

УДК 577.21

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА S100A4 ВЛИЯЕТ НА МИГРАЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е. А. Духанина, Т. Н. Порцева*, А. П. Котнова,
Е. В. Панкратова, член-корреспондент РАН С. Г. Георгиева

Поступило 29.10.2018 г.

Снижение экспрессии маркера метастазирования белка S100A4 в триплетотрицательных клетках рака молочной железы (РМЖ) MDA-MB-231 приводит к снижению миграционной способности клеток и повышает чувствительность модифицированных клеток к терапии доцетакселом. Клетки, способные к миграции, отличаются от неподвижных клеток по содержанию белка S100A4 внутри клетки, и это отличие сохраняется после обработки клеток агентами, понижающими внутриклеточный уровень S100A4. Присутствие экзогенного белка S100A4 в среде культивирования снижает содержание белка в клетках РМЖ. Результаты проведённых исследований свидетельствуют о том, что способность клеток РМЖ к миграции зависит от концентрации белка S100A4 внутри клетки.

Ключевые слова: триплетотрицательные клетки РМЖ, миграционная активность, S100A4, доцетаксел.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524852226-228>

Триплетотрицательный рак молочной железы (РМЖ) составляет порядка 10–20% от вновь диагностированного инвазивного РМЖ [1]. Лечение больных РМЖ с отдалёнными метастазами представляет собой одну из самых больших проблем в современной гинекологической онкологии. Установление механизмов, способствующих развитию метастазов, имеет первостепенное значение [2]. Семейство белков S100 человека включает более чем 20 представителей. Часть из них принимает непосредственное участие в росте опухоли и метастазировании. Получены сведения, что при РМЖ экспрессия белков S100 может повышаться. В частности, белок S100A4 связан с метастазами и активен на переднем крае мигрирующих раковых клеток [3]. Клетки триплетотрицательного РМЖ MDA-MB-231 обладают способностью к инвазии и метастазированию. Частично эту способность можно связать с наличием в этих клетках белка S100A4 [4]. Ранее [5] мы показали, что снижение уровня белка S100A4 в клетках РМЖ линии MDA-MB-231 привело к снижению метастатического потенциала клеток, при этом остаточный уровень белка в клетке не способствовал подвижности клеток в миграционном тесте.

В настоящей работе мы более детально исследовали зависимость метастатического потенциала клеток MDA-MB-231 от внутриклеточного уровня S100A4.

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской Академии наук, Москва*

*E-mail: tanjnil@mail.ru

После обработки клеток РМЖ MDA-MB-231 синтетическим глюкокортикоидом дексаметазоном в концентрации 10^{-6} М в течение 24–48 ч мы зарегистрировали снижение в 2 раза содержания внутриклеточного белка S100A4 в обработанных клетках (рис. 1а). Ранее [6] мы установили, что обработка дексаметазоном в этой концентрации не влияла на содержание внутриклеточного S100A4 в клетках лимфоидной линии Namalwa. Также в работе [6] мы использовали простой и эффективный способ специфического посттранскрипционного краткосрочного (5–7 дней) подавления экспрессии гена с помощью экзогенных малых интерферирующих РНК (siРНК), применяющийся повсеместно с целью нокдауна исследуемых генов [7]. В настоящей работе обработка клеток MDA-MB-231 siРНК также привела к снижению содержания внутриклеточного белка S100A4 в два раза. Параллельно мы наблюдали снижение в два раза подвижности обработанных клеток в миграционном тесте (рис. 1б).

При действии специфического препарата доцетаксела в концентрации 50 мкг/мл выживаемость клеток не претерпела каких-либо заметных изменений в клетках, обработанных дексаметазоном, и на 25% уменьшилась в клетках с нокдауном гена S100A4 (рис. 1в).

Полученные данные указывают на возможность дексаметазона усиливать эффективность химиотерапии, снижая метастатический потенциал раковых клеток. В литературе приводятся данные [8], свидетельствующие о том, что дексаметазон может быть

