

# Az extracelluláris vezikulák szerepe az immunrendszerben

Dr. Pállinger Éva

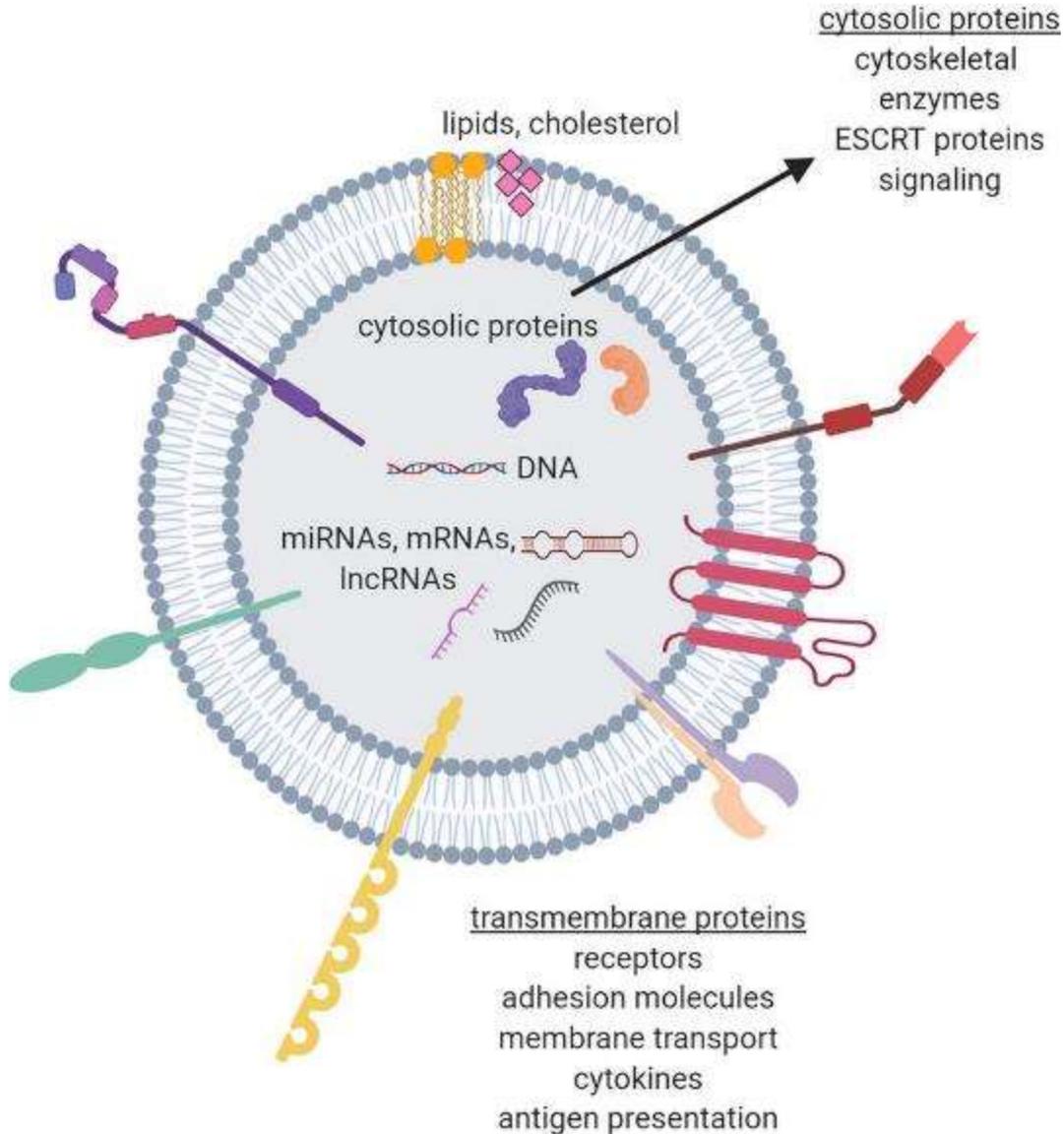
[pallinger.eva@semmelweis.hu](mailto:pallinger.eva@semmelweis.hu)

Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

2026. 03. 09.

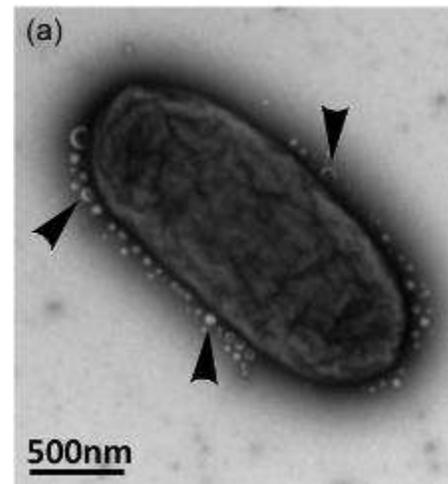


# Az extracelluláris vezikula termelés általános sejtbiológiai jelenség

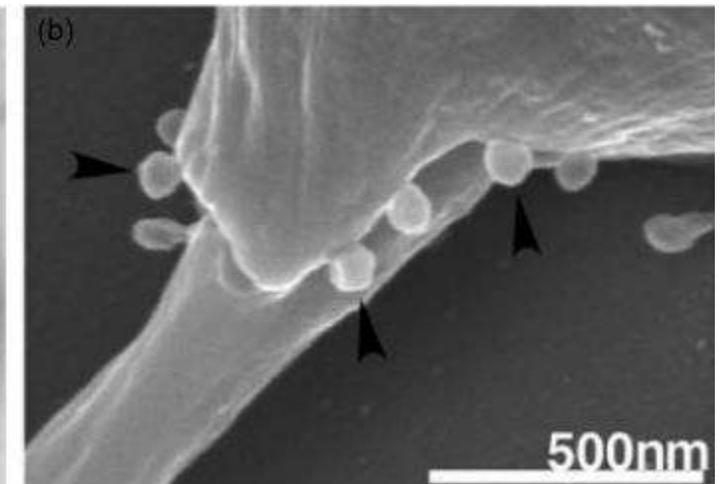


Az „extracelluláris vezikulák” (EV-k) sejtek által termelt, kettős lipid réteggel határolt részecskék, amelyek önmagukban nem képesek osztódni, mivel nincs bennük működőképes sejtmag.

Az EV termelés **filogenetikailag konzervált** sejtbiológiai jelenség.



*Salmonella typhimurium*



*Leishmania donovani*

doi: [10.1093/femsre/fuy042](https://doi.org/10.1093/femsre/fuy042)

# Az extracelluláris vezikulák története



Erwin Chargaff

## THE BIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF THE THROMBOPLASTIC PROTEIN OF BLOOD\*

BY ERWIN CHARGAFF AND RANDOLPH WEST

(From the Departments of Biochemistry and Medicine, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, and the Medical Service of the Presbyterian Hospital, New York)

(Received for publication, August 5, 1946)

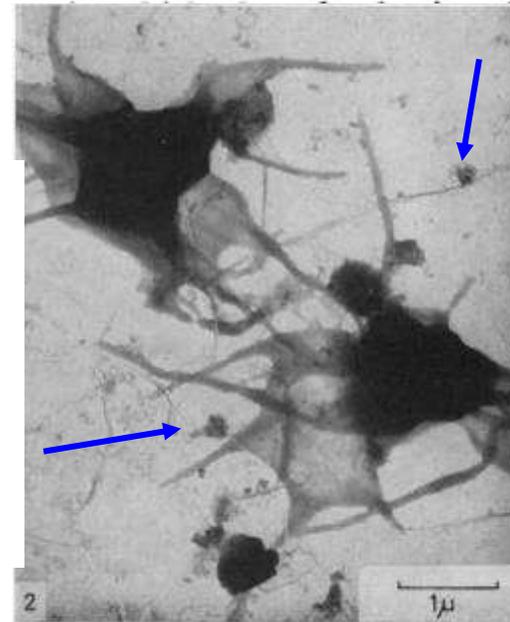
The activators of blood clotting present in mammalian tissue, *i.e.* the agents responsible for the conversion of prothrombin to thrombin, have been shown to be lipoproteins of a very high particle weight (1-3). These substances readily form sediments in a strong centrifugal field (31,000*g*), but remain in solution when subjected to weaker centrifugal forces (5000*g*).

Brit. J. Haemat., 1967, 13, 269.

## The Nature and Significance of Platelet Products in Human Plasma

PETER WOLF

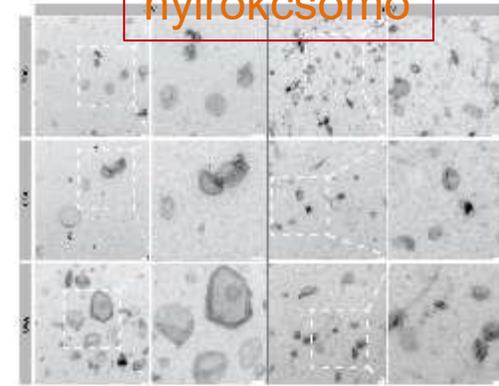
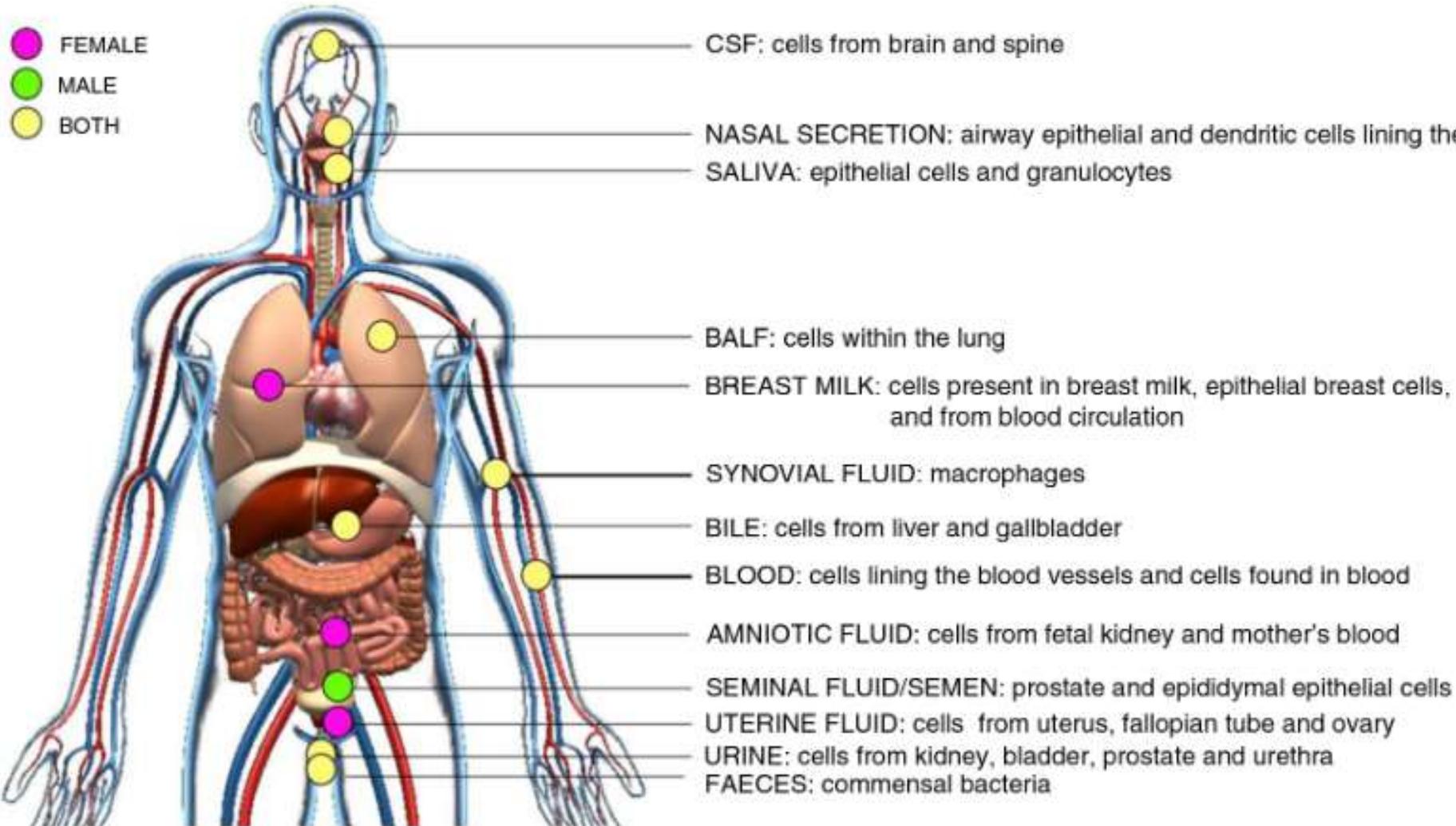
External Scientific Staff of the Medical Research Council,  
Department of Experimental Pathology, University of Birmingham



„platelet dust”

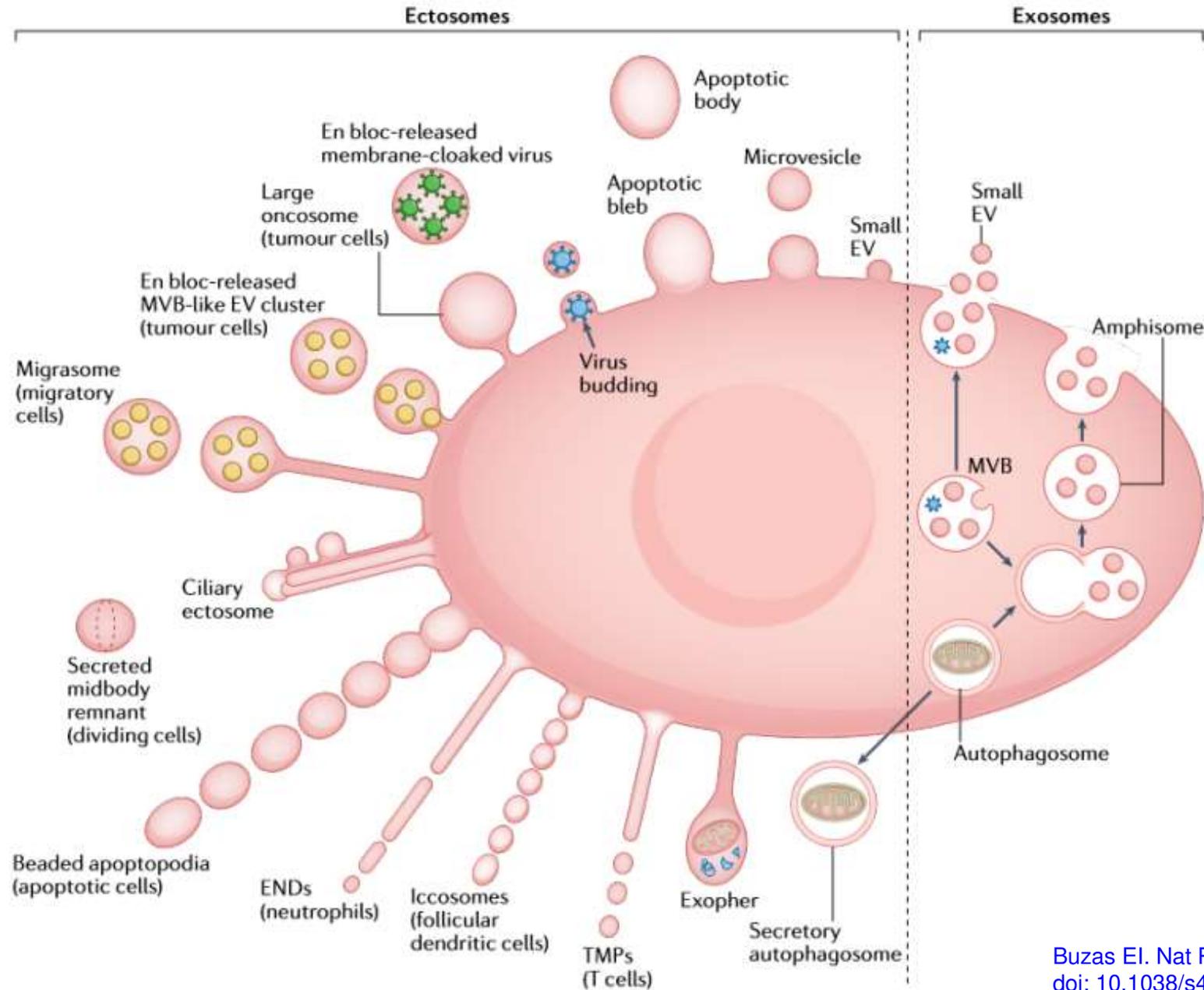
# Extracelluláris vezikulák a szervezetben

