در کودکان می‌شدند به دلیل همین اثرات مخرب رویکرد به سمت واکسن‌های نسل سوم براساس وزیکول‌های خارج‌سلولی این باکتری رفته است (۹۰). روش‌های قدیمی طراحی واکسن، معمولا استفاده از یک آنتی‌ژن محافظت‌کننده بود؛ اما با توجه به اینکه وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها حاوی آنتی‌ژن‌های متعددی هستند، می‌توانند تولید آنتی‌بادی‌های متفاوت که هم‌زمان ویژگی محافظت‌کنندگی نیز دارند را تحریک کنند. درواقع این مسئله یکی از مزیت‌های استفاده از این نانوذرات در طراحی واکسن است.

از موارد بحث‌برانگیز در استفاده از وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌های گرم منفی به‌عنوان واکسن، وجود LPS است؛ اما با توجه به مطالعاتی که در این ارتباط صورت گرفته، این محدودیت با استفاده از دترجنت و یا تغییر ژنتیکی رفع شده است. از طرف دیگر پژوهش‌های کاملی دربارهٔ این نانوساختارها به‌عنوان واکسن‌های غیرسلولی مؤثر برای استفادهٔ کلینیکی در انسان صورت نگرفته است و این زمینه نیاز به مطالعات بیشتری دارد. یک مسئلهٔ دیگر که نیاز به پژوهش‌های بیشتری در ارتباط با وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان واکسن دارد، این است که آیا آنتی‌ژن‌های محافظت‌کننده باید در سطح وزیکول‌های خارج‌سلولی قرار بگیرد و یا اینکه به‌عنوان یکی از اجزای داخل این نانوساختارها باشد.

از مزیت‌های استفاده از وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها به‌عنوان واکسن، ویژگی ادجوانتی این نانوساختارها است. این واکسن‌ها بدون نیاز به ادجوانت‌های خارجی، هر دو پاسخ ایمنی سلولی و هومورال را القا می‌کنند و مهم‌تر اینکه ادجوانت‌های خارجی مثل آلوم که تأییدشده برای استفاده روی انسان است، توانایی محدودی در تحریک پاسخ‌های ایمنی Th1 دارند. اما فعال‌سازی این ردهٔ سلولی علیه بسیاری از پاتوژن‌ها مهم است و از طرفی نگرانی‌هایی در ارتباط با اثرات جانبی و مخرب ادجوانت‌های خارجی مثل آلوم مطرح است. بنابراین مطالعات بیشتر و نیاز شدیدتری به ادجوانت‌های مؤثر و ایمن برای استفاده در انسان وجود دارد که بتواند هم‌زمان ایمنی سلولی Th1 را تحریک کند. با توجه به پیشرفت علم و رویکرد جدید دربارهٔ استفاده از مولکول‌های طبیعی به‌عنوان حامل، از وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها می‌توان در این ارتباط بهره برد (۱۱۸).

استفاده از شیمی‌درمانی اثرات جانبی متعددی (از جمله اسهال، استفراغ، ریزش مو و مشکلات خونی) دارد؛ زیرا داروها فقط به سلول‌های هدف که سلول‌های سرطانی هستند، تحویل داده نمی‌شوند. همان‌طور که اشاره شد وزیکول‌های خارج‌سلولی با اندازهٔ نانومتری خود، یک گزینهٔ مناسب در زمینهٔ کاربرد در

سیستم‌های هدفمند تحویل دارویی هستند. درواقع ما می‌توانیم با قراردادن موتیف‌های خاص بر این نانوساختارها فقط سلول‌های سرطانی را هدف قرار دهیم. هدفمندکردن وزیکول‌های خارج‌سلولی باید در حجم انبوه و به شکل خالص صورت پذیرد که هر دوی این موارد مستلزم هزینه و امکانات است. از طرف دیگر الحاق موتیف‌های خاص به سطح وزیکول‌های خارج‌سلولی خود یک چالش بزرگ در این زمینه است که نیاز به مطالعات بیشتری دارد. درواقع به تحقیقات بسیار گسترده‌ای پیش از آزمایش‌های کلینیکی نیاز است تا وزیکول‌های خارج‌سلولی وارد کلینیک شود.

برخلاف نقش‌هایی که تا به امروز در ارتباط با کاربرد وزیکول‌های خارج‌سلولی در مقالات متعدد شرح داده شده، مسیر تولید و مکانیسم تنظیم و انتخاب مواد داخل وزیکول‌های خارج‌سلولی و اینکه چه عواملی در تولید و ترشح این نانوساختارها نقش دارند به‌طور کامل شناخته نشده است. جداسازی و خالص‌سازی موفق و تولید مناسبی از این نانوساختارها و دیگر اینکه کدام سیگنال‌ها مسیر تولید و یا بیوژنز وزیکول‌های خارج‌سلولی را تنظیم می‌کند، به‌عنوان یک مرحلهٔ حیاتی در راستای آنالیزهای بعدی است. از طرف دیگر افزایش تولید وزیکول به‌وسیلهٔ تغییرات ژنتیکی تا به امروز بررسی شده است؛ اما باید در نظر داشت که هر تداخلی در راستای افزایش تولید وزیکول‌های خارج‌سلولی، ممکن است باعث تغییرات بارزی در محتویات این وزیکول‌ها شود. اگرچه این تغییرات می‌تواند در طراحی واکسن و یا به‌عنوان انتقال‌دهنده‌های دارو برای ما سودمند باشد اما با وزیکول‌هایی که به شکل طبیعی از باکتری تولیدکننده ترشح می‌شوند، بسیار متفاوت است.

