

Характеристика dormantных клеток карциномы легких в условиях гипоксии

Научный руководитель – Гужова Ирина Владимировна

Конанова Мария Андреевна

Студент (магистр)

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: konanovamm@gmail.com

Значимыми проблемами при лечении онкологических заболеваний являются метастазирование и рецидивирование, которые могут быть вызваны dormantными опухолевыми клетками. Эти клетки находятся в состоянии покоя длительное время и устойчивы к стрессовым воздействиям и противораковой терапии, в дальнейшем восстанавливая пролиферативную активность и провоцируя рецидив.

Цель данной работы – изучить изменения в молекулярных механизмах, происходящие при переходе опухолевых клеток в dormantное состояние и последующей репопуляции.

В исследовании использовали клеточную линию карциномы легких человека A549. Клетки вводили в dormantное состояние воздействием хлоридом кобальта (II), имитируя воздействие гипоксии, после чего снимали CoCl_2 и продолжали культивировать клетки для обнаружения их способности к репопуляции методом образования колоний. Фазы клеточного цикла определяли с помощью проточной цитометрии путем окрашивания йодистым пропидием. Также, оценивали изменение экспрессии генов на уровне РНК методом ОТ-ПЦР РВ и на уровне белка методом иммуноблоттинга. Чувствительность контрольных и dormantных клеток к противоопухолевому препарату этопозиду (5 мкМ) определяли с использованием МТТ-теста.

В результате было обнаружено, что под воздействием CoCl_2 на 3-6 день у 64% оставшихся живых клеток происходила остановка клеточного цикла: доля клеток, находящихся в G0/G1-фазе, возросла с 57 до 79%. Для клеток в состоянии покоя также было характерно резкое увеличение экспрессии гена *CDKN1B*, кодирующего p27, в 94 раза. Также было выявлено снижение экспрессии гена *CK8* в 1,9 раз и повышение экспрессии *VIM* и *ZEB1* в 6 и 7,5 раз соответственно, что вместе говорит о приобретении dormantными клетками мезенхимального фенотипа и повышенной миграционной способности. Для покоящихся клеток также характерно увеличение экспрессии генов-маркеров стволовости (*NANOG* и *SOX2*).

Dormantные клетки оказались более устойчивыми к этопозиду, под воздействием которого погибло 48% контрольных клеток, при этом практически не повлиял на выживаемость dormantных клеток. Также было обнаружено повышение экспрессии генов, связанных с аутофагией - *LC3*, *Beclin1*, *ULK1* и *p62*, а также возросла экспрессия *ATG5* и *LC3* I/II на белковом уровне, что может опосредовать устойчивость к терапии.

Описанные изменения являются временными, так как при прекращении воздействия CoCl_2 происходило восстановление пролиферативной активности, в результате чего dormantные клетки выходили в репопуляцию с образованием колоний, а экспрессия вышеперечисленных генов возвращалась к первоначальному состоянию.

Таким образом, при переходе в dormantное состояние в опухолевых клетках происходят обратимые изменения, способствующие их выживанию в стрессовых условиях.

Работа осуществлялась при поддержке гранта РФФИ №19-74-20161-П.