Minden szövetben és testfolyadékban jelen vannak

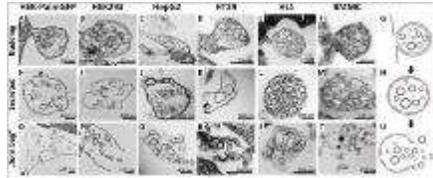


Bodnár et al. nt. J. Mol. Sci. 2025, 26(13), 6092;  
<https://doi.org/10.3390/ijms26136092>

# Az extracelluláris vezikulák heterogenitása



# Az extracelluláris vezikulák biogenezeise



T. Visnovitz et al. doi.org/10.7554/eLife.95828.2.

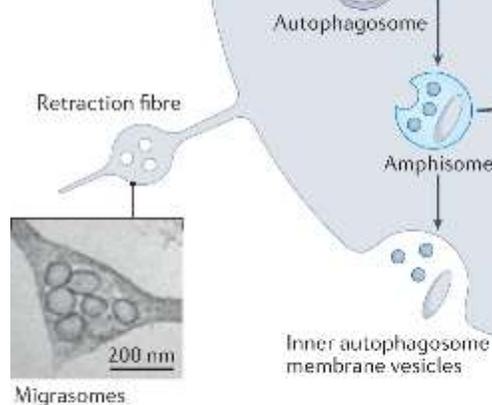
## Exoszómák

### Exoszóma képződés lépései:

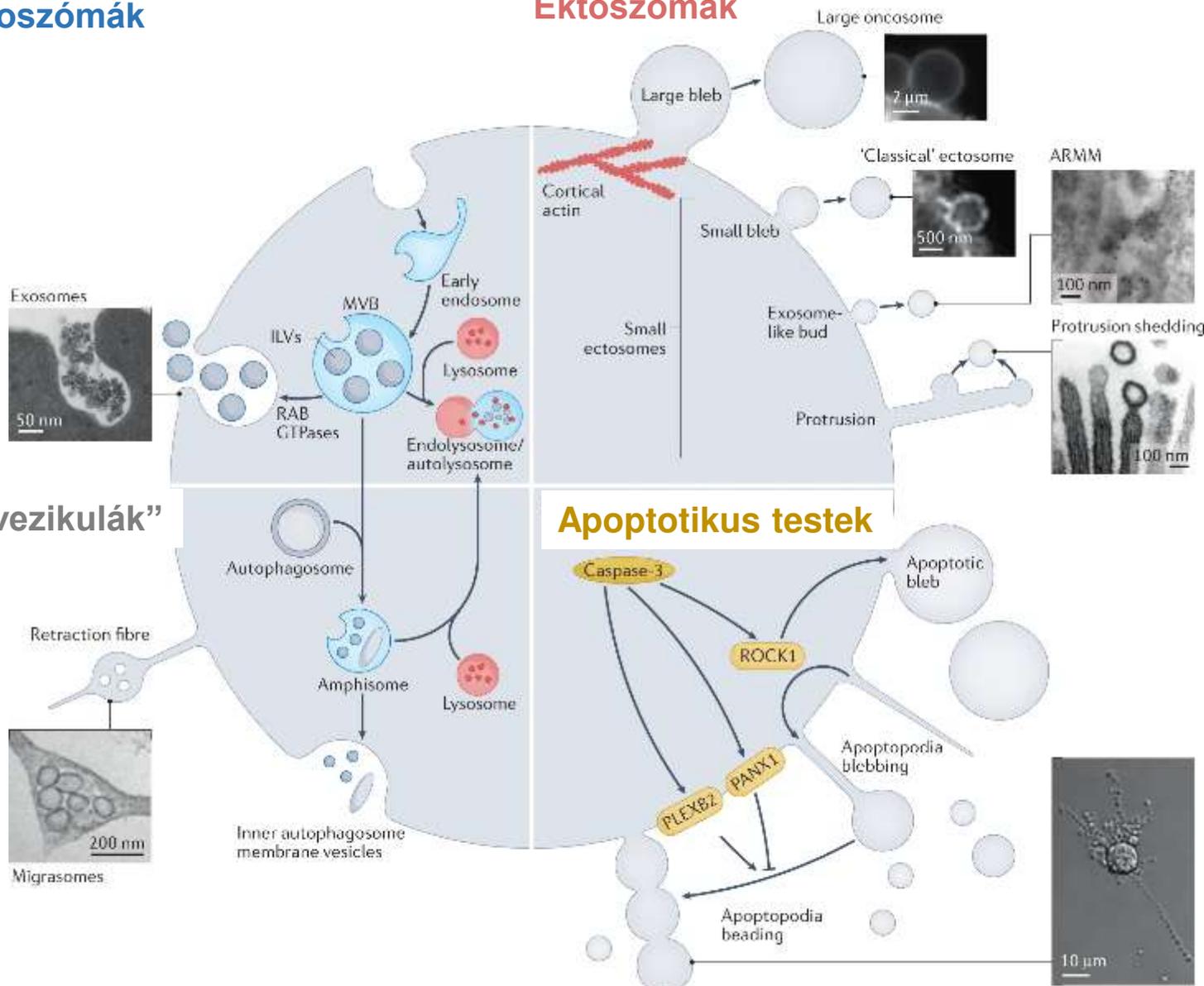
- Endocitózis
- ↓
- korai endoszómák
- ↓
- intraluminális vezikulákat (ILV) tartalmazó multivezikuláris testek (MVB)
- 1) MVB-lizoszóma fúzió: az ILV-k lebomlanak
- 2) MVB-plazmamembrán fúzió: ILV exocitózis

EV képződés autofágia útvonalon keresztül

## „Egyéb vezikulák”



## Ektoszómák



### Ektoszóma képződés lépései:

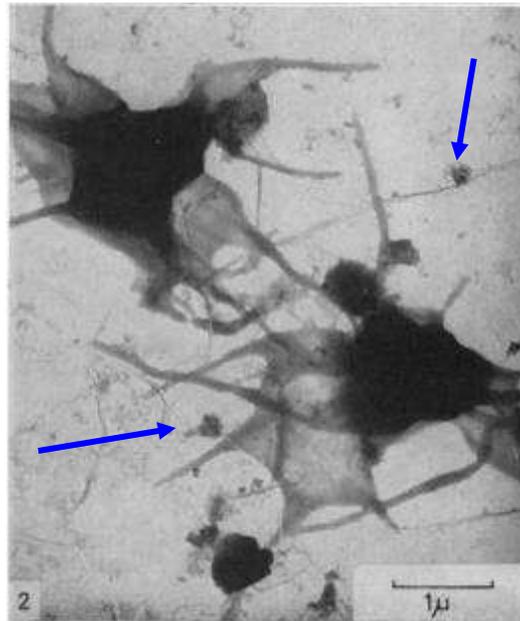
Az ektoszómák a plazmamembrán kitüremkedésiből fűződnek le.

- ↓
- 1) Kis méretű ektoszómák: hasonló az exoszóma biogenezéséhez: szerepe van benne az ESCRT fehérjéknek és a tetraspaninoknak is
- 2) Nagy méretű ektoszómák: Fontos szerepe van benne a citoszkeleton átrendeződésnek

### Apoptotikus test képződés lépései:

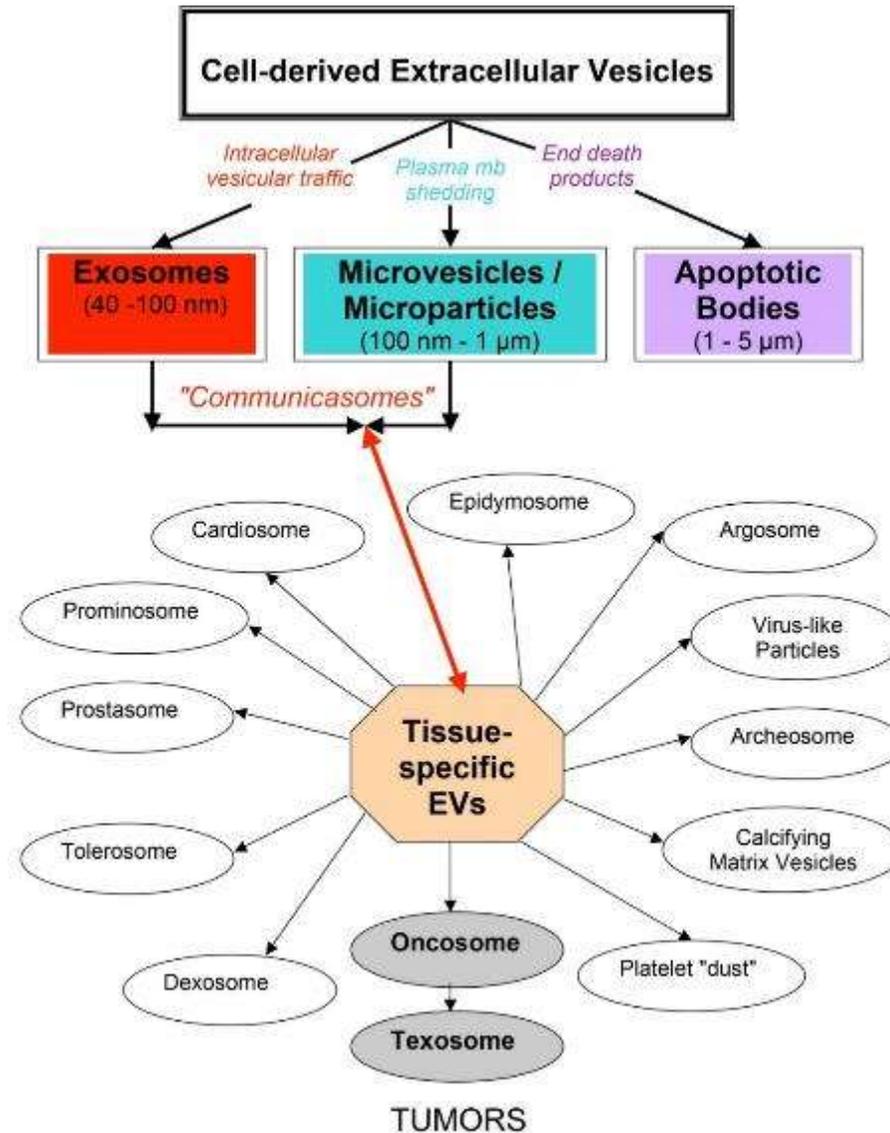
A programozott sejthalál során keletkeznek, amikor az elpusztuló sejtek feldarabolódnak, és alkotó elemeik membránba csomagolódva kerülnek eltávolításra.

# Az extracelluláris vezikulák nevezéktana



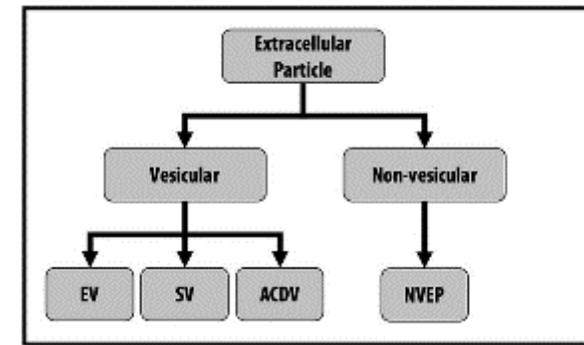
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1967.tb08741.x>

Peter Wolf 1967.  
„platelet dust”



# Az extracelluláris vezikulák nevezéktana

Minimal information for studies of extracellular vesicles MISEV2023



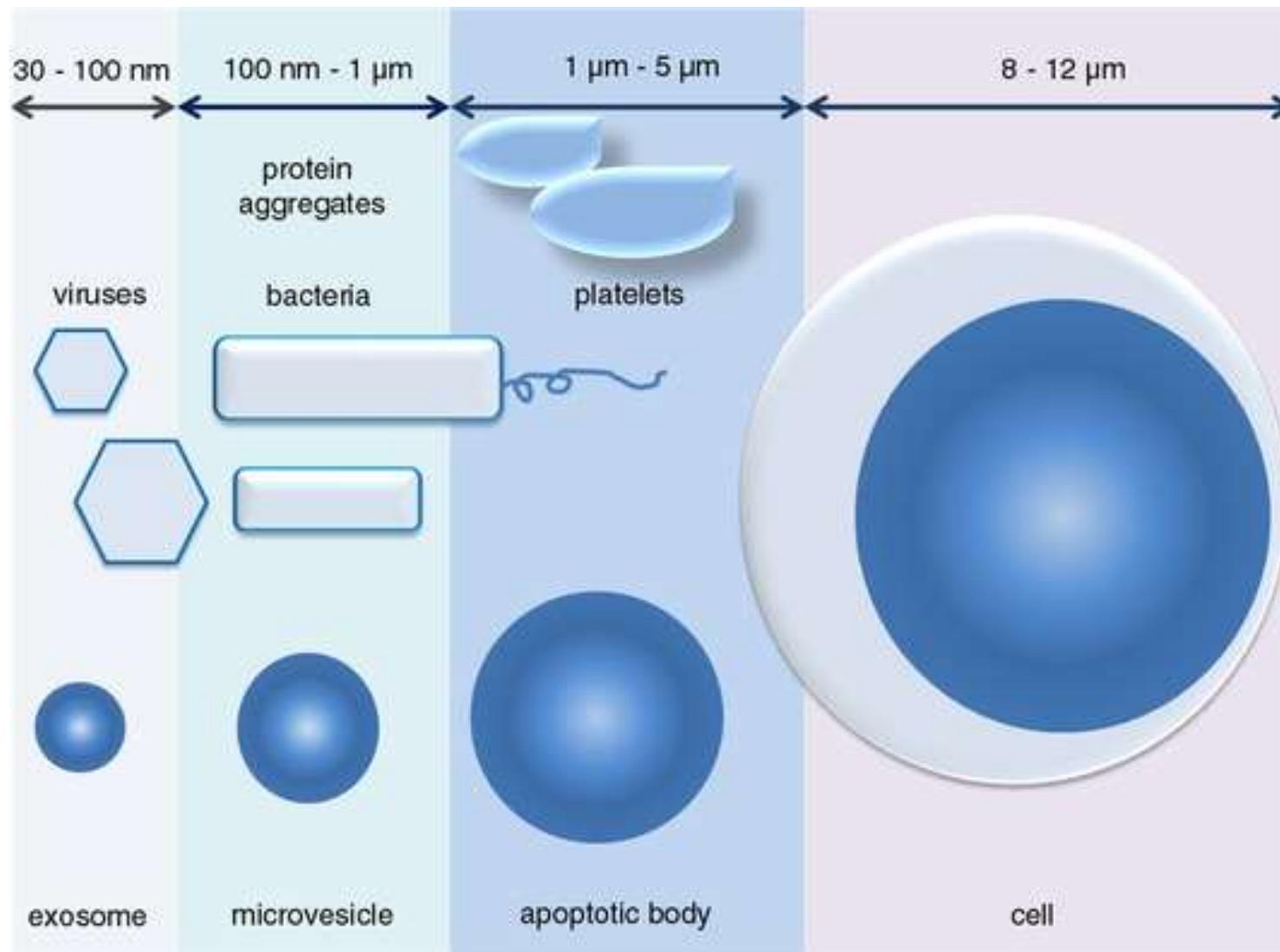
Natural

Term	Definition	Usage
Extracellular vesicles (EVs)	Particles that are released from cells, are delimited by a lipid bilayer, and cannot replicate on their own.	Recommended
Non-vesicular extracellular particles (NVEPs)	Multimolecular assemblies that are released from cells and do not have a lipid bilayer (non-vesicular extracellular particle fraction).	Recommended
Extracellular particles (EPs)	Umbrella term for all particles outside the cell, including EVs and NVEPs.	Recommended