با توجه به پتانسیل وزیکول‌های خارج‌سلولی در انتقال مولکول‌های عملکردی به سلول‌های اپیتلیالی روده و تعامل با سیستم ایمنی میزبان، امکان واکسیناسیون انسان و حیوان به روش خوراکی با این نانوساختارها بسیار زیاد است. از طرف دیگر استفاده از وزیکول‌های خارج‌سلولی باکتری‌ها در بیوتکنولوژی یکی از موضوعات جالب‌توجه است؛ به همین منظور از وزیکول‌های خارج‌سلولی می‌توان برای انتقال ترکیبات غذایی مؤثر بهره برد. بر این اساس وزیکول‌های خارج‌سلولی حاوی ترکیبات مؤثر (انواعی از ویتامین‌ها) می‌توانند به‌عنوان مکمل‌های غذایی برای ارتقای سلامتی مصرف شوند.

علاوه بر کاربرد وزیکول‌های خارج‌سلولی به‌عنوان واکسن، ادجوانت، و سیستم تحویل‌دهنده از این نانوساختارهای باکتریایی می‌توان برای اهدافی مثل زیست‌پالایی، اهداف تشخیصی و درمانی هم بهره برد. برای همین منظور به مطالعات و پژوهش‌های گسترده‌ای در ارتباط با این نانوساختارها نیاز است.

سپاسگزاری

نویسندگان، از تمامی پژوهشگرانی که از مقالات آنها به عنوان منابع استفاده شده است، تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Lee EY, Choi DY, Kim DK, Kim JW, Park JO, Kim S, et al. Gram-positive bacteria produce membrane vesicles: proteomics-based characterization of Staphylococcus aureus-derived membrane vesicles. Proteomics. 2009;9(24):5425-36. https://doi.org/10.1002/pmic.200900338 PMID:19834908
2. Soler N, Marguet E, Verbavatz J-M, Forterre P. Virus-like vesicles and extracellular DNA produced by hyperthermophilic archaea of the order Thermococcales. Res Microbiol. 2008;159(5):390-9. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.04.015 PMID:18625304
3. Lee EY, Choi DS, Kim KP, Gho YS. Proteomics in gram-negative bacterial outer membrane vesicles. Mass Spectrom Rev. 2008;27(6):535-55. https://doi.org/10.1002/mas.20175 PMID:18421767
4. Skog J, Wurdinger T, Van Rijn S, Meijer D, Gainche L, Sena-Esteves M, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and protein that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers. Nat Cell Biol. 2008;10(12):1470-6. https://doi.org/10.1038/ncb1800 PMID:19011622 PMCID:PMC3423894
5. Choi DS, Kim DK, Kim YK, Gho YS. Proteomics of extracellular vesicles: exosomes and ectosomes. Mass Spectrom

Rev. 2015;34(4):474-90. https://doi.org/10.1002/mas.21420 PMID:24421117

6. Kim D-K, Kang B, Kim OY, Choi D-s, Lee J, Kim SR, et al. EVpedia: an integrated database of high-throughput data for systemic analyses of extracellular vesicles. J Extracell Vesicles. 2013;2(1):20384. https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20384 PMID:24009897 PMCID:PMC3760654
7. Kulp A, Kuehn MJ. Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. Annu Rev Microbiol. 2010;64:163-84. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073413 PMID:20825345 PMCID:PMC3525469
8. Lee EY, Bang JY, Park GW, Choi DS, Kang JS, Kim HJ, et al. Global proteomic profiling of native outer membrane vesicles derived from Escherichia coli. Proteomics. 2007;7(17):3143-53. https://doi.org/10.1002/pmic.200700196 PMID:17787032
9. Choi DS, Kim DK, Choi SJ, Lee J, Choi JP, Rho S, et al. Proteomic analysis of outer membrane vesicles derived from Pseudomonas aeruginosa. Proteomics. 2011;11(16):3424-9. https://doi.org/10.1002/pmic.201000212 PMID:21751344
10. Post DM, Zhang D, Eastvold JS, Teghanemt A, Gibson BW, Weiss JP. Biochemical and functional characterization of membrane blebs purified from Neisseria meningitidis serogroup B. J Biol Chem. 2005;280(46):38383-94. https://doi.org/10.1074/jbc.M508063200 PMID:16103114
11. Wai SN, Lindmark B, Söderblom T, Takade A, Westermark M, Oscarsson J, et al. Vesicle-mediated export and assembly of pore-forming oligomers of the enterobacterial ClyA cytotoxin. Cell. 2003;115(1):25-35. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00754-2
12. Kwon S-O, Gho YS, Lee JC, Kim SI. Proteome analysis of outer membrane vesicles from a clinical Acinetobacter baumannii isolate. FEMS Microbiol Lett. 2009;297(2):150-6. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01669.x PMID:19548894
13. Schooling SR, Beveridge TJ. Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms. J Bacteriol. 2006;188(16):5945-57. https://doi.org/10.1128/JB.00257-06 PMID:16885463 PMCID:PMC1540058
14. Toyofuku M, Roschitzki B, Riedel K, Eberl L. Identification of proteins associated with the Pseudomonas aeruginosa biofilm extracellular matrix. J Proteome Res. 2012;11(10):4906-15. https://doi.org/10.1021/pr300395j PMID:22909304
15. Yonezawa H, Osaki T, Kurata S, Fukuda M, Kawakami H, Ochiai K, et al. Outer membrane vesicles of Helicobacter pylori TK1402 are involved in biofilm formation. BMC Microbiol. 2009;9(1):197. https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-197 PMID:19751530 PMCID:PMC2749055
16. Namork E, Brandtzaeg P. Fatal meningococcal septicaemia with "blebbing" meningococcus. Lancet. 2002;360(9347):1741.https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11721-1 PMID:12480427
17. Ünal CM, Schaar V, Riesbeck K, editors. Bacterial outer membrane vesicles in disease and preventive medicine. Seminars in immunopathology. New York: Springer; 2011.
18. Kuehn MJ, Kesty NC. Bacterial outer membrane vesicles and the host–pathogen interaction. Genes Dev. 2005;19(22):2645-55.https://doi.org/10.1101/gad.1299905 PMID:16291643
19. Kulkarni HM, Jagannadham MV. Biogenesis and multifaceted roles of outer membrane vesicles from Gram-negative bacteria. Microbiology. 2014;160(10):2109-21.

