

Роль внеклеточных везикул в индукции опухолевого фенотипа в модели гетерогенной опухоли рака предстательной железы

Научный руководитель – Поташникова Дарья Марковна

Некрасова Анастасия Эдуардовна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

E-mail: anastasianekrasova77289@gmail.com

Рак предстательной железы (РПЖ) – наиболее распространенное злокачественное новообразование у мужчин с уровнем летальности более 39% от всех случаев заболевания. В последнее время большой интерес уделяется роли внеклеточных везикул (EVs) в процессах опухолевой трансформации клеток предстательной железы (ПЖ), прогрессии и метастазирования РПЖ. Так, EVs, выделяемые клетками первичной опухоли, являются медиаторами образования пре-метастатической ниши, и могут индуцировать трансформацию нормальных клеток, то есть изменение их фенотипа и экспрессии основных биомаркерных генов, связанных с опухолевой трансформацией [1]. Целью данного проекта является описание модельной линии агрессивного РПЖ – продуцента EVs, в стандартных и нестандартных условиях культивирования, а также ее сравнение с линией нормальных эпителиальных клеток ПЖ для создания модели сокультивирования.

В качестве клеток-продуцентов EVs была выбрана линия PC-3, полученная из костных метастазов РПЖ, в качестве модели нормальных клеток эпителия ПЖ – линия RWPE-1 – эпителиальные клетки неопухолевого происхождения, иммортализованные вирусом папилломы человека 18. Для создания корректной модели сокультивирования клетки PC-3 были переведены со стандартных условий культивирования (DMEM/F-12 с 10% FBS) на бессывороточную среду AIM V. Клетки оценивали по морфологии, иммунофенотипу, распределению по фазам клеточного цикла и экспрессии биомаркеров РПЖ. Паттерн продукции EVs клетками PC-3 на средах DMEM/F-12 и AIM V был оценен с помощью NTA.

Анализ экспрессии выбранных биомаркерных генов *MYO1CPan*, *AMACR*, *FLNC*, *CK5*, *CCND2*, *AR 3,5* не показал достоверных отличий при переводе клеток PC-3 на среду AIM V. Анализ морфологии клеток выявил достоверное увеличение форм-фактора PC-3 при переводе на среду AIM V.

Клетки-продуценты PC-3 продуцируют EVs со следующими характеристиками: общая концентрация EVs $3,681 \cdot 10^{10}$ частиц/мл, концентрация EVs размерами от 150 до 500 мкм $0,663 \cdot 10^{10}$ частиц/мл, средний диаметр EVs – 94 нм.

Клетки PC-3 имеют достоверно меньшую площадь и больший форм-фактор по сравнению с RWPE-1 при культивировании на AIM V.

Анализ поверхностного иммунофенотипа клеток показал увеличение представленности маркеров CD24, CD29, CD38 и CD54 в 10,8, 7,6, 11,1 и 41,5 раза соответственно для клеток PC-3 по сравнению с клетками RWPE-1.

Так, в ходе работы были обнаружены достоверные морфологические изменения в клетках PC-3 при переводе на бессывороточную среду и описан паттерн продукции EVs клетками PC-3. Было показано, что нормальные и опухолевые клетки ПЖ имеют достоверные морфологические отличия, а также различный паттерн экспрессии поверхностных маркеров. Полученные результаты могут иметь ценность при разработке моделей сокультивирования нормальных и опухолевых клеток эпителия ПЖ.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

Источники и литература

- 1) Hoshino, A., et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis // Nature, 527(7578), 329–335. 2015.