Artificial / induced

EV mimetic	EV-like particles that are produced through direct artificial manipulation. This term is preferred over 'exosome-like vesicles' and similar terms that imply specific biogenesis-related properties.	Recommended
Artificial cell-derived vesicles (ACDVs)	EV mimetics that are produced in the laboratory under conditions of induced cell disruption, such as extrusion.	Recommended
Synthetic vesicles (SVs)	EV mimetics that are synthesized de novo from molecular components or made as hybrid entities, e.g., fusions between liposomes and native EVs.	Recommended

# Miért használjuk még a régi nevezéktant is?



Small EV

Intermediar size EV  
(medium size EV)

Large EV

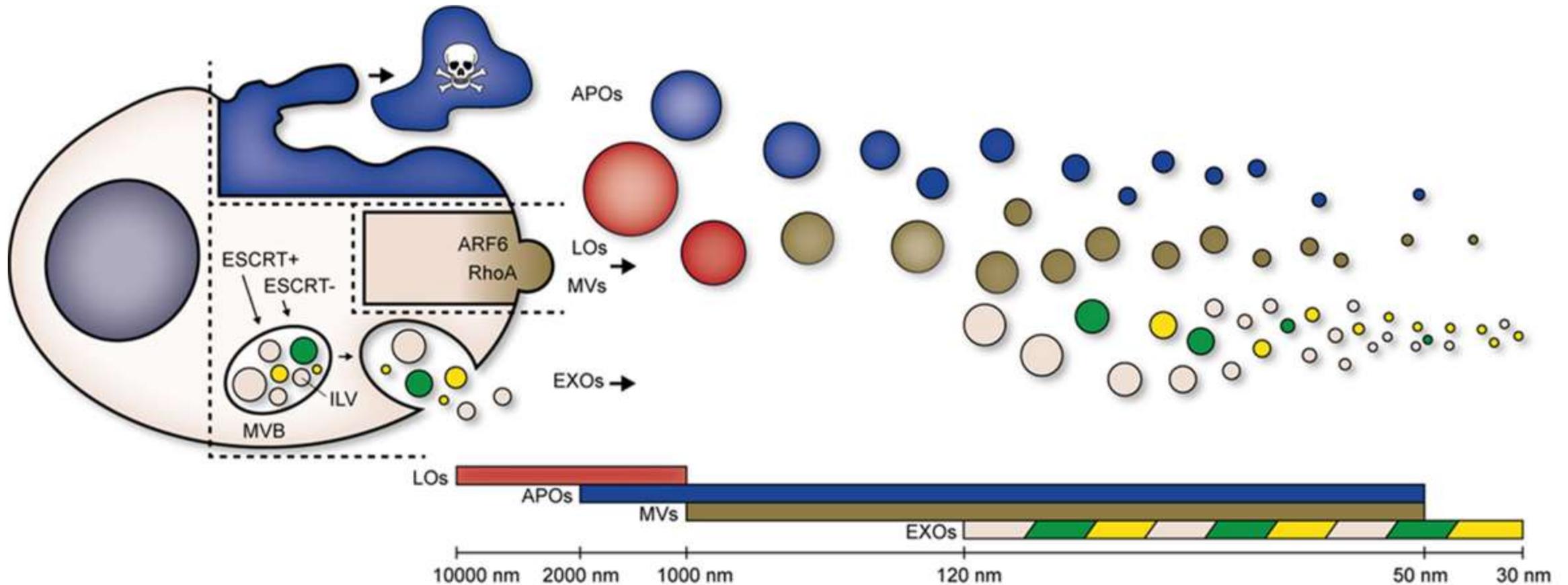


Ectosomes

MISEV2018

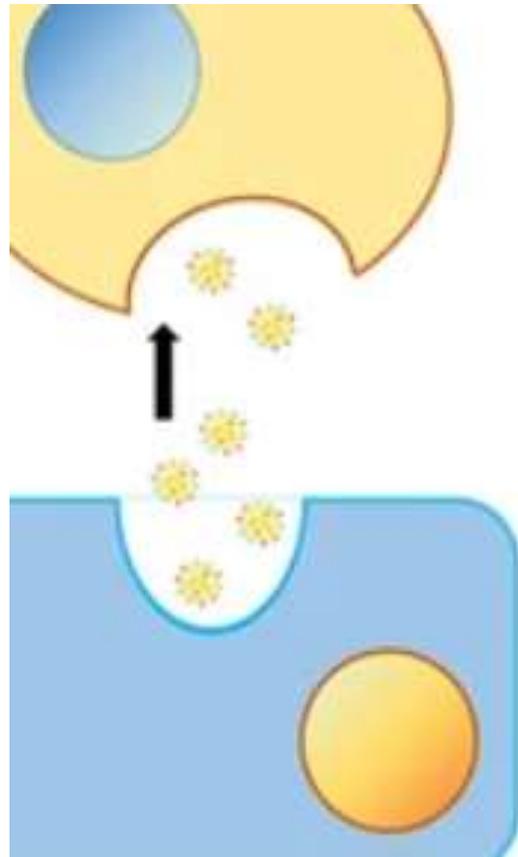
# Átfedések az extracelluláris vezikulák méretében

Az izolált EV-k sejteredetét és a képződésük módját a méret alapján nem tudjuk azonosítani.

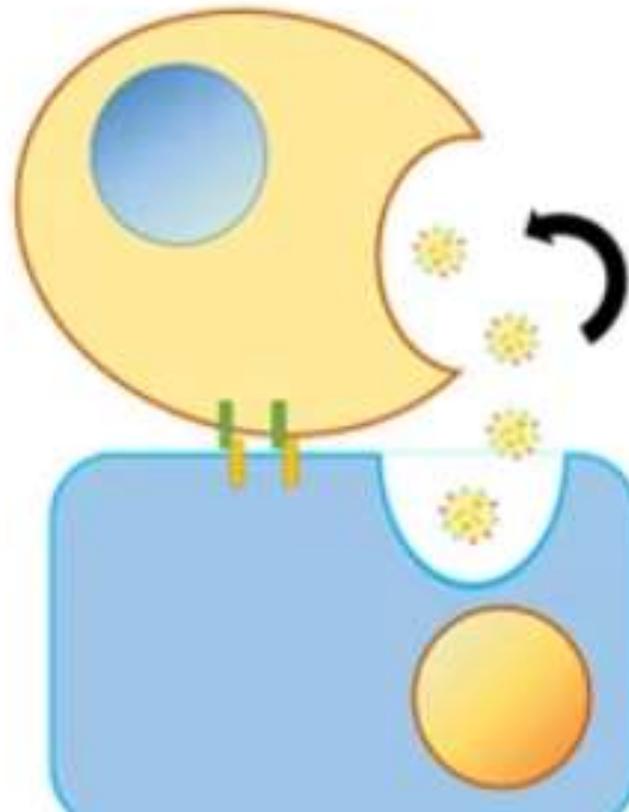


# Az extracelluláris vezikulák általános hatásai

Parakrin / endokrin



Juxtakrin



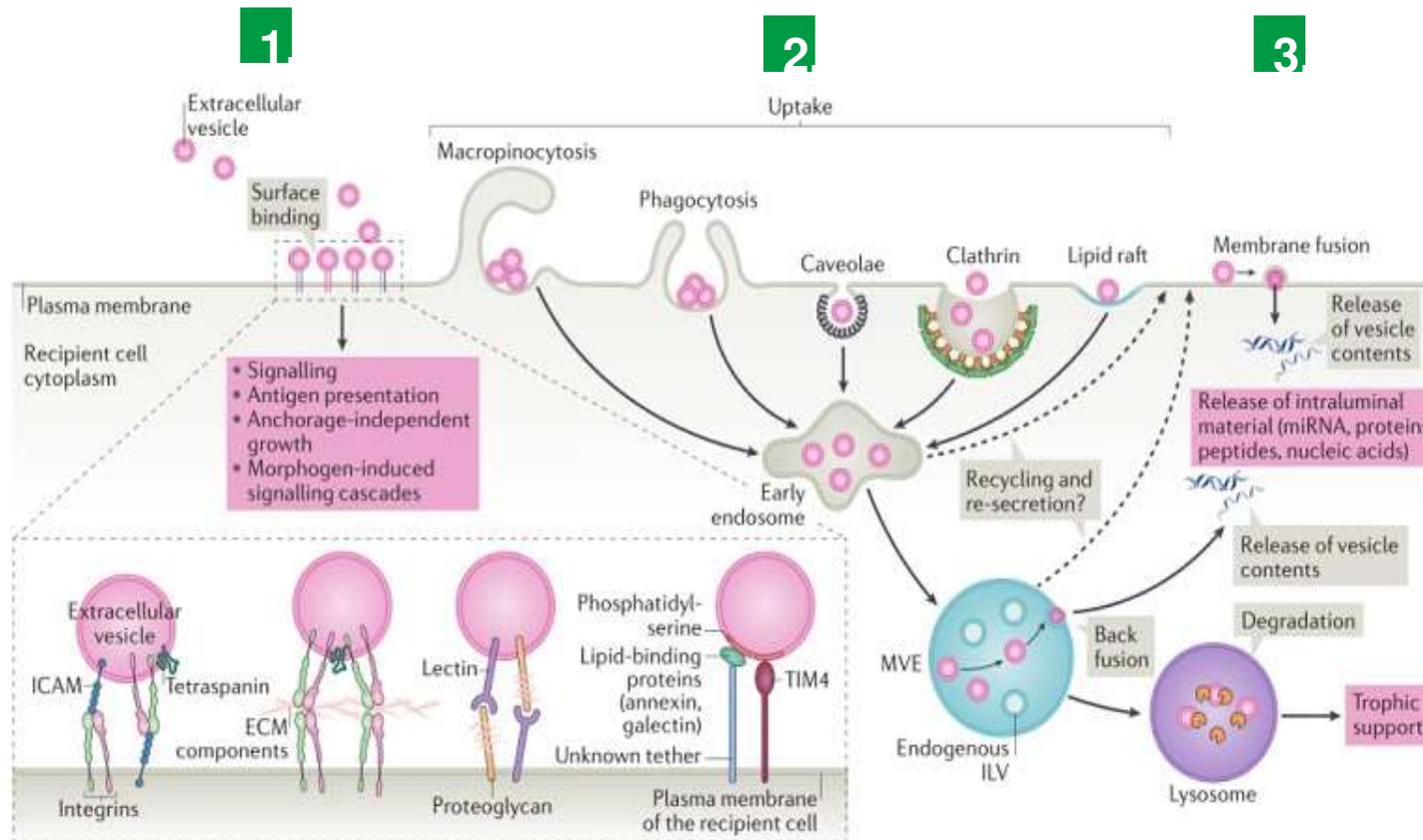
Autokrin



# Hogyan fejtik ki hatásukat az EV-k?

„A hatás közvetítője”

„A hatás módja”



<https://www.biochempeg.com/article/257.html>

## Fehérje-asszociált funkciók:

- Immunmoduláció (pl. TGFb; IL-1b)
- Kemokin szekréció (pl. MIF; CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL,20)
- Apoptózis indukció (membránhoz kötött TNFa; CD95L)

## RNS-asszociált funkciók:

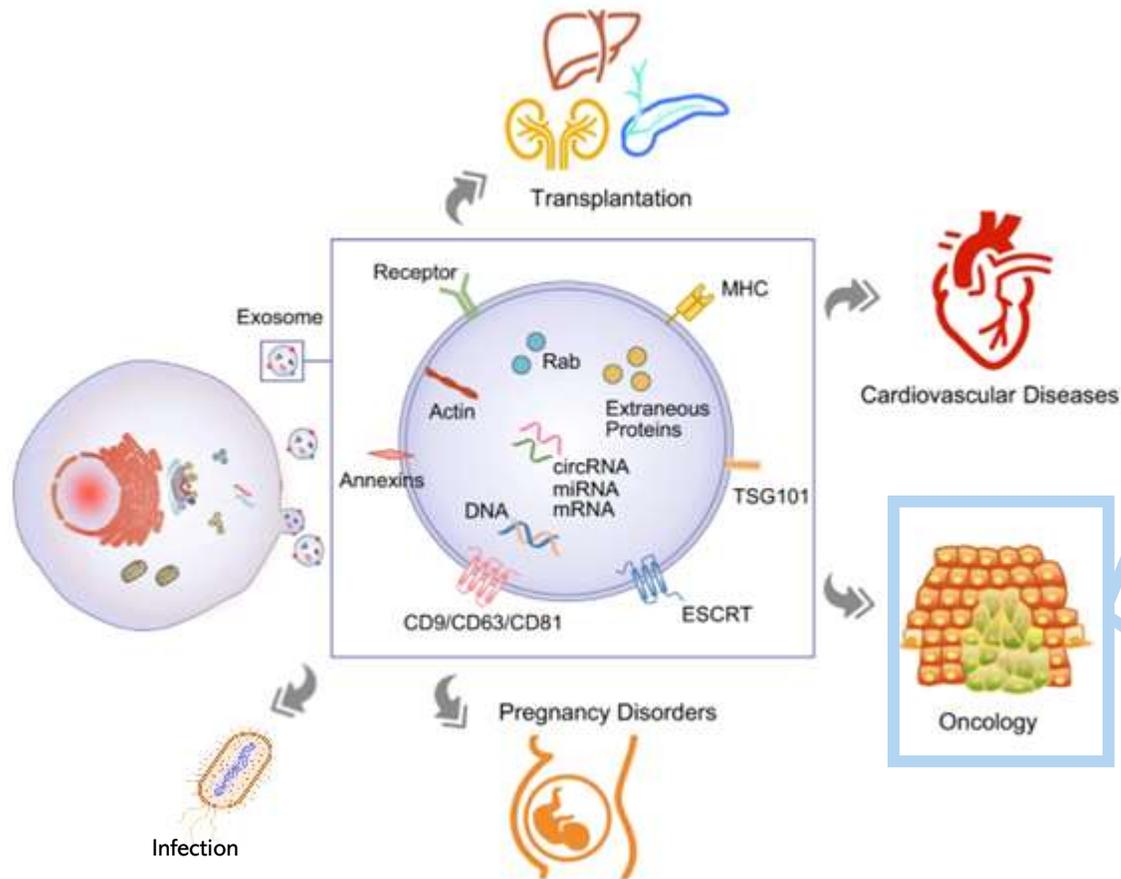
- mRNS, mRNS fragmentumok, hosszú nem-kódoló RNS, miRNS, riboszómális RNS, tRNS fragmentumok
- **Gyulladás** (pl. miR155); **tumor terjedés** (pl. miR223); **immunszuppresszió** (pl. miR150), stb.