https://doi.org/10.1099/mic.0.079400-0 PMID:25069453

20. Dorward DW, Garon CF. DNA is packaged within membrane-derived vesicles of gram-negative but not gram-positive bacteria. Appl Environ Microbiol. 1990;56(6):1960-2. PMID:16348232 PMCID:PMC184538
21. Schwechheimer C, Kuehn MJ. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. Nat Rev Microbiol. 2015;13(10):605-19. https://doi.org/10.1038/nrmicro3525 PMID:26373371 PMCID:PMC5308417
22. Kuehn MJ. Secreted bacterial vesicles as good Samaritans. Cell Host Microbe. 2012;12(4):392-3. https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.10.005 PMID:23084908
23. Mashburn LM, Whiteley M. Membrane vesicles traffic signals and facilitate group activities in a prokaryote. Nature. 2005;437(7057):422-5. https://doi.org/10.1038/nature03925 PMID:16163359
24. Renelli M, Matias V, Lo RY, Beveridge TJ. DNA-containing membrane vesicles of Pseudomonas aeruginosa PAO1 and their genetic transformation potential. Microbiology. 2004;150(7):2161-9. https://doi.org/10.1099/mic.0.26841-0 PMID:15256559
25. Kolling GL, Matthews KR. Export of virulence genes and Shiga toxin by membrane vesicles of Escherichia coli O157: H7. Appl Environ Microbiol.1999; 65(5):1843-8. PMID:10223967
26. Arigita C, Jiskoot W, Westdijk J, van Ingen C, Hennink WE, Crommelin DJ, et al. Stability of mono-and trivalent meningococcal outer membrane vesicle vaccines. Vaccine. 2004;22(5):629-42. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2003.08.027
27. Mashburn-Warren LM, Whiteley M. Special delivery: vesicle trafficking in prokaryotes. Mol Microbiol. 2006; 61(4):839-46. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05272.x PMID:16879642
28. Ellis TN, Kuehn MJ. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles. Microbiol Mol Biol Rev. 2010;74(1):81-94. https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-09 PMID:20197500 PMCID:PMC2832350
29. MacDonald IA, Kuehn MJ. Offense and defense: microbial membrane vesicles play both ways. Res Microbiol. 2012;163(9):607-18.https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.10.020 PMID:23123555
30. Vasilyeva NV, Tsfasman IM, Suzina NE, Stepnaya OA, Kulaev IS. Secretion of bacteriolytic endopeptidase L5 of Lysobacter sp. XL1 into the medium by means of outer membrane vesicles. The FEBS J. 2008;275(15):3827-35. https://doi.org/10.1111/j.17424658.2008.06530.x PMID:18573103
31. Ciofu O, Beveridge TJ, Kadurugamuwa J, Walther-Rasmussen J, Høiby N. Chromosomal β-lactamase is packaged into membrane vesicles and secreted from Pseudomonas aeruginosa. J Antimicrob Chemother. 2000; 45(1): 9-13. https://doi.org/10.1093/jac/45.1.9 PMID:10629007
32. Thuan Tong T, Mörgelin M, Forsgren A, Riesbeck K. Haemophilus influenzae survival during complement-mediated attacks is promoted by Moraxella catarrhalis outer membrane vesicles. J Infect Dis. 2007;195(11):1661-70. https://doi.org/10.1086/517611 PMID:17471436
33. McBroom AJ, Kuehn MJ. Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. Mol Microbiol. 2007;63(2):545-58. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05522.x PMID:17163978
34. Bomberger JM, MacEachran DP, Coutermarsh BA, Ye S, O'Toole GA, Stanton

