

Сравнение ангиогенного потенциала экзосом плазмы крови и суммарных экзосом больных раком молочной железы

Научный руководитель – Тамкович Светлана Николаевна

Клемешова Дарья Ивановна

Студент (специалист)

Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения

РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: minoko@mail.ru

Актуальность и цель исследования. Ангиогенез - один из ключевых факторов развития опухоли, как показали клинические исследования динамики опухолевой прогрессии больных раком молочной железы. Ангиогенез контролируется множеством ростовых факторов и сигнальных молекул, переносчиками которых могут быть в том числе внеклеточные везикулы — экзосомы [1, 2]. Ангиогенная активность отмечена у экзосом плазмы крови [3], но ангиогенный потенциал другой фракции - суммарной - изучен недостаточно. Целью являлось исследование ангиогенной активности экзосом, циркулирующих в плазме и экзосом, связанных с форменными элементами, в крови больных раком молочной железы.

Материалы и методы. Везикулы крови выделяли из венозной крови клинически здоровых женщин и первичных больных раком молочной железы ($T_{1-2}N_0M_0$) путем ультрафильтрации через поры диаметром 100 нм и ультрацентрифугированием 100 000g в течение 1.5 ч при 4°C с последующей идентификацией экзосом методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) и проточной цитофлуориметрии на поверхностные тетраспанины CD9, CD24, CD63, CD81. Размер и количество везикул определяли при помощи анализатора частиц Malvern NS-300. Затем оценивали ангиогенную активность везикул с помощью методики образования капилляроподобных структур (КПС) в эндотелиальных клетках пупочной вены человека (HUVEC) на Матригеле (Growth factor reduced Matrigel, BD BioSciences). Формирование КПС оценивали посредством фотографирования лунок с последующей оценкой их длины на конфокальном микроскопе Zeiss (модель LSM 5 PASCAL (Jena, Germany)). Расчёт длины полученных КПС проводили с использованием ПО ImageJ.

Результаты и выводы. Было показано, что полученные препараты микровезикул из плазмы крови здоровых доноров и больных РМЖ содержат экзосомы размером 96 ± 16 нм и 128 ± 7 нм, соответственно, суммарные везикулы крови (везикулы плазмы + суммарные везикулы) — 130 ± 5 нм и 129 ± 12 нм, соответственно. Проточная цитофлуориметрия подтвердила экзосомальную природу везикул. Добавление по 4×10^9 экзосом из плазмы и суммарных экзосом крови больных РМЖ к 2×10^4 клеток HUVEC приводит к стимуляции формирования КПС: их суммарная длина по сравнению с контролем возрастает на 83% и 69%, соответственно. Полученные результаты косвенно указывают, что экзосомы, ассоциированные с ФЭК вовлечены в стимуляцию опухолевого ангиогенеза на начальной стадии заболевания.

Благодарю за соавторство Сомова А.К., аспиранта НИИ ХБФМ СО РАН, и Проскуру К.В., аспирантку ФФМ МГУ!

Источники и литература

- 1) Hendrix A., Hume A.N. 2011. Exosome signaling in mammary gland development and cancer. Int. J. Dev. Biol. 55 (7–9), 879–887.

- 2) Janowska-Wieczorek A., Wysoczynski M., Kijowski J., Marquez-Curtis L., Machalinski B., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. // Int. J. Cancer. 2005. V. 113. P. 752-760.
- 3) Sheldon H., Heikamp E., Turley H., Dragovic R., Thomas P., Oon C.E., Leek R., Edelmann M., Kessler B., Sainson R.C. New mechanism for Notch signaling to endothelium at a distance by Delta-like 4 incorporation into exosomes. // Blood. 2010. V. 116. P. 2385- 2394.