## DNS-asszociált funkciók:

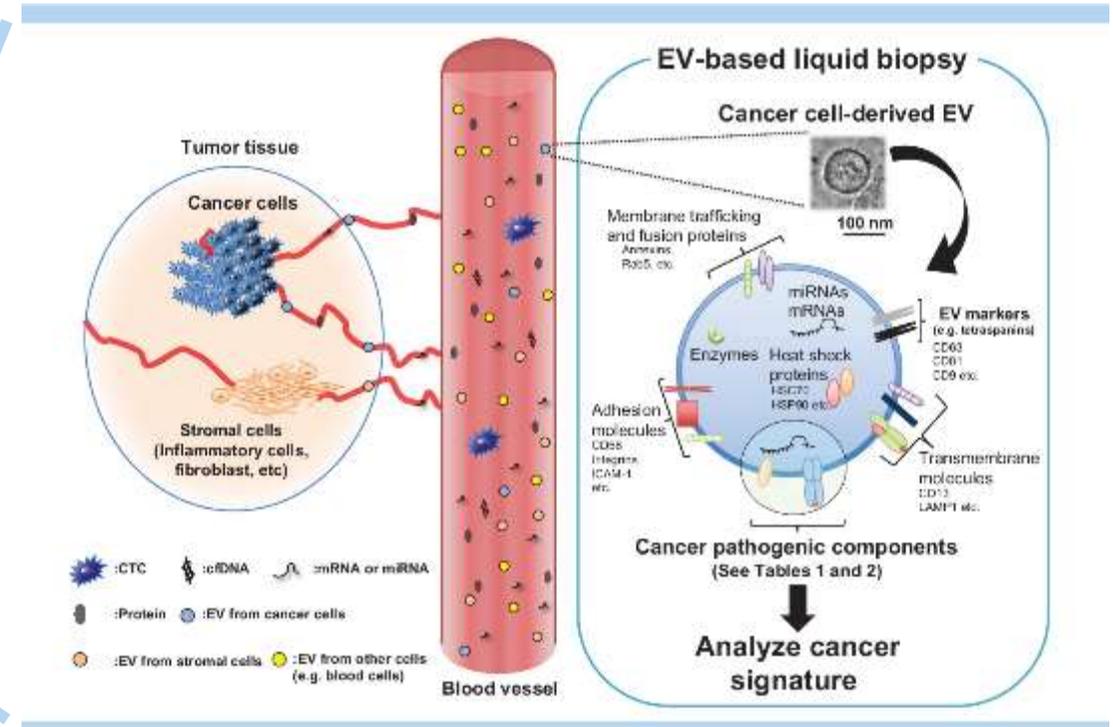
- Mitochondriális DNS (mtDNS), egyszálú DNS, kétszálú DNS (dsDNS) és onkogén amplifikátumok (pl. c-Myc)

# Az extracelluláris vezikulák orvosi vonatkozásai 1: Az EV-k, mint biomarkerek

Az exoszómák a klinikai diagnózisban  
(folyékony biopszia)



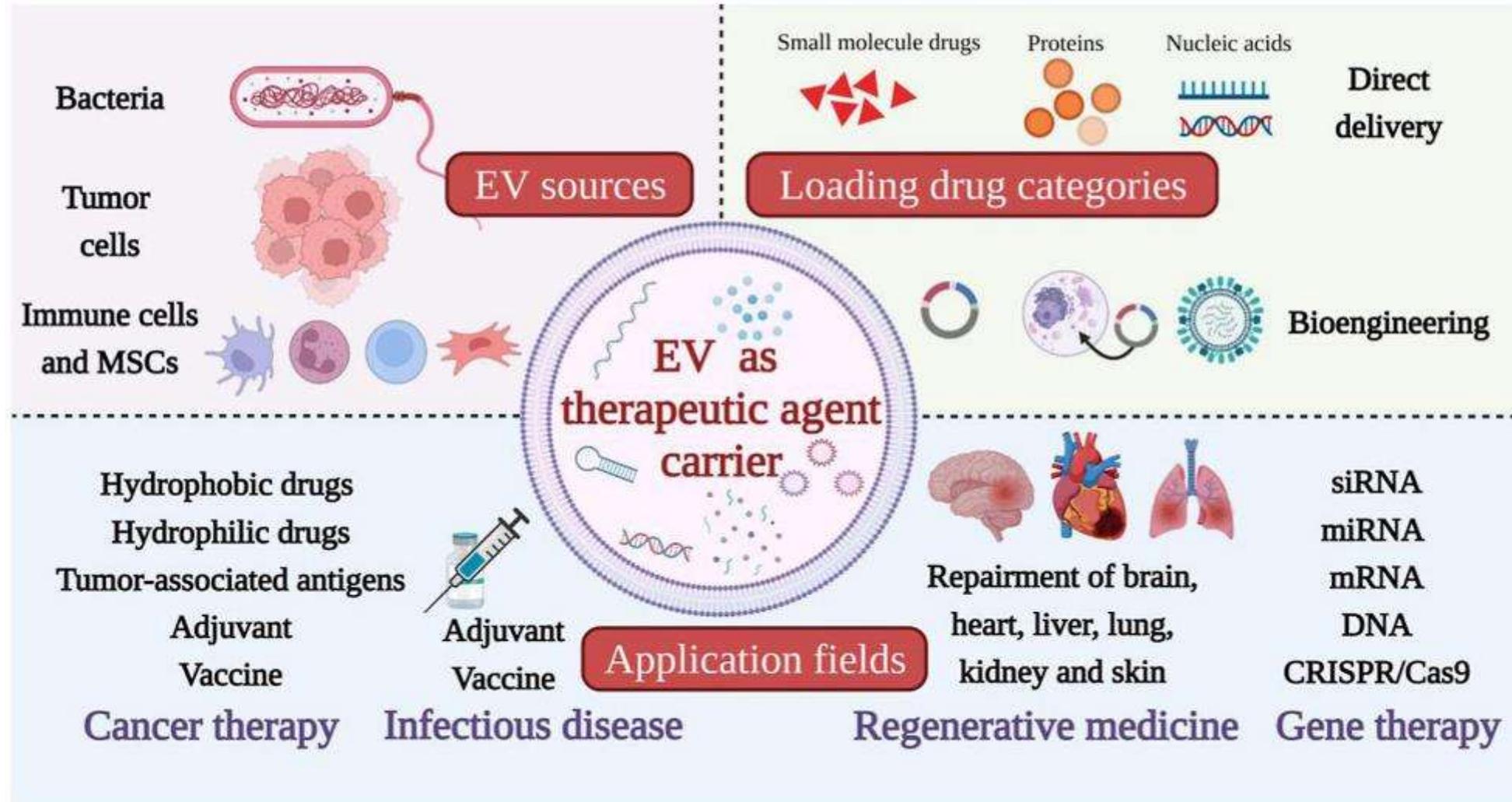
Az exoszómák jelentősége a daganat  
diagnosztikában  
(folyékony biopszia)



DOI:10.1093/jjco/hyy120

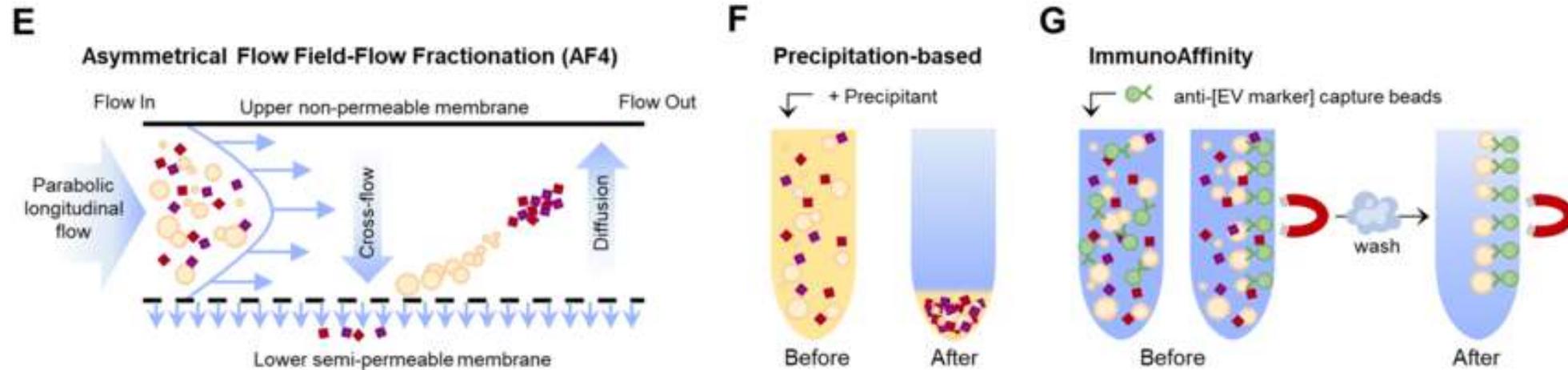
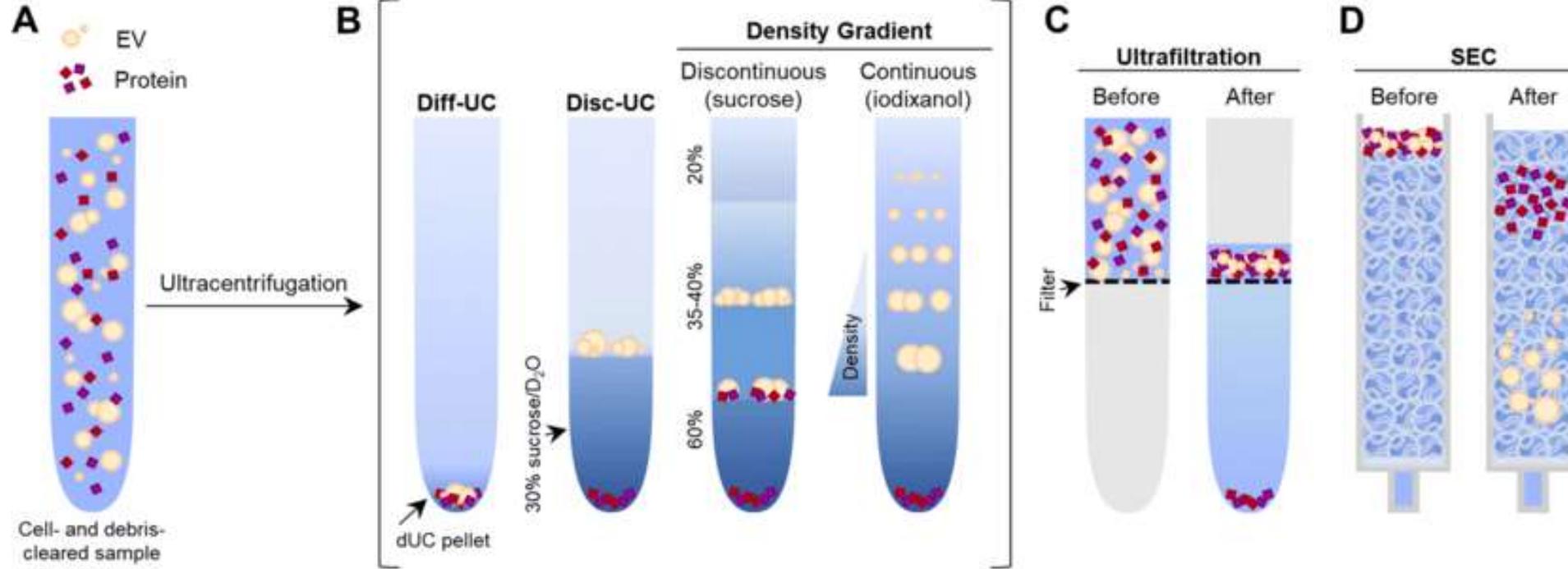
<https://doi.org/10.1038/s41392-020-00258-9>

# Az extracelluláris vezikulák orvosi vonatkozásai 2: EV-asszociált terápiás lehetőségek



# Extracelluláris vezikulák izolálása

Méret alapján történő izolálás



# Az EV izolálás kihívásai

Method	Description	Advantages	Disadvantages	Specific sample
Ultracentrifugation	EVs are separated by their sedimentation rate under high centrifugal force.	High yield and purity regarded as the gold standard (T et al., 2006)	Time-consuming and may lead to co-purification of non-vesicular components	Cell culture supernatants, blood plasma/serum, and urine
Size-exclusion chromatography	Separates EVs based on size using column filtration	Easy to use and can be automated; compatible with downstream applications	Low yield compared to other methods (de Menezes-Neto et al., 2015)	Plasma, serum, ascites fluid (Koliha et al., 2016)
Immunoprecipitation	Uses specific antibodies to isolate EVs bound to targeted proteins	Highly specific and sensitive; allows for the isolation of subpopulations of vesicles	Antibody-dependent, which may limit its application in some condition	Plasma, milk, saliva, and urine
Microfluidic-based separation	Fast, easy to use, scalable, suitable for large-volume samples	High throughput and accuracy; reliable isolation of specific EVs subpopulations (Harenberg et al., 2012)	Equipment costs and complexity may limit widespread adoption	Plasma and urine
Polymer-based precipitation	A polymer solution is added to sample, creating a cloudy mixture containing EVs which can be recovered through precipitation	Fast, easy to use, scalable, suitable for large-volume samples	Contamination with protein aggregates or other impurities may occur (Gardiner et al., 2014)	Plasma, urine, and saliva
Electrophoresis	This method can be used to purify specific subpopulations of EVs based on their electrophoretic properties	High resolution and specificity; can isolate EVs subpopulations (Long et al., 2013)	Requires specialized equipment; low yield compared to some other methods	Plasma, urine, and cerebrospinal fluid (Chiasserini et al., 2014)



Mi a kérdés?