BA. Long-distance delivery of bacterial virulence factors by Pseudomonas aeruginosa outer membrane vesicles. PLoS Pathog. 2009;5(4):e1000382. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000382 PMID:19360133 PMCID:PMC2661024

35. Furuta N, Tsuda K, Omori H, Yoshimori T, Yoshimura F, Amano A. Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles enter human epithelial cells via an endocytic pathway and are sorted to lysosomal compartments. Infect Immun. 2009;77(10):4187-96. https://doi.org/10.1128/IAI.00009-09 PMID:19651865 PMCID:PMC2747946

36. Kaparakis M, Turnbull L, Carneiro L, Firth S, Coleman HA, Parkington HC, et al. Bacterial membrane vesicles deliver peptidoglycan to NOD1 in epithelial cells. Cell Microbiol. 2010;12(3):372-85. https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01404.x PMID:19888989

37. Ismail S, Hampton MB, Keenan JI. Helicobacter pylori outer membrane vesicles modulate proliferation and interleukin-8 production by gastric epithelial cells. Infect Immun. 2003;71(10):5670-5. https://doi.org/10.1128/IAI.71.10.5670-5675.2003 PMID:14500487

38. Elmi A, Watson E, Sandu P, Gundogdu O, Mills DC, Inglis NF, et al. Campylobacter jejuni outer membrane vesicles play an important role in bacterial interactions with human intestinal epithelial cells. Infect Immun. 2012;80(12):4089-98. https://doi.org/10.1128/IAI.00161-12 PMID:22966047 PMCID:PMC3497446

39. Rolhion N, Barnich N, Bringer M-A, Glasser A-L, Ranc J, Hébuterne X, et al. Abnormally expressed ER stress response chaperone Gp96 in CD favours adherent-invasive Escherichia coli invasion. Gut. 2010;59(10):1355-62. https://doi.org/10.1136/gut.2010.207456 PMID:20587550 PMCID:PMC2976078

40. Kunsmann L, Rüter C, Bauwens A, Greune L, Glüder M, Kemper B, et al. Virulence from vesicles: Novel mechanisms of host cell injury by Escherichia coli O104: H4 outbreak strain. Sci Rep. 2015;5:13252. https://doi.org/10.1038/srep13252

41. Mondal A, Tapader R, Chatterjee NS, Ghosh A, Sinha R, Koley H, et al. Cytotoxic and inflammatory responses induced by outer membrane vesicle-associated biologically active proteases from Vibrio cholerae. Infect Immun. 2016;84(5):1478-90. https://doi.org/10.1128/IAI.01365-15 PMID:26930702 PMCID:PMC4862697

42. Li Z-T, Zhang R-L, Bi X-G, Xu L, Fan M, Xie D, et al. Outer membrane vesicles isolated from two clinical Acinetobacter baumannii strains exhibit different toxicity and proteome characteristics. Microb Pathog. 2015;81:46-52. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.03.009 PMID:25773772

43. Alzahrani H, Winter J, Boocock D, De Girolamo L, Forsythe SJ. Characterization of outer membrane vesicles from a neonatal meningitic strain of Cronobacter sakazakii. FEMS Microbiol Lett. 2015;362(12):fnv085. https://doi.org/10.1093/femsle/fnv085 PMID:26023200

44. Ghosal A, Upadhyaya BB, Fritz JV, Heintz-Buschart A, Desai MS, Yusuf D, et al. The extracellular RNA complement of Escherichia coli. Microbiologyopen. 2015;4(2):252-66. https://doi.org/10.1002/mbo3.235 PMID:25611733 PMCID:PMC4398507

45. Koeppen K, Hampton TH, Jarek M, Scharfe M, Gerber SA, Mielcarz DW, et al. A novel mechanism of host-pathogen interaction through sRNA in bacterial outer membrane vesicles. PLoS Pathog. 2016;12(6):e1005672. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005672 PMID:27295279 PMCID:PMC4905634

46. Ho M-H, Chen C-H, Goodwin JS, Wang B-Y, Xie H. Functional advantages of Porphyromonas gingivalis vesicles. PloS one.

2015;10(4):e0123448. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123448 PMID:25897780 PMCID:PMC4405273

47. Sjöström AE, Sandblad L, Uhlin BE, Wai SN. Membrane vesicle-mediated release of bacterial RNA. Sci Rep. 2015;5:15329. https://doi.org/10.1038/srep15329 PMID:26483327 PMCID:PMC4612299

48. Aung KM, Sjöström AE, von Pawel-Rammingen U, Riesbeck K, Uhlin BE, Wai SN. Naturally occurring IgG antibodies provide innate protection against Vibrio cholerae bacteremia by recognition of the outer membrane protein U. J Innate Immun. 2016;8(3):269-83. https://doi.org/10.1159/000443646 PMID:26934383

49. Bielecka E, Scavenius C, Kantyka T, Jusko M, Mizgalska D, Szmigielski B, et al. Peptidyl arginine deiminase from Porphyromonas gingivalis abolishes anaphylatoxin C5a activity. J Biol Chem. 2014;289(47):32481-7. https://doi.org/10.1074/jbc.C114.617142 PMID:25324545 PMCID:PMC4239603