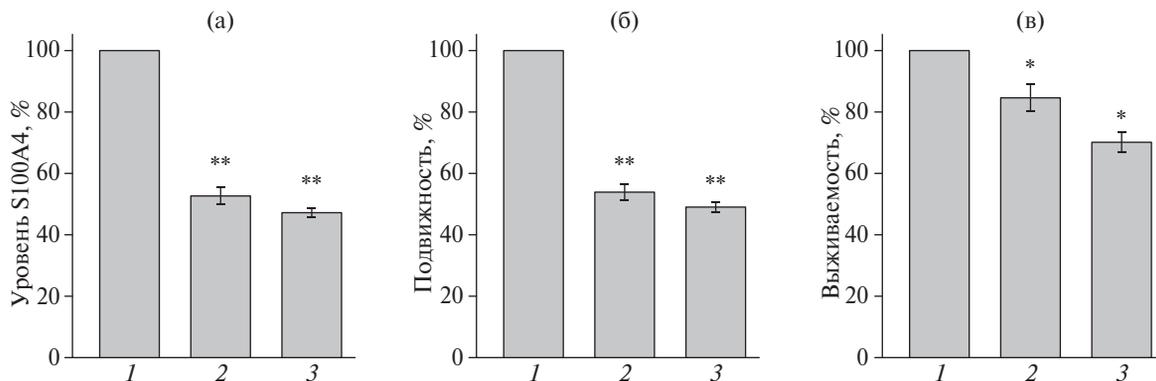


Рис. 1. Содержание белка S100A4 в клетках РМЖ (а), подвижность клеток РМЖ в модифицированной камере Бойдена (б), выживаемость клеток РМЖ под действием доцетаксела (в). Здесь и на рис. 2: 1 — в норме, 2 — после обработки дексаметазоном, 3 — после обработки siРНК. Содержание S100A4 в среде культивирования интактных клеток, подвижность интактных клеток, выживаемость интактных клеток принимали за 100%. Здесь и на рис. 2 и 3 $M \pm m$, $n = 3$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$ при сравнении с интактными клетками.

полезным для улучшения эффективности ряда лекарственных средств при лечении РМЖ в определённых условиях. Также существуют данные о том, что предварительная обработка дексаметазоном линий клеток РМЖ ингибирует цитотоксичность, вызванную химиотерапией. С учётом широкого клинического применения дексаметазона перед химиотерапией понимание механизмов воздействия глюкокортикоидов на раковые клетки необходимо для достижения оптимальных терапевтических реакций [9].

При разделении клеток, способных к метастазированию, от тех, что остались неподвижными в модифицированной камере Бойдена, мы обнаружили, что содержание S100A4 в разделённых фракциях различается (рис. 2). Во фракциях клеток, обработанных дексаметазоном или siРНК, содержание белка S100A4 отличалось в 2 раза, а в интактных клетках — в 1,5 раза.

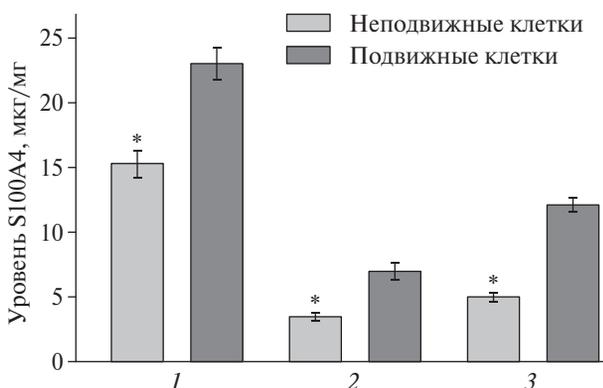


Рис. 2. Содержание белка S100A4 в подвижных и неподвижных клетках РМЖ после разделения в модифицированной камере Бойдена. * $p < 0,05$ при попарном сравнении.

Далее мы исследовали влияние экзогенного белка S100A4 в кондиционной среде на подвижность клеток. Клетки инкубировали в привычной среде роста и в среде с добавлением рекомбинантного S100A4 (10 нг/тыс. клеток). Затем проводили тест на подвижность клеток, добавляя в нижнюю камеру рекомбинантный белок S100A4. В контрольных опытах белок не добавляли. Мы обнаружили, что подвижность клеток не зависела от условий культивирования (рис. 3а, столбцы 1 и 3), но после добавления в нижние камеры белка S100A4 (100 нг/мл среды) клетки, выращенные