Orvosi alkalmazhatóság feltétele: standardizálás

# Mi a kérdés?

## Az EV-k vizsgálati lehetőségei

„Single vesicle analysis (SVA)”

"Populációs" szintű vizsgálatok		"Individuális" szintű vizsgálatok		
fehérje tartalom / összetétel	nukleinsav tartalom / összetétel	fényszóráson alapuló optikai módszerek	fluoreszcens optikai módszerek	nem optikai módszerek
western blot analízis (WB)	polimeráz láncreakció (PCR)	fénymikroszkópia	áramlási citometria (FACS)	transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM)
tömegspektrometria (MS)		áramlási citometria (FACS)	fluoreszcens mikroszkópia	atomerő mikroszkópia (AFM)
		dinamikus fényszórás (DLS)	szuperrezolúciós fénymikroszkópia (STED)	Impedancia alapú flow cytometria
		nano tracking analysis (NTA)	fluoreszcens nano tracking analysis (F-NTA)	

Orvosi alkalmazhatóság feltétele: standardizálás; gyorsaság; automatizálás

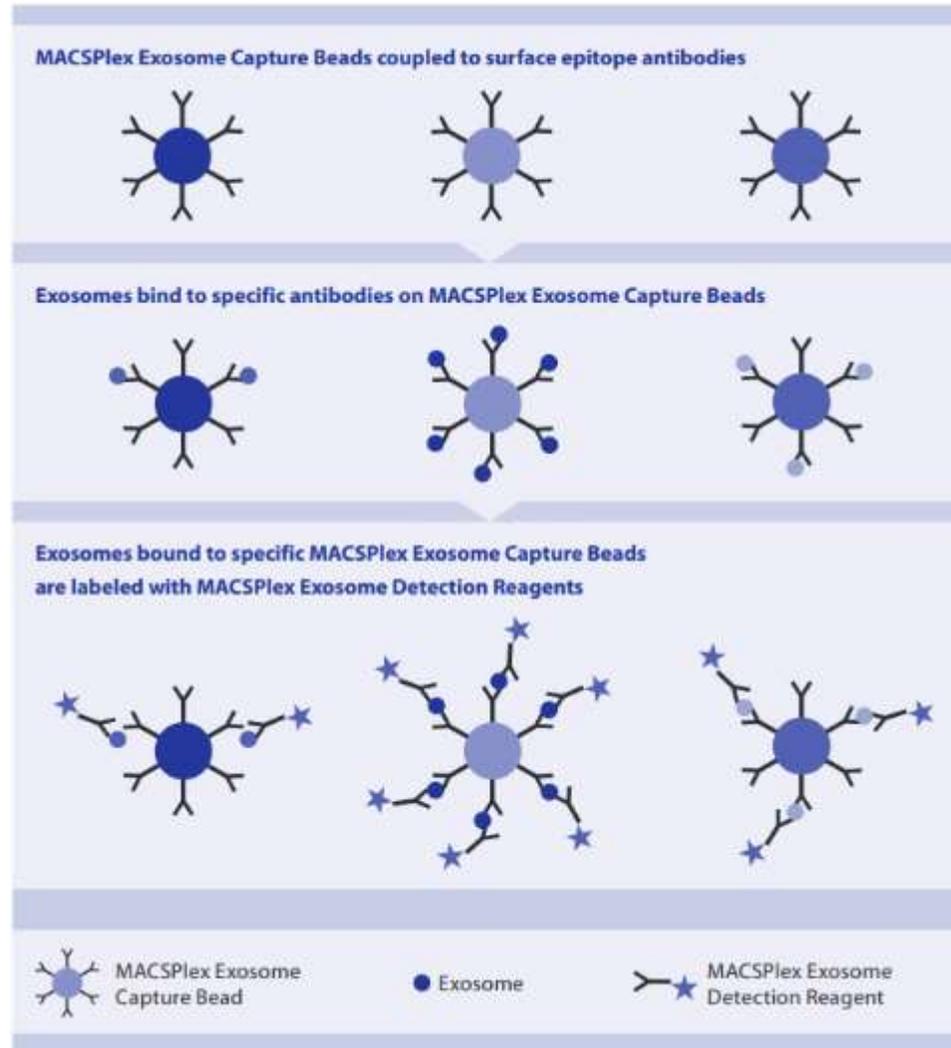
# MIFlowCyt-EV Reporting Framework

EV – FACS kihívásai

	Category	Components	Objective
1	Preanalytical variables & experimental design	1.1. Report preanalytical variables conforming to MISEV guidelines* 1.2. Report experimental design according to MIFlowCyt guidelines*	Reproducibility
2	Sample preparation	2.1. Sample staining* 2.2. Sample washing steps* 2.3. Sample dilution*	Reproducibility
3	Assay controls	3.1. Buffer-only*                      3.5. Single-stained controls* 3.2. Buffer with reagents*        3.6. Procedural controls** 3.3. Unstained controls*         3.7. Serial dilution* 3.4. Isotype controls**            3.8. Detergent-treated EV samples	Proof of single vesicle detection
4	Instrument calibration & data acquisition	4.1. Trigger channel(s) and threshold(s)* 4.2. Flow rate & volumetric quantification ( $\mu\text{L min}^{-1} / \mu\text{L}$ )* 4.3. Fluorescence Calibration (MESF/ERF units)* 4.4. Light Scatter Calibration ( $\text{nm}^2$ )	Standardization
5	EV characterization	5.1. EV diameter/surface area/volume approximation 5.2. EV refractive index approximation 5.3. Epitope number approximation	Advanced standardization
6	FC data reporting	6.1. Complete MIFlowCyt checklist* 6.2. Calibrated channel detection range 6.3. EV number concentration 6.4. EV brightness	Reproducibility
7	FC data sharing	7.1. Share data to public repository	Reproducibility

# EV-k azonosítása a sejteredet alapján

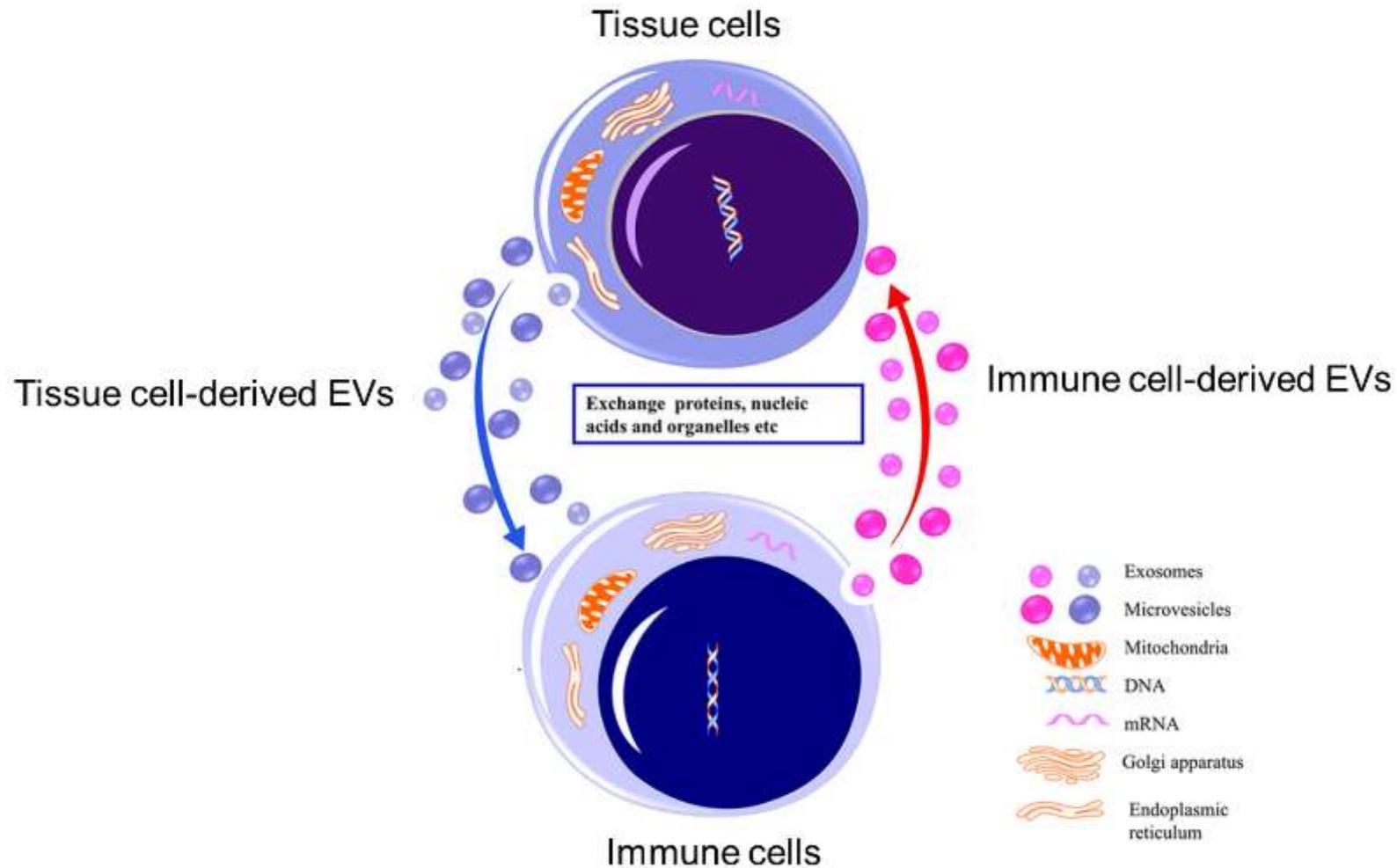
Módszer: MACSPlex EV detektáló kit



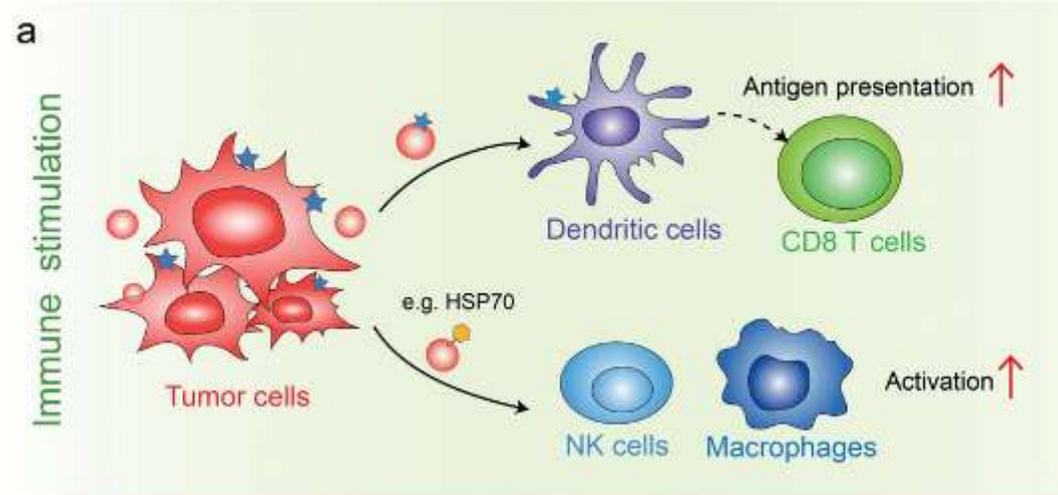
No.	Antibody	Isotype
22	CD3	recombinant human IgG1
23	CD4	recombinant human IgG1
24	CD19	recombinant human IgG1
32	CD8a	recombinant human IgG1
33	MHC Class II	recombinant human IgG1
34	CD49b	recombinant human IgG1
35	CD105	rat IgG2ak
42	CD2	recombinant human IgG1
43	CD11b	recombinant human IgG1
44	CD25	recombinant human IgG1
45	CD49e	rat IgG2ak
46	CD140a	recombinant human IgG1
52	CD66a	recombinant human IgG1
53	CD9	rat IgG2ak
54	CD205	recombinant human IgG1
55	MHC I	recombinant human IgG1
56	CD63	recombinant human IgG1
57	CD40	rat IgG2a
63	CD62P	recombinant human IgG1
64	CD11c	recombinant human IgG1

No	Antibody	Isotype
65	CD81	hamster IgGk
66	AN2	recombinant human IgG1
67	CD146	recombinant human IgG1
68	CD41	rat IgG1k
74	CD61	hamster IgGk
75	CD24	recombinant human IgG1
76	CD86	rat IgG2bk
77	CD44	recombinant human IgG1
78	CD326	rat IgG1
79	Prominin-1	rat IgG1
85	CD29	hamster IgGλ
86	CD69	recombinant human IgG1
87	rat IgG1	rat IgG1
88	CD45	recombinant human IgG1
89	CD31	recombinant human IgG1
96	REA Control	recombinant human IgG1
97	CD20	recombinant human IgG1
98	CD115	recombinant human IgG1
99	EphA2	recombinant human IgG1

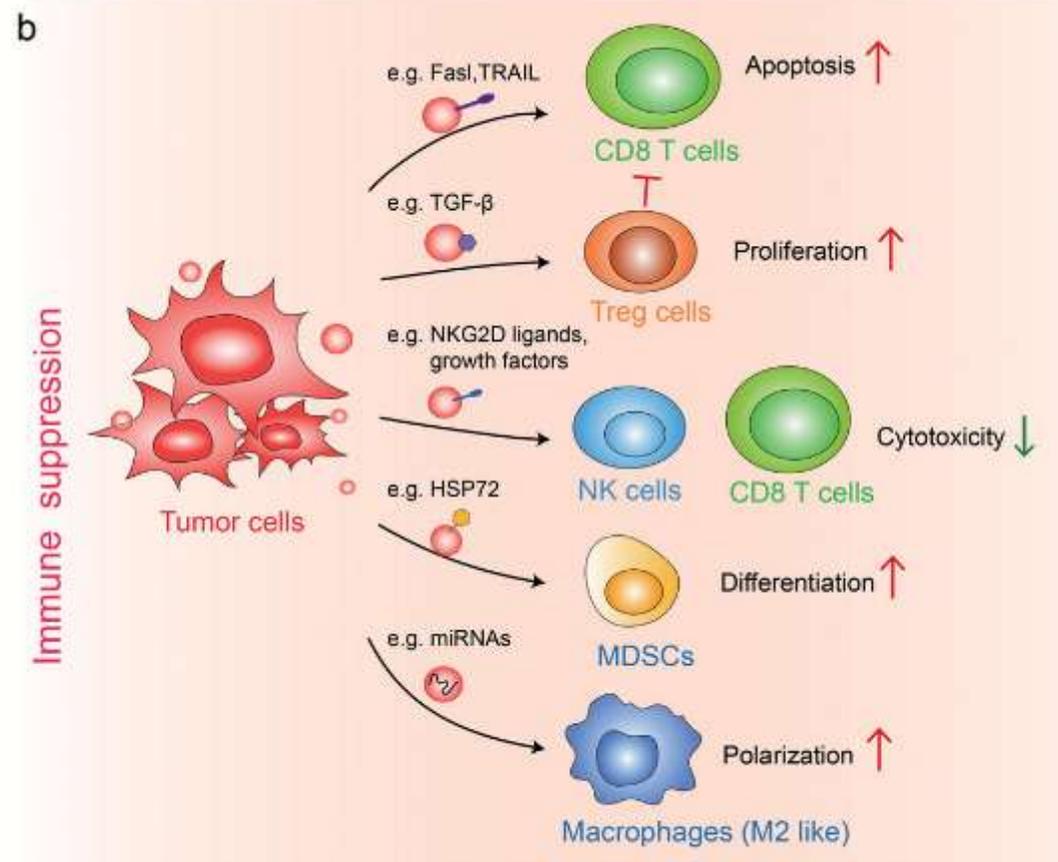
# Az EV-k és az immunrendszer kapcsolata