50. Bottazzi B, Santini L, Savino S, Giuliani MM, Díez AID, Mancuso G, et al. Recognition of Neisseria meningitidis by the long pentraxin PTX3 and its role as an endogenous adjuvant. PloS one. 2015;10(3):e0120807. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120807 PMID:25786110 PMCID:PMC4364741

51. Laughlin RC, Mickum M, Rowin K, Adams LG, Alaniz RC. Altered host immune responses to membrane vesicles from Salmonella and Gram-negative pathogens. Vaccine. 2015;33(38):5012-9. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.05.014 PMID:26001432

52. Waller T, Kesper L, Hirschfeld J, Dommisch H, Kölpin J, Oldenburg J, et al. Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles induce selective tumor necrosis factor tolerance in a toll-like receptor 4-and mTOR-dependent manner. Infection and immunity. 2016;84(4):1194-204. https://doi.org/10.1128/IAI.01390-15 PMID:26857578 PMCID:PMC4807478

53. Shen Y, Torchia MLG, Lawson GW, Karp CL, Ashwell JD, Mazmanian SK. Outer membrane vesicles of a human commensal mediate immune regulation and disease protection. Cell host & microbe. 2012;12(4):509-20. https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.08.004 PMID:22999859 PMCID:PMC3895402

54. Lee HS, Boulton IC, Reddin K, Wong H, Halliwell D, Mandelboim O, et al. Neisserial outer membrane vesicles bind the coinhibitory receptor carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule 1 and suppress CD4+ T lymphocyte function. Infect Immun. 2007;75(9):4449-55. https://doi.org/10.1128/IAI.00222-07 PMID:17620353 PMCID:PMC1951172

55. Jones C, Sadarangani M, Lewis S, Payne I, Saleem M, Derrick JP, et al. Characterisation of the immunomodulatory effects of meningococcal Opa proteins on human peripheral blood mononuclear cells and CD4+ T cells. PloS one. 2016;11(4):e0154153. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154153 PMID:27111850 PMCID:PMC4844130

56. Winter J, Letley D, Rhead J, Atherton J, Robinson K. Helicobacter pylori membrane vesicles stimulate innate pro-and anti-inflammatory responses and induce apoptosis in Jurkat T cells. Infect Immun. 2014;82(4):1372-81. https://doi.org/10.1128/IAI.01443-13 PMID:24421041 PMCID:PMC3993389

57. Deknuydt F, Nordström T, Riesbeck K. Diversion of the host humoral response: a novel virulence mechanism of Haemophilus influenzae mediated via outer membrane vesicles. J Leukoc Biol. 2014;95(6):983-91. https://doi.org/10.1189/jlb.1013527 PMID:24550522

58. Kim JH, Lee J, Park J, Gho YS, editors. Gram-negative and Gram-positive bacterial extracellular vesicles. Seminars in cell & developmental biology. New York: Elsevier; 2015.

59. Rivera J, Cordero RJ, Nakouzi AS, Frases S, Nicola A, Casadevall A. Bacillus anthracis produces membrane-derived vesicles containing biologically active toxins. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010;107(44):19002-7. https://doi.org/10.1073/pnas.1008843107 PMID:20956325 PMCID:PMC2973860

60. Olaya-Abril A, Prados-Rosales R, McConnell MJ, Martín-Pe-a R, González-Reyes JA, Jiménez-Munguía I, et al. Characterization of protective extracellular membrane-derived vesicles produced by Streptococcus pneumoniae. J Proteomics. 2014;106:46-60. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.04.023 PMID:24769240

61. Hong SW, Kim MR, Lee EY, Kim J, Kim YS, Jeon S, et al. Extracellular vesicles derived from staphylococcus aureus induce atopic dermatitis-like skin inflammation. Allergy. 2011;66(3):351-9.

https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02483.x PMID:20831718 PMCID:PMC3052535

62. Hong SW, Choi E-B, Min T-K, Kim J-H, Kim M-H, Jeon SG, et al. An important role of α-hemolysin in extracellular vesicles on the development of atopic dermatitis induced by Staphylococcus aureus. PLoS One. 2014;9(7):e100499. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100499 PMID:24992681 PMCID:PMC4084635

63. Kim MR, Hong SW, Choi EB, Lee WH, Kim YS, Jeon S, et al. Staphylococcus aureus-derived extracellular vesicles induce neutrophilic pulmonary inflammation via both Th1 and Th17 cell responses. Allergy. 2012;67(10):1271-81. https://doi.org/10.1111/all.12001 PMID:22913540

64. Lee J, Lee E-Y, Kim S-H, Kim D-K, Park K-S, Kim KP, et al. Staphylococcus aureus extracellular vesicles carry biologically active β-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(6):2589-95. https://doi.org/10.1128/AAC.00522-12 PMID:23529736 PMCID:PMC3716153

65. Gurung M, Moon DC, Choi CW, Lee JH, Bae YC, Kim J, et al. Staphylococcus aureus produces membrane-derived vesicles that induce host cell death. PLoS one. 2011;6(11):e27958. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027958 PMID:22114730 PMCID:PMC3218073