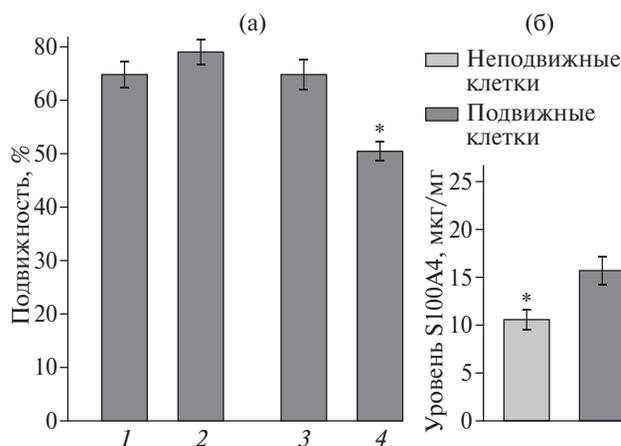


Рис. 3. Подвижность клеток РМЖ в модифицированной камере Бойдена (а), выращенных в обычной среде (1, 2) и в среде с добавлением рекомбинантного белка S100A4 в стандартных условиях (3, 4) и при добавлении в нижнюю камеру белка S100A4 (2, 4). * $p < 0,05$ при попарном сравнении. Содержание белка S100A4 в подвижных и неподвижных клетках РМЖ, выращенных в среде с добавлением рекомбинантного белка S100A4 (10 нг/тыс. клеток), после разделения в модифицированной камере Бойдена — (б). * $p < 0,05$ при попарном сравнении.

в разных условиях, вели себя по-разному. Подвижность клеток, выращенных в привычной среде, увеличилась незначительно, а подвижность клеток, выращенных в присутствии S100A4, достоверно снизилась (рис. 3а, столбцы 2 и 4). Содержание белка S100A4 во фракциях подвижных и неподвижных клеток, культивируемых в присутствии S100A4, было снижено по сравнению с интактными клетками, но соотношение между содержанием белка во фракциях осталось таким же, как в интактных клетках (рис. 3б).

Наши результаты, характеризующие свойства клеток РМЖ, согласуются с литературными данными, полученными при обследовании пациентов с раком прямой кишки. Экспрессия белка S100A4 в клетке при раке толстой кишки может быть показателем прогрессирования опухоли и метастазов в лимфатические узлы и может быть полезна для прогнозирования общей выживаемости пациентов с раком толстой кишки [10].

Источники финансирования. Работа поддержана грантом Российского научного фонда 14–15–01032–П и Программой фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (тема № 01201363822).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Skor M.N., Wonder E.L., Kocherginsky M., Goyal A., Hall B.A., Cai Y., Conzen S.D. // Clin. Cancer Res. 2013. V. 19. P. 6163–6172.
2. Grottko A., Ewald F., Lange T., Nörz D., Herzberger C., Bach J., Grabinski N., Gräser L., Höppner F., Nashan B., Schumacher U., Jücker M. // PLoS One. 2016. V. 11. e0146370.
3. Bresnick A.R., Weber D.J., Zimmer D.B. // Nat. Rev. Cancer. 2015. V. 15. P. 96–109.
4. Chen A., Wang L., Li B.Y., Sherman J., Ryu J.E., Hamamura K., Liu Y., Nakshatri H., Yokota H. // Sci. Rept. 2017. V. 7. P. 3459.
5. Духанина Е.А., Порцева Т.Н., Духанин А.С., Георгиева С.Г. // Бюл. эксперим. биол. 2018. Т. 166. № 7. С. 62–65.
6. Dukhanina E.A., Portseva T.N., Pankratova E.V., Soschnikova N.V., Stepchenko A.G., Dukhanin A.S., Georgieva S.G. // Cell Cycle. 2016. V. 15. P. 1471–1478
7. Вахурева Ю.В., Филатова А.Ю., Кривошеева И.А., Скоблов М.Ю. // Вестн. РГМУ. 2017. Т. 3. С. 18–31.
8. Honorat M., Mesnier A., Di Pietro A., Lin V., Cohen P., Dumontet C., Payen L. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2008. V. 375. P. 308–314
9. Redondo M., Téllez T., Roldan M.J., Serrano A., García-Aranda M., Gleave M.E., Hortas M.L., Morell M. // Breast Cancer Res. 2007. V. 9. R86.
10. Destek S., Gul V.O. // J. Oncol. 2018. 1828791.

THE EXPRESSION LEVEL OF S100A4 PROTEIN AFFECTS THE MIGRATION ACTIVITY OF BREAST CANCER CELLS

E. A. Dukhanina, T. N. Portseva, A. P. Kotnova, E. V. Pankratova,
Corresponding Member of the RAS S. G. Georgieva

Received October 29, 2018

Reduced expression of S100A4 protein metastasis marker in triple negative breast cancer cells (BC) MDA MB 231 leads to a decrease in the migratory ability of cells and increases the sensitivity of modified cells to docetaxel therapy. Cells capable of migration differ from immobile cells in the S100A4 protein content inside the cell, and this difference is preserved after the cells are treated with agents that lower the intracellular level of S100A4. The presence of exogenous protein S100A4 in the culture medium reduces the protein content in breast cancer cells. The results of the research indicate that the ability of BC cells to migrate depends on the concentration of S100A4 protein inside the cell.

Keywords: triple negative breast cancer cells, migration, S100A4, Docetaxel.