# Példák a tumor-eredetű EV-k immunsejtekre gyakorolt hatásaira

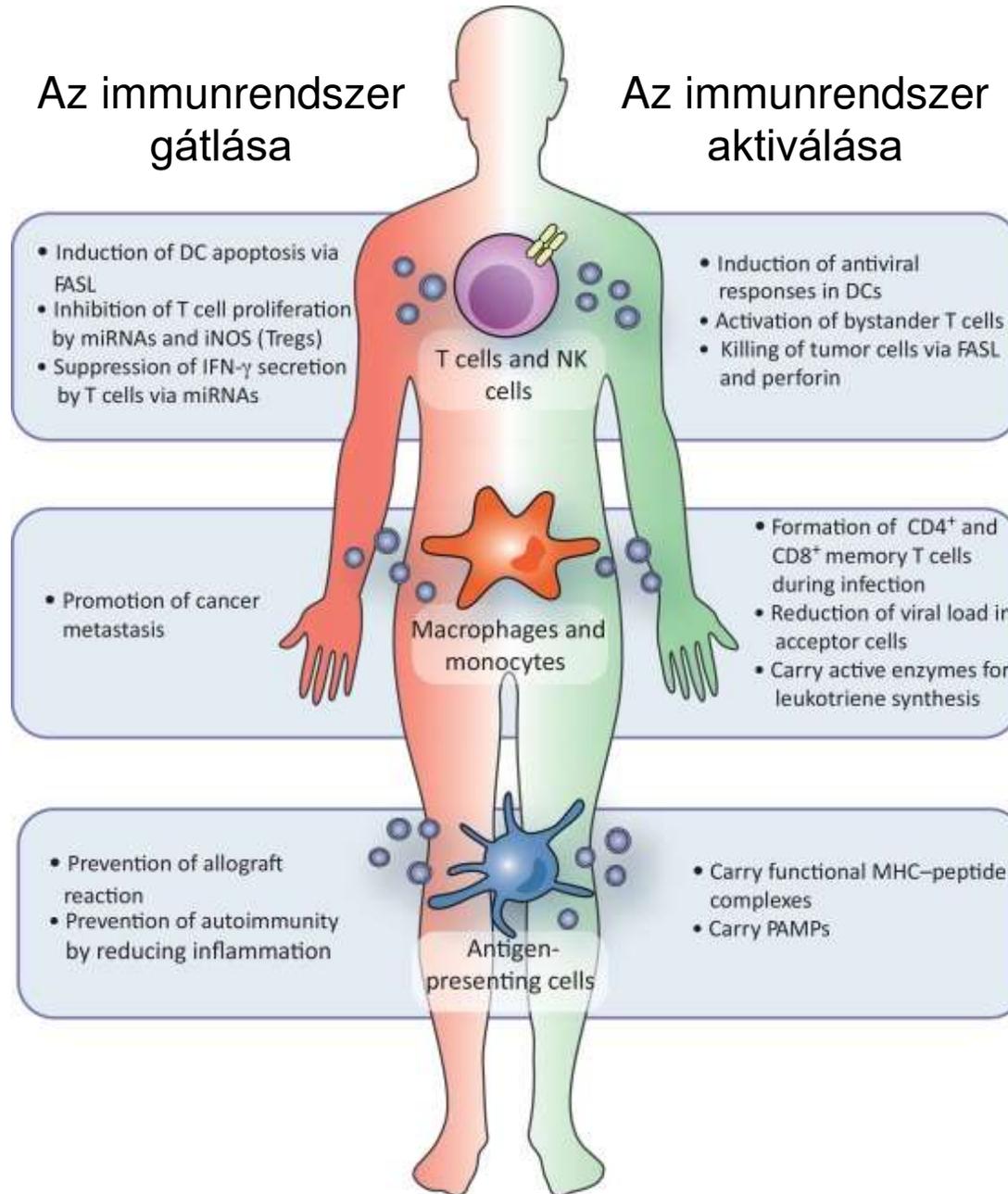


A tEV-k expresszálnak tumorantigéneket  
 ↓  
 DC aktiváció  
 ↓  
 Ag-prezentáció



A tEV-k expresszálnak immun-suppressziót kiváltó molekulákat  
 ↓  
 Tumor escape

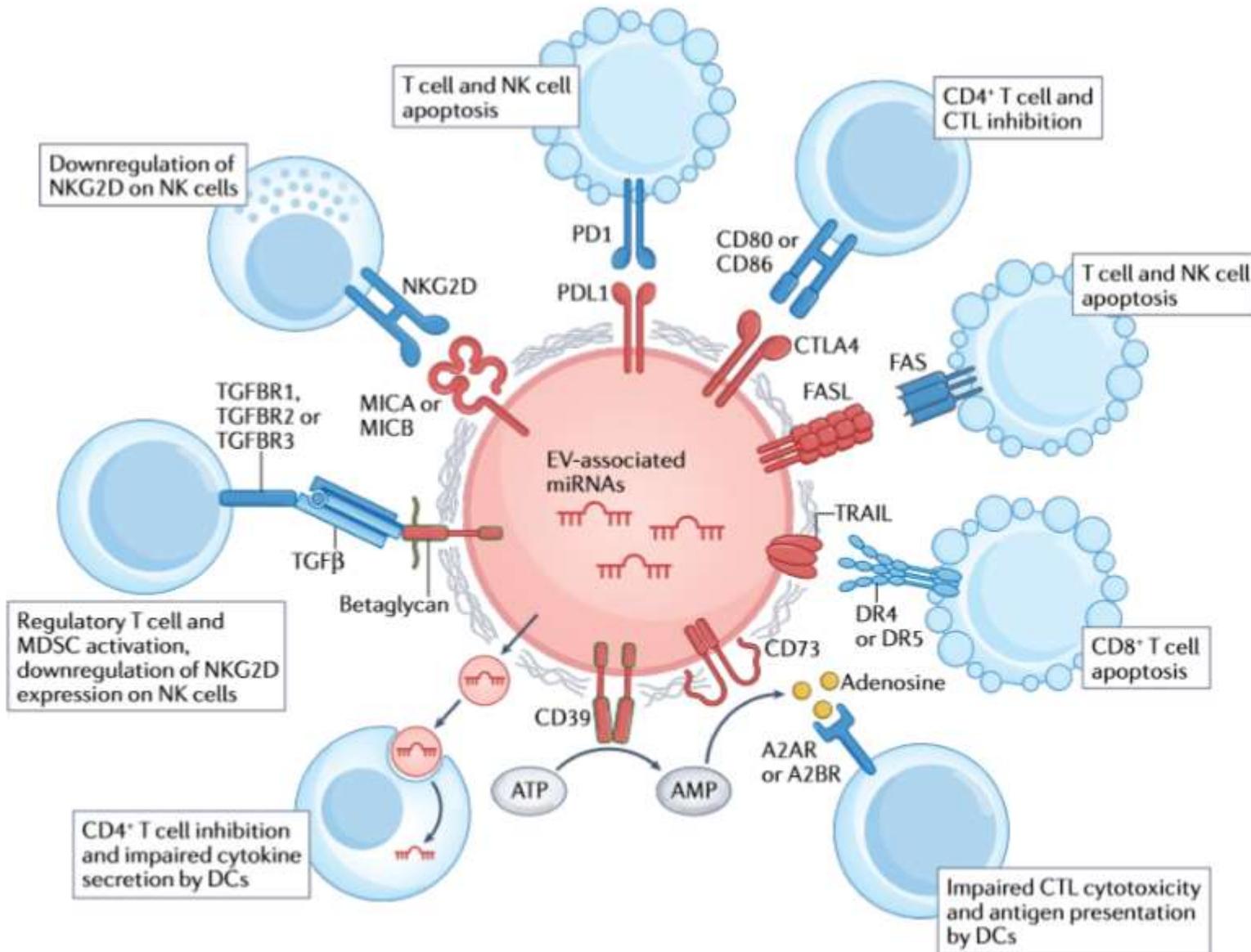
# Immunsejt – eredetű extracelluláris vezikulák



- Minden immunsejt termel EV-kat.
- Az immunsejtekből származó EV-k a donorsejtek állapotától függően különféle funkciókat látnak el.
- Az immunsejt eredetű EV-k potenciális terápiás eszközök.

# Extracelluláris vezikulák az immunválasz szabályozásában

Az immunsejtekből származó EV-k a donorsejtek állapotától függően különféle funkciókat látnak el.



Az EV-k immunszabályozó molekulákat expresszálhatnak (pl. PDL1, CTLA4 (Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4), FASL és TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)).

T sejt, NK sejt gátlás (apoptózis indukció).

A CD39 és CD73 ektoenzimek ATP-ből adenosint termelnek, ami gátolja a Tc sejtek működését és az antigén bemutatást.

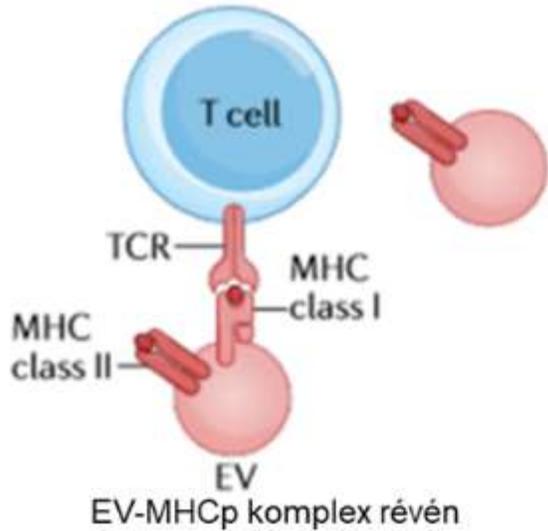
A Treg eredetű EV-k miRNS tartalma gátolja a Th választ.

Az EV felszínén lévő TGFβ aktiválja a Treg sejteket és a mieloid eredetű szupresszor sejteket (MDSC-k), csökkenti az NK-sejtek KAR receptorának expresszióját.