66. George KM, Chatterjee D, Gunawardana G, Welty D, Hayman J, Lee R, et al. Mycolactone: a polyketide toxin from Mycobacterium ulcerans required for virulence. Science. 1999;283(5403):854-7.

https://doi.org/10.1126/science.283.5403.854 PMID:9933171

67. Marsollier L, Brodin P, Jackson M, Korduláková J, Tafelmeyer P, Carbonnelle E, et al. Impact of Mycobacterium ulcerans biofilm on transmissibility to ecological niches and Buruli ulcer pathogenesis. PLoS Pathog. 2007;3(5):e62. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030062 PMID:17480118 PMCID:PMC1864991

68. Prados-Rosales R, Baena A, Martinez LR, Luque-Garcia J, Kalscheuer R, Veeraraghavan U, et al. Mycobacteria release active membrane vesicles that modulate immune responses in a TLR2-dependent manner in mice. J Clin Invest. 2011;121(4):1471-83. https://doi.org/10.1172/JCI44261 PMID:21364279 PMCID:PMC3069770

69. Lee JH, Choi C-W, Lee T, Kim SI, Lee J-C, Shin J-H. Transcription factor σB plays an important role in the production of extracellular membrane-derived vesicles in Listeria monocytogenes. PLoS one. 2013;8(8):e73196. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073196 PMID:23977379 PMCID:PMC3748028

70. Makarova K, Slesarev A, Wolf Y, Sorokin A, Mirkin B, Koonin E, et al. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(42):15611-6. https://doi.org/10.1073/pnas.0607117103 PMID:17030793 PMCID:PMC1622870

71. Dobrogosz WJ, Peacock TJ, Hassan HM. Evolution of the probiotic concept: from conception to validation and acceptance in medical science. Adv Appl Microbiol. 2010;72:1-41.

https://doi.org/10.1016/S0065-2164(10)72001-3 PMID:20602986

72. Kim Y-G, Ohta T, Takahashi T, Kushiro A, Nomoto K, Yokokura T, et al. Probiotic Lactobacillus casei activates innate immunity via NF-κB and p38 MAP kinase signaling pathways. Microbes Infect. 2006;8(4):994-1005.https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.10.019 PMID:16513392

73. Yan F, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. J Biol Chem. 2002;277(52):50959-65. https://doi.org/10.1074/jbc.M207050200

PMID:12393915 PMCID:PMC4006994

74. Medellin-Pena MJ, Griffiths MW. Effect of molecules secreted by Lactobacillus acidophilus strain La-5 on Escherichia coli O157: H7 colonization. Appl Environ Microbiol. 2009;75(4):1165-72. https://doi.org/10.1128/AEM.01651-08 PMID:19088323 PMCID:PMC2643578

75. Manley KJ, Fraenkel MB, Mayall BC, Power DA. Probiotic treatment of vancomycin-resistant enterococci: a randomised controlled trial. Med J Aust. 2007;186(9):454-6.

PMID:17484706

76. Castillo NA, Perdigón G, de LeBlanc AdM. Oral administration of a probiotic Lactobacillus modulates cytokine production and TLR expression improving the immune response against Salmonella enterica serovar Typhimurium infection in mice. BMC Microbiol. 2011;11(1):177. https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-177 PMID:21813005 PMCID:PMC3173335

77. Walker WA. Mechanisms of action of probiotics. Clin Infect Dis. 2008;46(S2):S87-91. https://doi.org/10.1086/523335 PMID:18181730

78. Ng S, Hart A, Kamm M, Stagg A, Knight S. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. Inflamm Bowel Dis. 2009;15(2):300-10. https://doi.org/10.1002/ibd.20602 PMID:18626975

79. Todorov SD. Bacteriocins from Lactobacillus plantarum production, genetic organization and mode of action: produção, organização genética e modo de ação. Braz J Microbiol. 2009;40(2):209-21. https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000200001 PMID:24031346 PMCID:PMC3769724

80. Corthésy B, Gaskins HR, Mercenier A. Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. J Nutr. 2007;137(3):781S-90S. https://doi.org/10.1093/jn/137.3.781S PMID:17311975

81. Ruiz L, Hevia A, Bernardo D, Margolles A, Sánchez B. Extracellular molecular effectors mediating probiotic attributes. FEMS Microbiol Lett. 2014;359(1):1-11. https://doi.org/10.1111/1574-6968.12576 PMID:25115731

82. van Bergenhenegouwen J, Kraneveld AD, Rutten L, Kettelarij N, Garssen J, Vos AP. Extracellular vesicles modulate host-microbe responses by altering TLR2 activity and phagocytosis. PLoS One. 2014 Feb 20;9(2):e89121.

83. Li M, Lee K, Hsu M, Nau G, Mylonakis E, Ramratnam B. Lactobacillus-derived extracellular vesicles enhance host immune responses against vancomycin-resistant enterococci. BMC Microbiol. 2017;17(1):66. https://doi.org/10.1186/s12866-017-0977-7 PMID:28288575 PMCID:PMC5348868

84. Kim J-H, Jeun E-J, Hong C-P, Kim S-H, Jang MS, Lee E-J, et al. Extracellular vesicle–derived protein from Bifidobacterium longum alleviates food allergy through mast cell suppression. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2016;137(2):507-16. e8.

