

УДК: 576.36:615.3

<https://doi.org/10.21603/-I-IC-147>

МЕХАНИЗМЫ ВЫХОДА ИЗ РЕПЛИКАТИВНОГО СТАРЕНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИОПРЕПАРАТОВ

И.А. Цыденова*, М.М. Цыганов*, М.К. Ибрагимова*, А.А. Нуштаева**, Н.В. Литвяков*

*Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

**Институт химической биологии и фундаментальной медицины,
г. Новосибирск, Россия

Аннотация.

При раке молочной железы у 25% больных опухолевые клетки после проведения неоадьювантной химиотерапии (НАХТ) выходят из состояния репликативного старения и образуют макрометастазы. У больных раком молочной железы было показано, что выход из репликативного старения с метастазированием наблюдается только у тех пациентов, в опухоли которых эктопически активирован WNT-сигналинг за счет амплификаций генов активаторов и делеций негативных регуляторов этого сигнального пути.

Цель: в прямом эксперименте на клеточных культурах, различающихся по эктопической активации WNT-сигналинга за счет CNA (Copy Number Aberration) генов WNT-сигналинга, изучить способность опухолевых клеток к выходу из репликативного старения после воздействия химиопрепаратов.

Ключевые слова: клеточное старение, репликативное старение, дедифференцировка, цисплатин

Репликативное старение опухолевых клеток после проведения химиотерапии является известным феноменом, который заключается в том, что опухолевые клетки (как первичной опухоли, так и микрометастазов) перестают делиться, в них угнетается синтез РНК и, в этот период, они либо восстанавливают свой пролиферативный потенциал, либо погибают. Опухоли сильно различаются по способности выходить из состояния репликативного старения. У больных раком молочной железы было показано, что выход из репликативного старения с метастазированием наблюдается только у пациентов, в опухоли которых эктопически активирован WNT-сигналинг, за счет амплификаций генов активаторов и делеций негативных регуляторов этого сигнального пути. Всего нами идентифицировано 15 генов активаторов WNT-сигналинга (*WNT2B*, *SKP1*, *TCF7*, *PPP2CA*, *WNT8A*, *MAPK9*, *CCND3*, *PPP2R5D*, *WNT8B*, *CCND1*, *FZD2*, *WNT3*, *FZD9*, *WNT3*, *WNT9B*) и 7 генов негативных регуляторов (*GSK3B*, *APC*, *CSNK2B*, *SFRP5*, *BTRC*, *TCF7L2*, *CSNK2A2*), амплификации и делеции которых (соответственно) должны стимулировать WNT-сигнальный путь [1].

Материалы и методы. Использовали две линии опухолевых клеток: T47D с высоким уровнем и линию MCF7 с нормальным уровнем активации WNT-сигналинга. Выделение дифференцированных клеточных популяций CD44⁻/CD24⁺ проводили с помощью сортера Sony SH800S (Sony Biotechnology, США) При помощи IL6 индуцировали дедифференцировку до опухолевых стволовых клеток (ОСК). Для ингибирования WNT-сигналинга использовали ингибитор ICG-001 (1 μM). Динамику роста культуры и формирование сфероидов фиксировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse Ti-S (Nikon, Япония). Изображения анализировали с помощью программного обеспечения NIS-Elements. Определяли клеточность культур, ареал закрытия дна лунки и наличие маммосфер. Полнотранскриптомный анализ осуществляли на платформе Clarius S Assay.

Результаты. После воздействия цисплатина на субпопуляции EpCAM+CD44-CD24-/+ клеток опухолевых линий Vt474 и T47D динамика клеточности культур существенным образом различается. Клеточность Vt474 снижается на протяжении всего наблюдения, и на 21 сутки культивирования оказываются мертвыми практически все клетки. В то время как в контроле, без цисплатина, клеточность увеличивалась и образовывались ОСК, о чем свидетельствовало наличие сфероидов. Эти данные показывают, что клетки Vt474 с нормальным уровнем WNT-сигналинга не выходят из репликативного старения после воздействия цисплатина. Клетки линии T47D с эктопической активацией WNT-сигналинга, после воздействия цисплатина выходили на 14 сутки из репликативного старения и к 21 суткам клеточность культур существенно возрастала и образовывались маммосферы. Совместное воздействие цисплатина и ингибитора приводит к тому, что на 21 сутки практически все клетки этой линии погибали, в то время как один ингибитор не препятствовал пролиферации и образованию маммосфер. Действие ингибитора WNT ICG-001 подтверждалось транскриптомным анализом, и экспрессия 122/170 генов WNT-сигналинга оказывается сниженной более чем в 2 раза по сравнению с клетками без воздействия ICG-001.

Выводы. Проведенные нами культуральные исследования механистически доказывают, что выход из репликативного старения опухолевых клеток обусловлен эктопической активацией WNT-сигналинга за счет амплификаций активаторов и/или делеций негативных регуляторов генов WNT-сигналинга.

Список литературы

1. Amplifications of stemness genes and the capacity of breast tumors for metastasis // *Oncotarget*. 2020. 11. pp.1988-2001

Работа поддержана Грантом РФФ № 21-15-00243

MECHANISMS OF ESCAPE FROM REPLICATIVE SENESCENCE OF TUMOUR CELLS AFTER EXPOSURE TO CHEMOTHERAPY

I.A. Tsydenova*, M.M. Tsyganov*, M.K. Ibragimova*, A.A. Nushtaeva**, N.V. Litvyakov*

*Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

**Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

Abstract

In 25% of patients with breast cancer, tumor cells after neoadjuvant chemotherapy (NAHT) leave the state of replicative aging and form macrometastases. In patients with breast cancer, it was shown that the exit from replicative aging with metastasis is observed only in those patients in whose tumor WNT signaling is ectopically activated due to amplification of activator genes and deletions of negative regulators of this signaling pathway.

Purpose: in a direct experiment on cell cultures differing in ectopic activation of WNT signaling due to CNA (Copy Number Aberration) WNT signaling genes, to study the ability of tumor cells to exit replicative senescence after exposure to chemotherapy drugs.

Keywords: cellular aging, replicative aging, dedifferentiation, cisplatin

References

1. Amplifications of stemness genes and the capacity of breast tumors for metastasis // *Oncotarget*. 2020. 11. pp.1988-2001