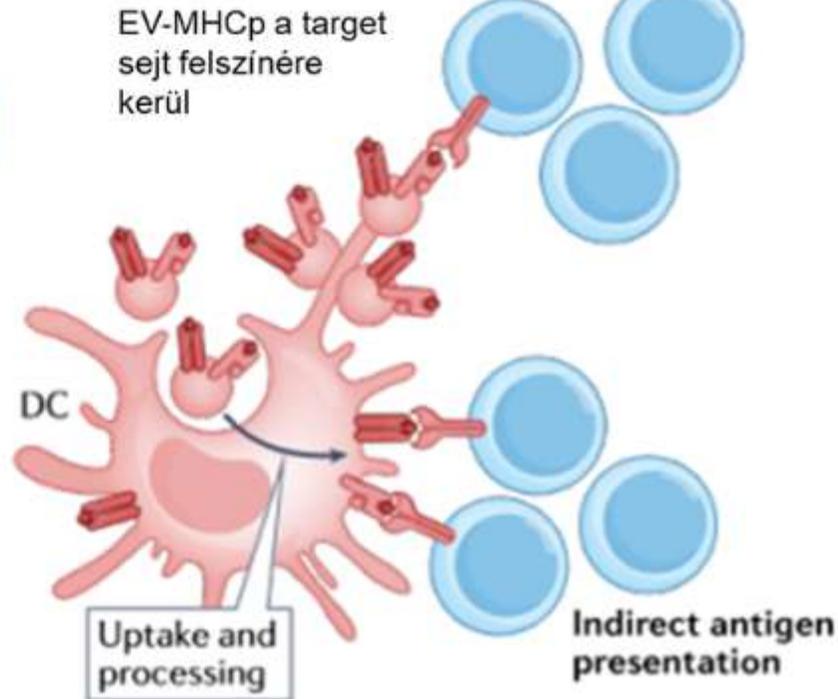


# Extracelluláris vezikulák szerepe az antigén prezentációban

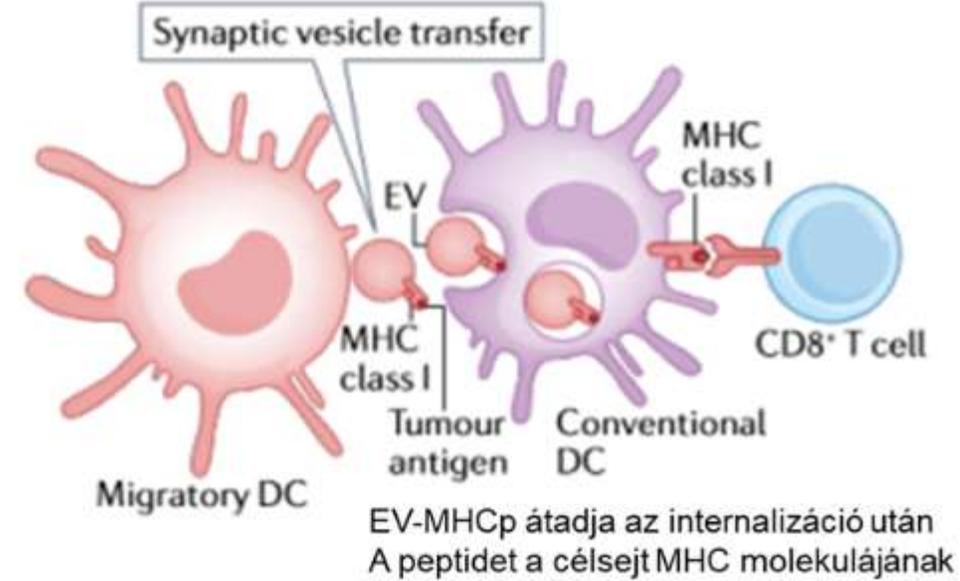
**a Direct antigen presentation**



**Semi-direct antigen presentation (cross-dressing)**



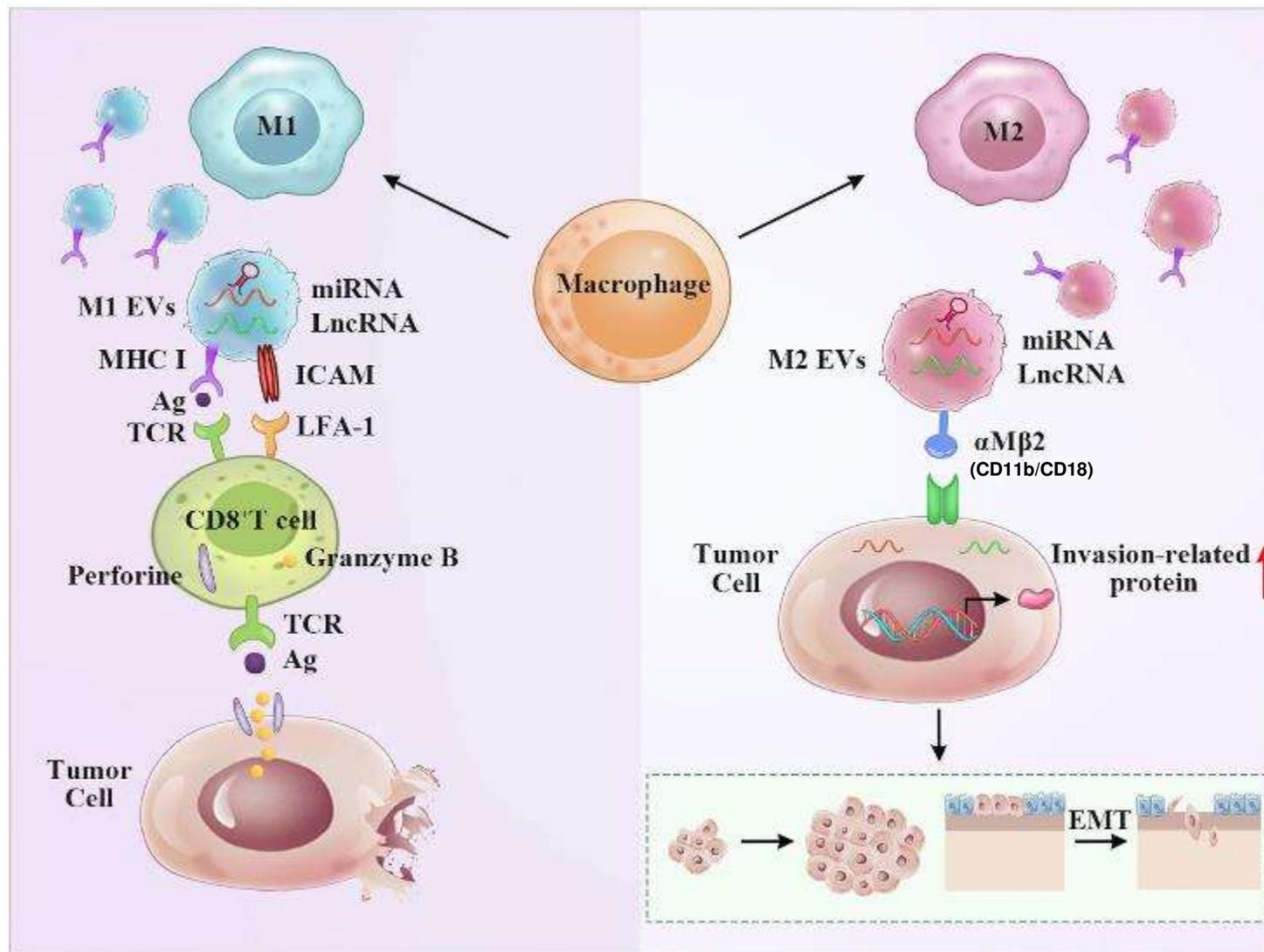
**b Cross-presentation**



Buzas EI. Nat Rev Immunol. 2023 Apr;23(4):236-250. doi: 10.1038/s41577-022-00763-8.

# Makrofág eredetű extracelluláris vezikulák

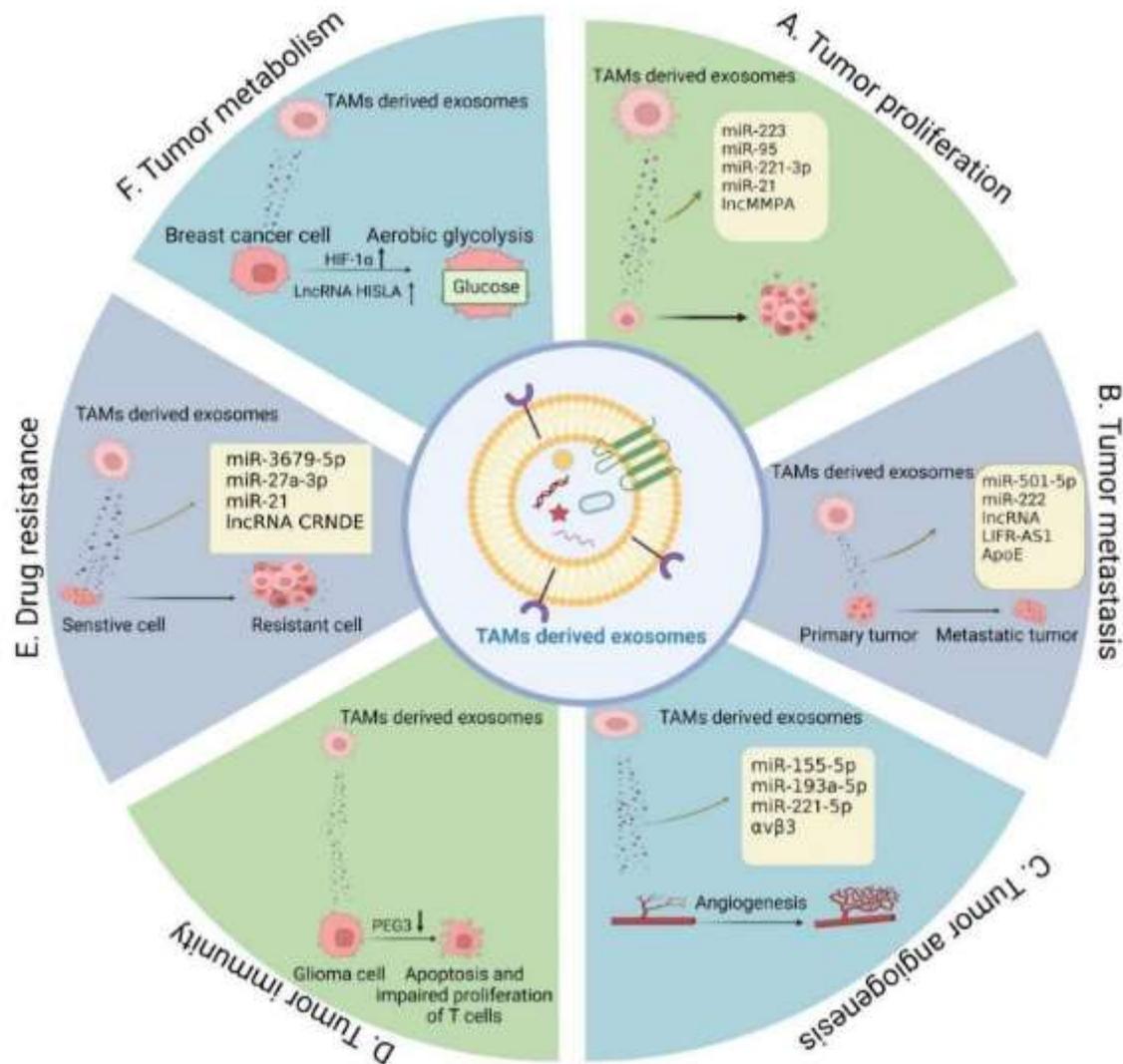
**M1 Mf EV:**  
MHC és ICAM  
expresszió, miRNS és  
LncRNS tartalom  
↓  
T-sejt-aktiváció  
↓  
tumorsejt apoptózis



**M2 Mf EV:**  
miRNS és LncRNS  
tartalom  
↓  
Inváziót elősegítő  
fehérjék expressziója  
↓  
Tumor metasztázis

# Makrofág eredetű EV-k szerepe a tumor mikrokozonyezetben

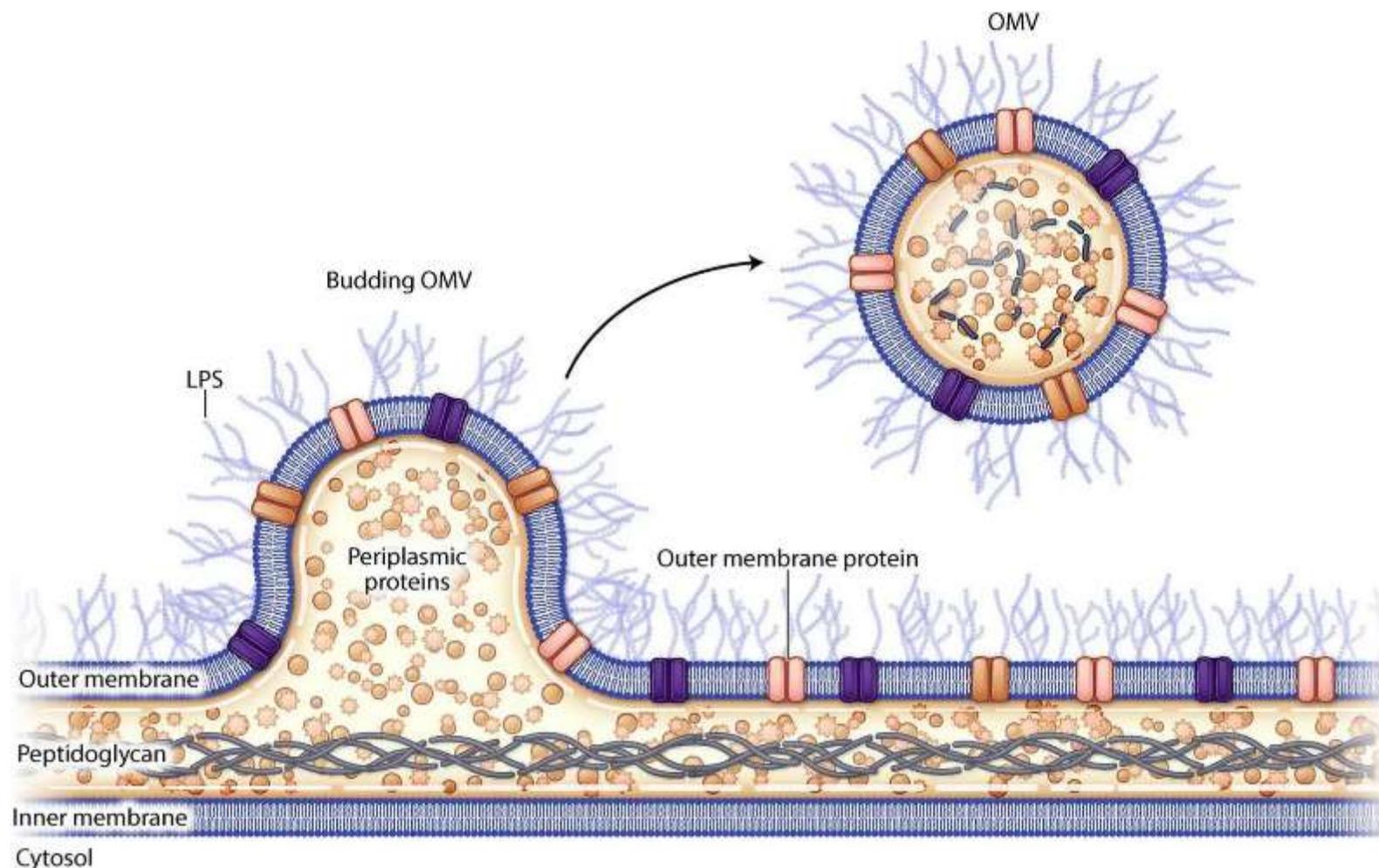
A TAM sejtek különféle citokineket és gyulladásoos mediátorokat termelnek, amelyek választanak ki, amelyek elősegítik a tumor metasztázist, az angiogenezist és az immunrendszer kijátszását.



## TAM: tumorhoz kapcsolódó makrofágok

- Nagy számban vannak jelen a szolid tumorok mikrokozonyezetében.
- Jelentős szerepet játszanak a daganat mikrokozonyezetében zajló gyulladásoos folyamatokban.
- A legtöbb bizonyíték arra utal, hogy a daganat növekedést elősegítő fenotípussal rendelkeznek (tumorsejt-proliferáció, tumorangiogenezis, invázió és metasztázis képződés, immunszuppresszió, gyógyszerrezisztencia).

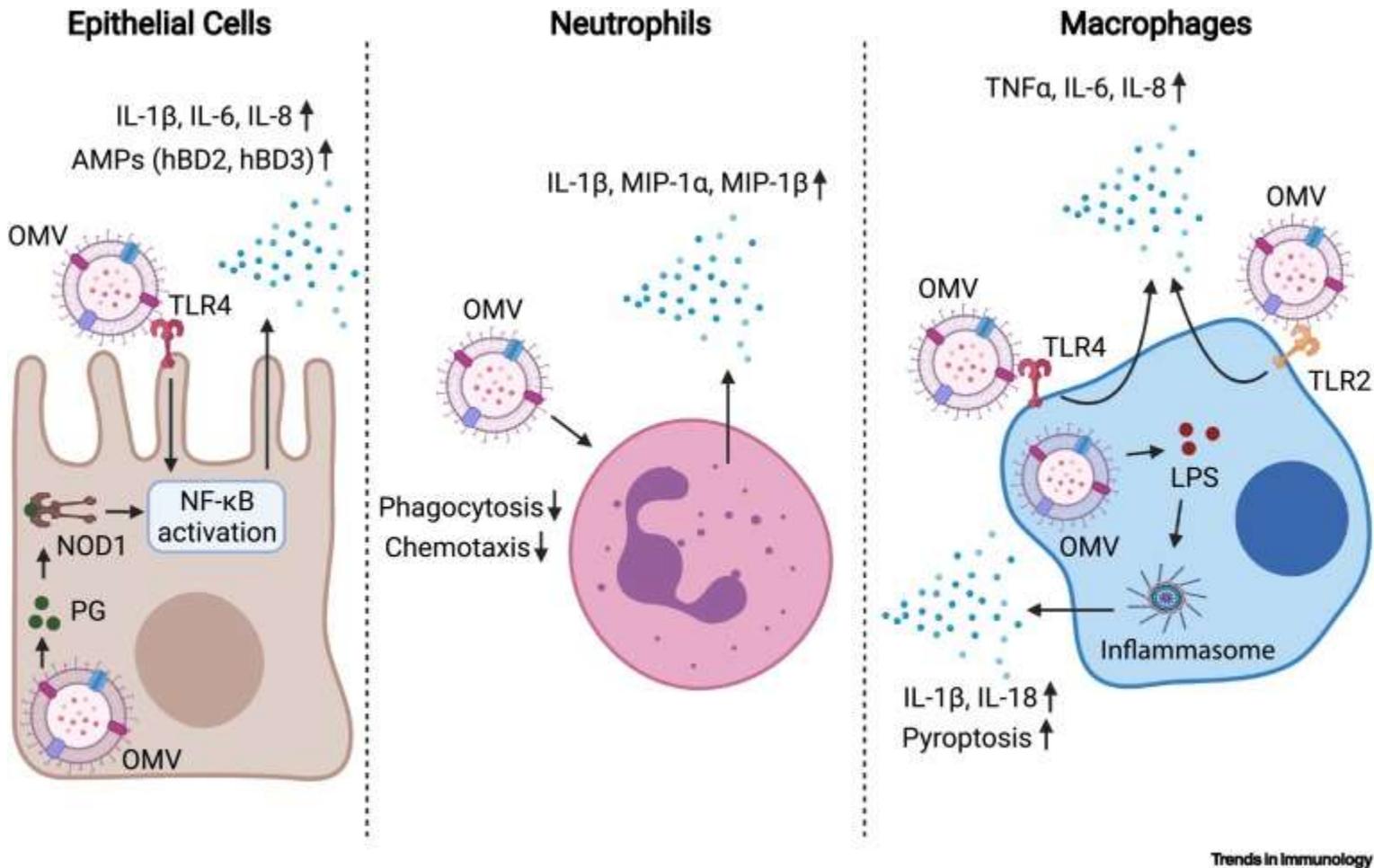
## Bakteriális extracelluláris vezikulák



Az OMV-k fontos szerepet játszanak a bakteriális patogenezisben, a sejtek közötti kommunikációban, a horizontális génátvitelben, a quorum sensingben és a baktériumok életképességének fenntartásában.