85. Brown L, Wolf JM, Prados-Rosales R, Casadevall A. Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. Nat Rev Microbiol. 2015;13(10):620-30.

86. Twu O, de Miguel N, Lustig G, Stevens GC, Vashisht AA, Wohlschlegel JA, et al. Trichomonas vaginalis exosomes deliver cargo to host cells and mediate host: parasite interactions. PLoS pathogens. 2013;9(7):e1003482.

87. Szempruch AJ, Sykes SE, Kieft R, Dennison L, Becker AC, Gartrell A, et al. Extracellular vesicles from Trypanosoma brucei mediate virulence factor transfer and cause host anemia. Cell. 2016;164(1):246-57. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.051 PMID:26771494 PMCid:PMC4715261

88. Mantel P-Y, Hoang AN, Goldowitz I, Potashnikova D, Hamza B, Vorobjev I, et al. Malaria-infected erythrocyte-derived microvesicles mediate cellular communication within the parasite population and with the host immune system. Cell Host Microbe. 2013;13(5):521-34. https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.04.009 PMID:23684304 PMCID:PMC3687518

89. Regev-Rudzki N, Wilson DW, Carvalho TG, Sisquella X, Coleman BM, Rug M, et al. Cell-cell communication between malaria-infected red blood cells via exosome-like vesicles. Cell. 2013;153(5):1120-33. https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.029 PMID:23683579

90. Raeven RH, Brummelman J, Pennings JL, Van Der Maas L, Tilstra W, Helm K, et al. Bordetella pertussis outer membrane vesicle vaccine confers equal efficacy in mice with milder inflammatory responses compared to a whole-cell vaccine. Sci Rep. 2016;6:38240. https://doi.org/10.1038/srep38240 PMID:27905535 PMCID:PMC5131296

91. Raeven RH, van der Maas L, Tilstra W, Uittenbogaard JP, Bindels TH, Kuipers B, et al. Immunoproteomic profiling of Bordetella pertussis outer membrane vesicle vaccine reveals broad and balanced humoral immunogenicity. J Proteome Res. 2015;14(7):2929-42. https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.5b00258 PMID:25988566

92. Zariri A, Beskers J, van de Waterbeemd B, Hamstra HJ, Bindels TH, van Riet E, et al. Meningococcal outer membrane vesicle composition-dependent activation of the innate immune response. Infect Immun. 2016;84(10):3024-33. https://doi.org/10.1128/IAI.00635-16

93. Choi SJ, Kim MH, Jeon J, Kim OY, Choi Y, Seo J, et al. Active immunization with extracellular vesicles derived from Staphylococcus aureus effectively protects against staphylococcal lung infections, mainly via Th1 cell-mediated immunity. PloS one. 2015;10(9):e0136021.

94. McConnell MJ, Rumbo C, Bou G, Pachón J. Outer membrane vesicles as an acellular vaccine against Acinetobacter baumannii. Vaccine. 2011;29(34):5705-10. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.001 PMID:21679737

95. Muralinath M, Kuehn MJ, Roland KL, Curtiss R. Immunization with Salmonella enterica serovar Typhimurium-derived outer membrane vesicles delivering the pneumococcal protein PspA confers protection against challenge with Streptococcus pneumoniae. Infect Immun. 2011;79(2):887-94. https://doi.org/10.1128/IAI.00950-10 PMID:21115718 PMCID:PMC3028854

96. Schild S, Nelson EJ, Camilli A. Immunization with Vibrio cholerae outer membrane vesicles induces protective immunity in mice. Infect Immun. 2008;76(10):4554-63.

https://doi.org/10.1128/IAI.00532-08 PMID:18678672 PMCID:PMC2546833

97. Nakao R, Senpuku H, Watanabe H. Porphyromonas gingivalis galE is involved in lipopolysaccharide O-antigen synthesis and biofilm formation. Infect Immun. 2006;74(11):6145-53. https://doi.org/10.1128/IAI.00261-06 PMID:16954395 PMCID:PMC1695533

98. Rappazzo CG, Watkins HC, Guarino CM, Chau A, Lopez JL, DeLisa MP, et al. Recombinant M2e outer membrane vesicle vaccines protect against lethal influenza A challenge in BALB/c mice. Vaccine. 2016;34(10):1252-8. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.01.028 PMID:26827663

99. Watkins HC, Rappazzo CG, Higgins JS, Sun X, Brock N, Chau A, et al. Safe recombinant outer membrane vesicles that display M2e elicit heterologous influenza protection. Mol Ther. 2017;25(4):989-1002. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.01.010 PMID:28215994 PMCID:PMC5383554

100. Huang W, Wang S, Yao Y, Xia Y, Yang X, Li K, et al. Employing Escherichia coli-derived outer membrane vesicles as an antigen delivery platform elicits protective immunity against Acinetobacter baumannii infection. Sci Rep. 2016;6:37242. https://doi.org/10.1038/srep37242 PMID:27849050 PMCID:PMC5110958

101. Petousis-Harris H, Paynter J, Morgan J, Saxton P, McArdle B, Goodyear-Smith F, et al. Effectiveness of a group B outer membrane vesicle meningococcal vaccine against gonorrhoea in New Zealand: a retrospective case-control study. The Lancet. 2017;390(10102):1603-10.

