

Сигнальный путь E2F1/p73 определяет чувствительность ЦМВ-инфицированных клеток лейкемии к ДОКС и зависит от активности киназы mTOR

Научный руководитель – Куш Алла Александровна

Юрлов К.И.¹, Чернорыж Я.Ю.²

1 - Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Институт вирусологии им.Д.И.Ивановского, Москва, Россия, *E-mail: kir34292@yandex.ru*; 2 - Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Институт вирусологии им.Д.И.Ивановского, Москва, Россия, *E-mail: revengeful_w@mail.ru*

Введение. Цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция является одной из наиболее частых и опасных оппортунистических инфекций у больных со злокачественными опухолями, в том числе гематологического происхождения. Ранее нами было установлено, что инфицированные ЦМВ клетки лейкемии ТНР-1 приобретают устойчивость к действию противоопухолевого антибиотика доксорубина (ДОКС), как при транскрипционно активной, так и при латентной ЦМВ инфекции. В развитии канцерогенеза участвует белок p73, экспрессия которого регулируется транскрипционным фактором E2F1. Кроме того, за последнее время получены данные о том, что молекулярный путь mTOR играет важнейшую роль в судьбе опухолевых клеток, и ингибирование киназ mTOR рассматривается как перспективный подход к терапии опухолей.

Цель работы: определить участие E2F1/p73 в формировании устойчивости ЦМВ-инфицированных опухолевых клеток к химиотерапии в условиях ингибирования молекулярного пути mTOR.

Материалы и методы. Клетки лейкемии ТНР-1 культивировали в среде RPMI с 10% эмбриональной сыворотки и инфицировали ЦМВ с ИМ 5 БОЕ/кл. Через 4 часа (активная инфекция) и через 14 суток (латентная инфекция) после заражения клетки обрабатывали 5 мкг/мл ДОКС и совместно ДОКС с рапамицином (8,5 мкг/мл), либо с Торином2 (0,05 мкг/мл). Через 24 часа после внесения соединений проводили подсчет жизнеспособных клеток методом МТТ, в лизатах клеток выявляли содержание E2F1 и изоформ p73 (TAp73 и dNp73) методом иммуноблотинга.

Результаты. Обработка ДОКС клеток ТНР-1 при активной и при латентной ЦМВ-инфекции приводила к увеличению содержания E2F1, в 2,2 и в 1,5 раза соответственно. При этом соотношение укороченной антиапоптозной (dNp73) и полноразмерной проапоптозной (TAp73) изоформ было сдвинуто в пользу dNp73. Повышение уровня E2F1 и доминирование антиапоптозной изоформы белка p73 сопровождалось сохранением жизнеспособности более 60% клеток.

В присутствии ингибиторов киназы mTOR экспрессия E2F1 в клетках ТНР-1 снижалась с 1,1 до 0,6, как при активной, так и латентной инфекциях, а внесение ДОКС не приводило к достоверному изменению содержания E2F1 в зараженных клетках. При этом обработка ДОКС вызвала изменение соотношения TAp73 к dNp73 в пользу проапоптозной изоформы. Соотношение TAp73/dNp73 составило не менее 1,5, что сопровождалось гибелью значительной части (75%) клеток.

Заключение. Устойчивость к ДОКС клеток ТНР-1 при активной и при латентной ЦМВ инфекции ассоциируется с высоким содержанием транскрипционного фактора E2F1, и преимущественной экспрессией укороченной изоформы белка p73. Ингибирование киназы mTOR приводит к снижению уровня E2F1, к сдвигу соотношения TAp73/dNp73

в пользу TAr73 и сопровождается восстановлением чувствительности инфицированных клеток к ДОКС. Поддержано грантом РФФИ № 19-04-01218.