

Ингибирование систем протеостаза снижает жизнеспособность опухолевых клеток в состоянии покоя, вызванном гипоксией

Научный руководитель – Алхасан Башар

Конанова Мария Андреевна

Студент (магистр)

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: konanovamm@gmail.com

К основным препятствиям на пути полного избавления пациента от онкологии относят возникновение метастазов и рецидивов, обусловленных гетерогенностью опухоли. Влияние стрессовых факторов, таких как химиотерапия, гипоксия и голодание, приводит к формированию субпопуляции покоящихся (дормантных) опухолевых клеток, обладающих стволоподобными свойствами и повышенной способностью к миграции, что способствует распространению по организму и образованию метастазов. Таким образом, изучение лежащих в основе дормантности молекулярных механизмов выступает актуальной задачей молекулярной онкологии.

Поддержание протеостаза в клетке является неотъемлемым условием ее выживания, в связи с этим цель данной работы – изучение влияния ингибиторов систем протеостаза на покоящиеся опухолевые клетки немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) человека А549 в условиях гипоксии.

Введение клеток в дормантное состояние осуществляли путем совместной инкубации клеточной культуры с гипоксическим агентом хлоридом кобальта (II) CoCl_2 в диапазоне концентраций 300–500 мкМ в течение 6 дней. Методом проточной цитометрии был определен арест клеточного цикла на 3–6 день инкубации: 79–80% клеток находились в G0/G1-фазе. Окрашивания трипановым синим и флуоресцентным красителем PKH26 подтвердили остановку пролиферации. Для клеток в состоянии покоя также было характерно резкое увеличение экспрессии гена CDKN1B, кодирующего p27, в 94 раза.

Экспрессия маркеров стволовости (SOX2, NANOG) и эпителиально-мезенхимального перехода (ZEB1, TWIST1, VIM) на уровне мРНК значительно повышалась при гипоксии, возвращаясь к первоначальному уровню после снятия CoCl_2 . Экспрессия маркеров аутофагии (ATG5, LC3 I/II, Beclin1), Hsp70 на уровне мРНК и белка также повышалась в дормантных клетках, что демонстрирует гиперактивацию систем протеостаза.

Оценка жизнеспособности с помощью МТТ-теста продемонстрировала пониженную чувствительность дормантных клеток к химиотерапевтическому препарату этопозиду и повышенную чувствительность к ингибиторам систем протеостаза. В данном исследовании применяли ингибитор иницирующего комплекса аутофагии ULK1 (MRT68921), высокоселективный ингибитор Hsp70 (JG-98), ингибитор HSF1 (CI-43), а также ингибитор убиквитин-зависимой протеасомы – бортезомиб. Перечисленные соединения продемонстрировали значительное снижение жизнеспособности дормантных клеток в условиях гипоксии, что было определено и подтверждено методами МТТ-теста, проточной цитометрии и клоногенного анализа. Следует отметить, что данные ингибиторы проявляли селективность по отношению к покоящимся клеткам в сравнении с контрольными опухолевыми клетками.

Таким образом, дормантные клетки НМРЛ А549 в условиях гипоксии демонстрируют стволоподобные свойства, повышенную способность к миграции и устойчивость к классическому химиотерапевтическому препарату этопозиду, однако проявляют повышенную чувствительность к ингибиторам систем протеостаза, что обосновывает перспективность таргетного воздействия для предотвращения метастазирования.