102. Zhang X, Yang F, Zou J, Wu W, Jing H, Gou Q, et al. Immunization with Pseudomonas aeruginosa outer membrane vesicles stimulates protective immunity in mice. Vaccine. 2018;36(8):1047-54.

103. Chapman TJ, Georas SN. Adjuvant effect of diphtheria toxin after mucosal administration in both wild type and diphtheria toxin receptor engineered mouse strains. J Immunol Methods. 2013;400:122-6. https://doi.org/10.1016/j.jim.2013.10.010 PMID:24200744 PMCID:PMC3873768

104. Petrovsky N, Aguilar JC. Vaccine adjuvants: current state and future trends. Immunol Cell Biol. 2004;82(5):488-96. https://doi.org/10.1111/j.0818-9641.2004.01272.x PMID:15479434

105. Siadat SD, Naddaf SR, Zangeneh M, Moshiri A, Sadat SM, Ardestani MS, et al. Outer membrane vesicle of Neisseria meningitidis serogroup B as an adjuvant in immunization of rabbit against Neisseria meningitidis serogroup A. Afr J Microbiol Res. 2011;5(19):3090-5. https://doi.org/10.5897/AJMR11.361

106. Salmani AS, Siadat SD, Norouzian D, Mobarakeh JI, Kheirandish M, Zangeneh M, et al. Outer membrane vesicle ofNeisseria meningitidis serogroup B as an adjuvant to induce specific antibody response against the lipopolysaccharide ofBrucella abortus S99. Annals of microbiology. 2009;59(1):145. https://doi.org/10.1007/BF03175612

107. Gujrati VB, Jon S. Bioengineered bacterial outer membrane vesicles: what is their potential in cancer therapy? Nanomedicine. 2014;9(7):933-5. https://doi.org/10.2217/nnm.14.56 PMID:24978458

108. Kim OY, Park HT, Dinh NTH, Choi SJ, Lee J, Kim JH, et al. Bacterial outer membrane vesicles suppress tumor by interferon-γ-mediated antitumor response. Nat Commun. 2017;8(1):626. https://doi.org/10.1038/s41467-017-00729-8 PMID:28931823 PMCID:PMC5606984

109. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. CA Cancer J Clin. 2016;66(4):271-89.

https://doi.org/10.3322/caac.21349 PMID:27253694

110. Iyer AK, Singh A, Ganta S, Amiji MM. Role of integrated cancer nanomedicine in overcoming drug resistance. Adv Drug Deliv Rev. 2013;65(13):1784-802. https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.012 PMID:23880506

111. Gujrati V, Kim S, Kim S-H, Min JJ, Choy HE, Kim SC, et al. Bioengineered bacterial outer membrane vesicles as cell-specific drug-delivery vehicles for cancer therapy. ACS Nano. 2014;8(2):1525-37. https://doi.org/10.1021/nn405724x PMID:24410085

112. Kim OY, Dinh NTH, Park HT, Choi SJ, Hong K, Gho YS. Bacterial protoplast-derived nanovesicles for tumor targeted delivery of chemotherapeutics. Biomaterials. 2017;113:68-79.

https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.10.037 PMID:27810643

113. Alves NJ, Turner KB, Daniele MA, Oh E, Medintz IL, Walper SA. Bacterial nanobioreactors–directing enzyme packaging into bacterial outer membrane vesicles. ACS Appl Mater Interfaces. 2015;7(44):24963-72. https://doi.org/10.1021/acsami.5b08811 PMID:26479678

114. Kim JH, Yoon YJ, Lee J, Choi E-J, Yi N, Park K-S, et al. Outer membrane vesicles derived from Escherichia coli up-regulate expression of endothelial cell adhesion molecules in vitro and in vivo. PLoS one. 2013;8(3):e59276. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059276 PMID:23516621 PMCID:PMC3597602

115. Alves NJ, Turner KB, Medintz IL, Walper SA. Emerging therapeutic delivery capabilities and challenges utilizing enzyme/protein packaged bacterial vesicles. Ther Deliv. 2015;6(7):873-87.https://doi.org/10.4155/tde.15.40 PMID:26228777

116. Van Der Ley P, Steeghs L, Hamstra HJ, ten Hove J, Zomer B, van Alphen L. Modification of Lipid A Biosynthesis inNeisseria meningitidis lpxL Mutants: Influence on Lipopolysaccharide Structure, Toxicity, and Adjuvant Activity. Infect Immun. 2001;69(10):5981-90. https://doi.org/10.1128/IAI.69.10.5981-5990.2001 PMID:11553534

117. Wang L, Li F, Dang L, Liang C, Wang C, He B, et al. In vivo delivery systems for therapeutic genome editing. Int J Mol Sci. 2016;17(5):626. https://doi.org/10.3390/ijms17050626 PMID:27128905 PMCID:PMC4881452

118. Sheikhpour M, Barani L, Kasaeian A. Biomimetics in drug delivery systems: A critical review. J Control Release. 2017;253:97-109. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.03.026 PMID:28322976