# Az immunrendszer aktivációja mikrobiális vezikulák útján



OMV (outer membrane vesicle)  
↓  
DAMP expresszió (LPS, peptidoglikán, membránfehérjék, bakteriális DNS)  
↓  
PRR felismerés (pl. LPS-TLR4; peptidoglikán-TLR2)  
↓  
NF-κB aktiváció  
↓  
gyulladásos citokinek ( IL-1β, IL-6, IL-8) és antimikrobiális peptidek (pl.β-defenzinek) felszabadulása

# Az immunrendszer aktivációja mikrobiális vezikulák útján

> J Biol Chem. 2022 Oct;298(10):102483. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102483. Epub 2022 Sep 13.

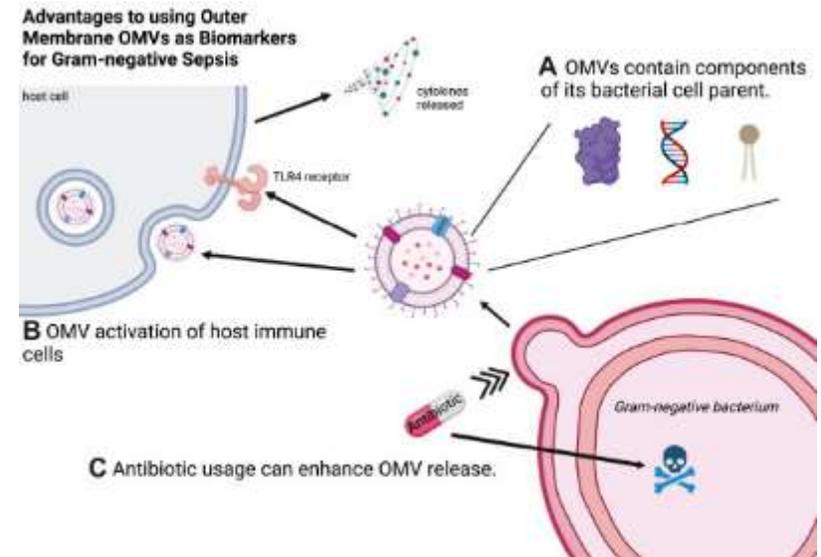
## Outer membrane vesicles as molecular biomarkers for Gram-negative sepsis: Taking advantage of nature's perfect packages

Lea Vacca Michel <sup>1</sup>, Thomas Gaborski <sup>2</sup>

Affiliations + expand

PMID: 36108741 PMCID: PMC9576880 DOI: [10.1016/j.jbc.2022.102483](https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102483)

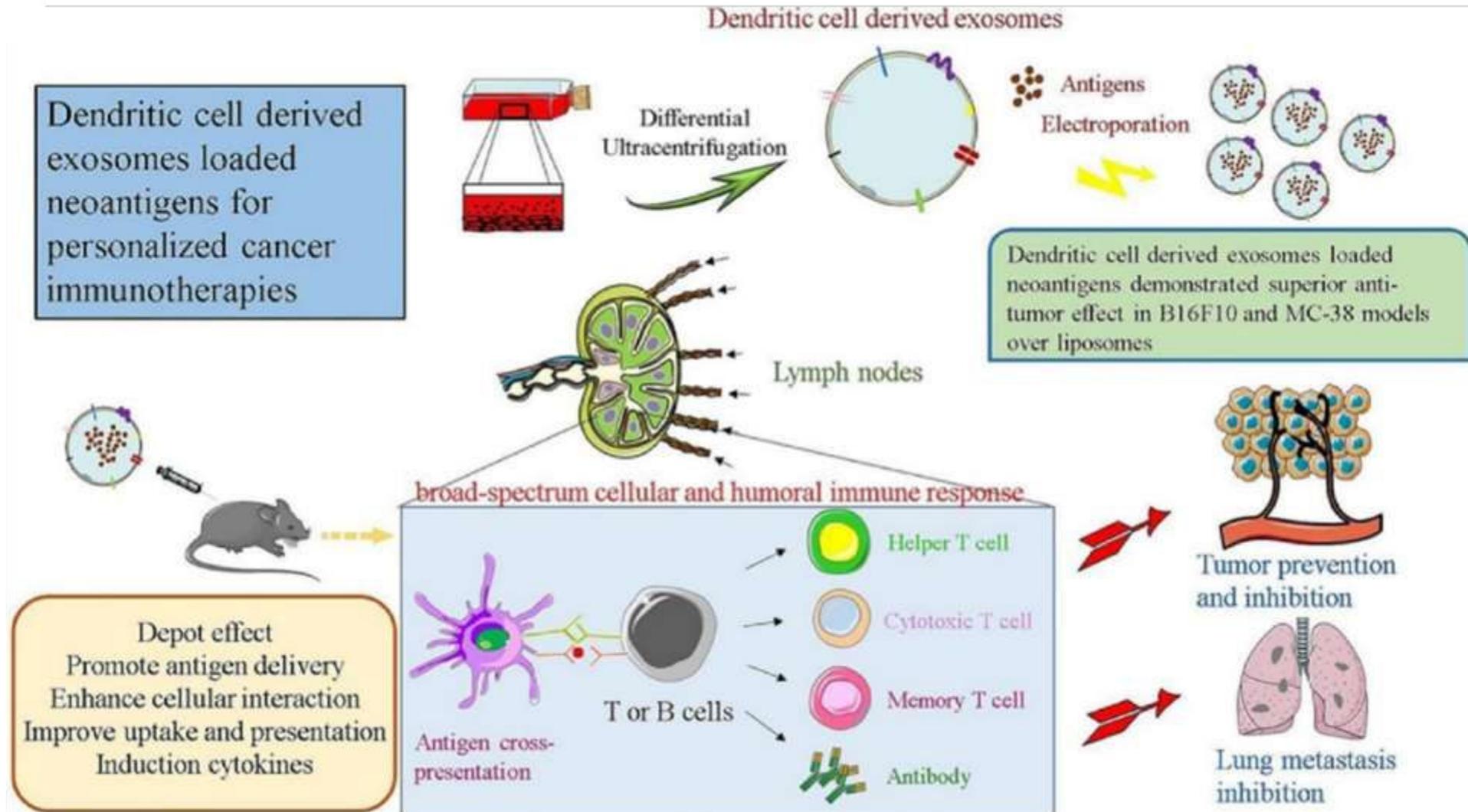
Egy 2018-ban végzett retrospektív tanulmány 2 566 689 szepszis esetet vizsgált a Premier Healthcare Database adatbázisból, amely az Egyesült Államok magán- és egyetemi kórházaiban kezelt fekvőbetegek mintegy 20%-ának adatait tartalmazta. A tanulmány megállapította, hogy a szepszis esetek többségében (70,1%) nem lehetett meghatározni a konkrét kórokozót, valószínűleg az agresszív antibiotikumok vagy a lokalizált fertőzések miatt.



Az OMV detektálás előnyei:

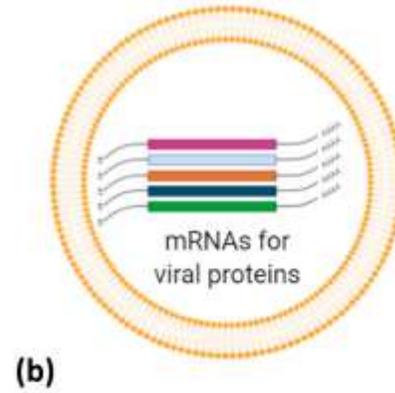
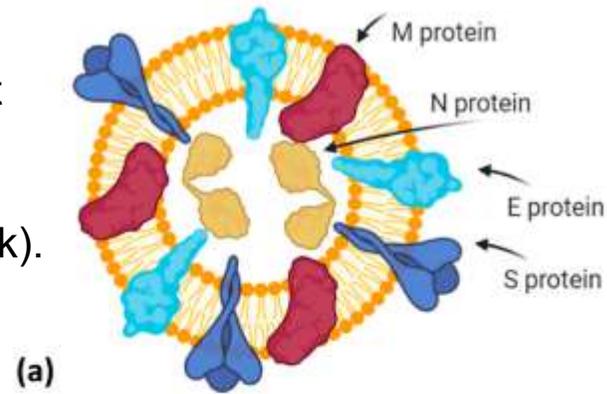
- 1) Képesek gyulladást kiváltani, és valószínűleg szerepet játszanak a bakteriális szepszisben.
- 2) Expresszálják a kórokozóra jellemző antigéneket (kórokozó azonosítás).
- 3) Ellenállóak az antibiotikumokkal szemben, ezért a terápia megkezdése után is kimutathatók.

# Extracelluláris vezikulák a gyógyászatban: egy lehetőség a daganat kezelésére

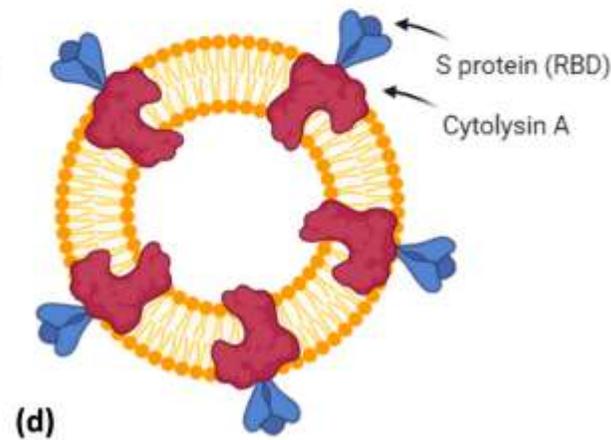
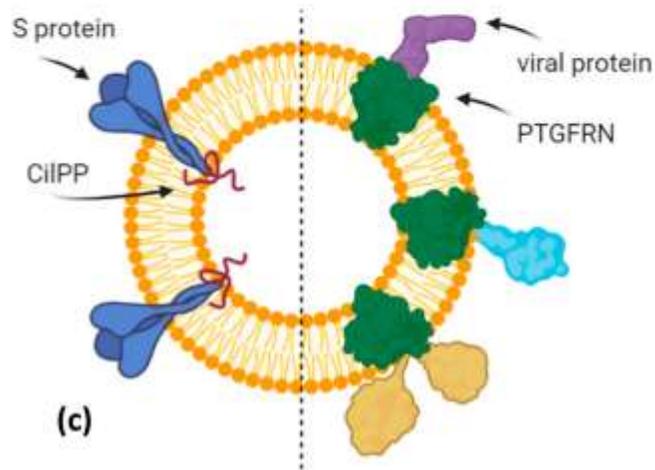


# EV-alapú vakcinastratégiák

Vírus antigénnel transzfektált sejtekből származó EV-k (A vírusantigéneket natív konformációjukban hordozzák).



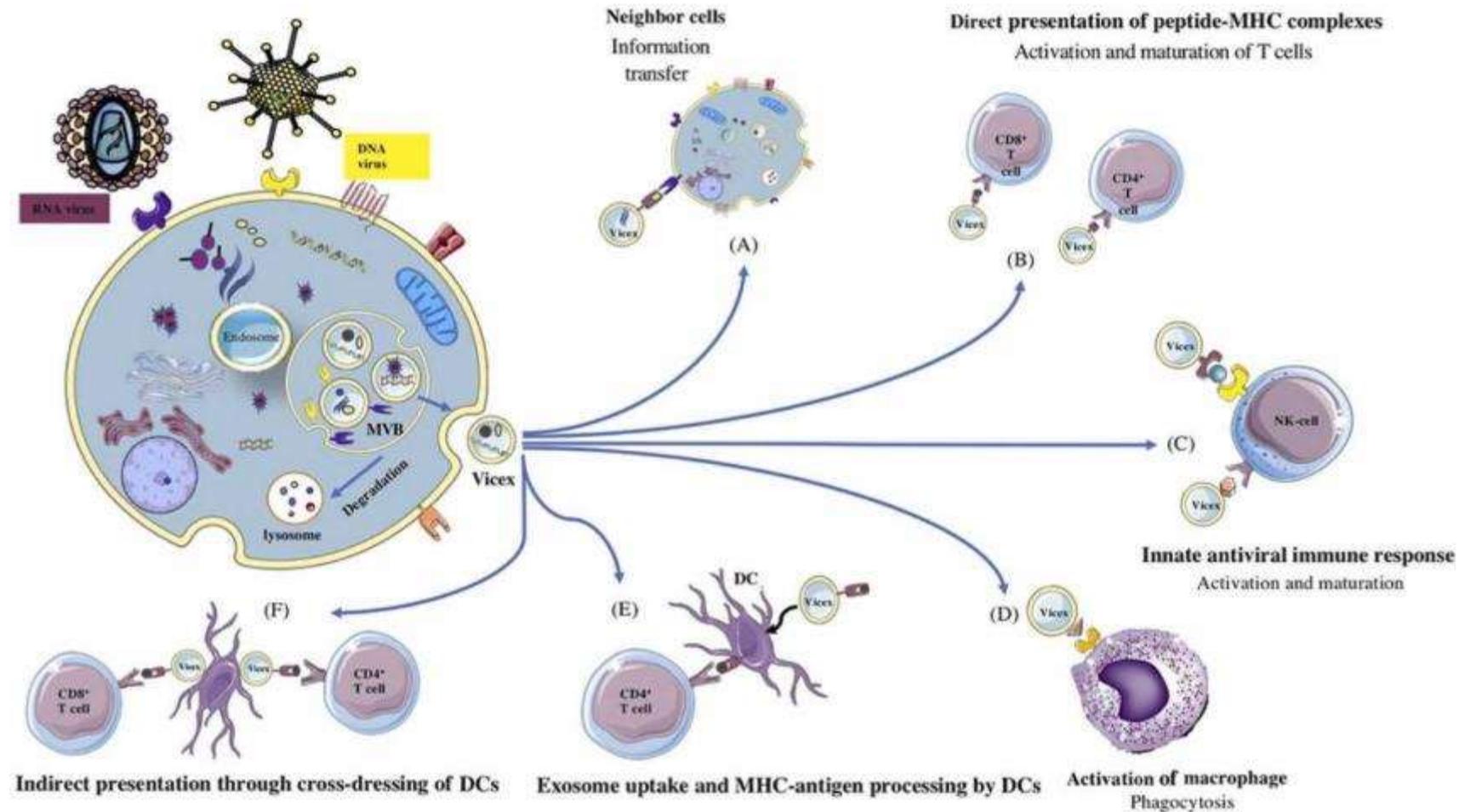
Vírus antigén mRNS-sel feltöltött EV. Az MHC I és II molekulákon való jobb megjelenítés érdekében Lamp1 fehérjébe vannak beillesztve a vírus antigének.



Többféle vírusfehérjét megjelenítő EV-k.

Módosított bakteriális EV, amely megjeleníti a vírusfehérjét.

# Extracelluláris vezikulák a gyógyászatban: EV és vakcináció



Köszönöm a megtisztelő figyelmüket!

