

Применение ингибиторов mTOR как подход к снижению негативного влияния глюкокортикоидов на регуляцию межклеточных контактов клеток рака молочной железы

Дёмина Д.В.¹, Жидкова Е.М.², Лылова Е.С.², Григорьева Д.Д.²

¹ ФГБУ ВО «МИРЭА - Российский технологический университет», г. Москва

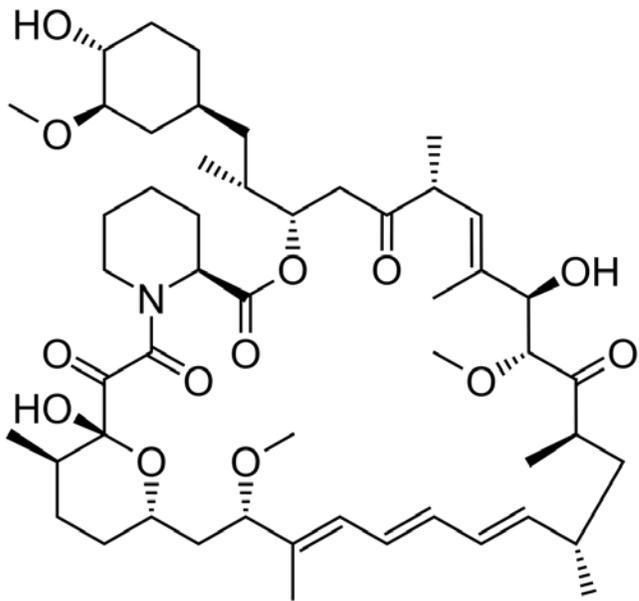
² ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва

Москва 2021

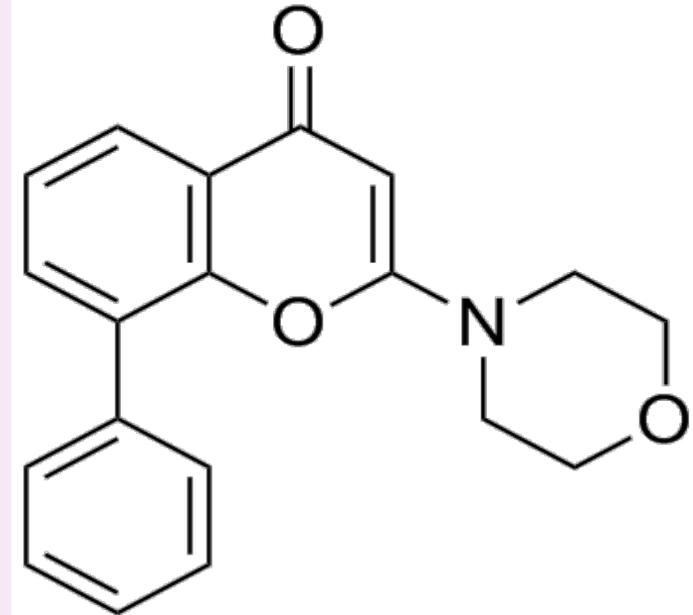
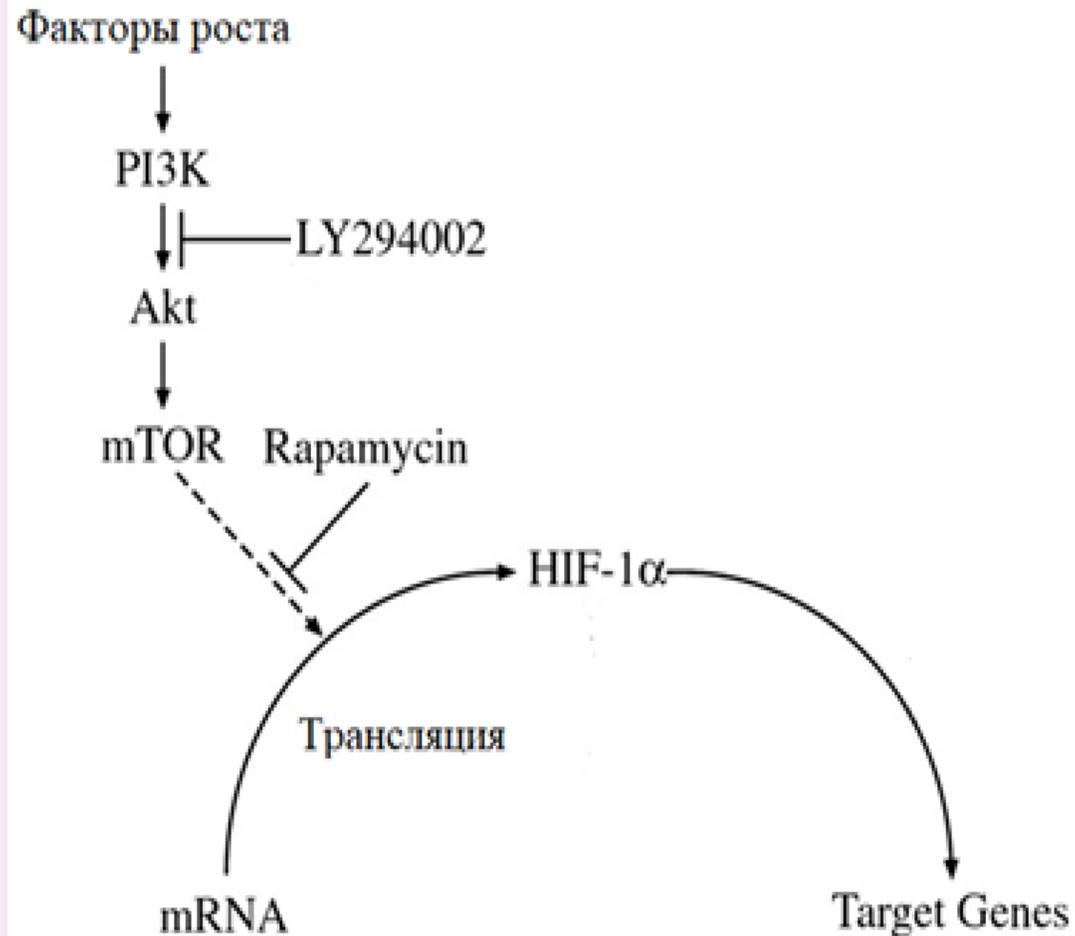
Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 17-75-20124)

ВВЕДЕНИЕ

Глюкокортикоиды (ГК) широко применяются в клинической практике, в том числе для снижения побочных эффектов химиопрепаратов при терапии солидных опухолей. Однако, их применение в качестве адъювантов при терапии рака молочной железы (РМЖ), может приводить к разобщению межклеточных контактов и повышенной вероятности метастазирования. Течение РМЖ часто сопровождается нарушением сигнального пути mTOR.



Рапамицин ингибирует mTOR, связываясь со своим рецептором. Это приводит к дестабилизации mTORC1, который должен регулировать аутофагию, контроль трансляции и некоторые другие функции, связанные с клеточным ростом и выживанием.



LY294002 представляет собой синтетическое соединение на основе флавоноидов, которое ингибирует фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K), которая регулирует пролиферацию, выживание, метаболизм, реорганизацию цитоскелета и мембранный перенос.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

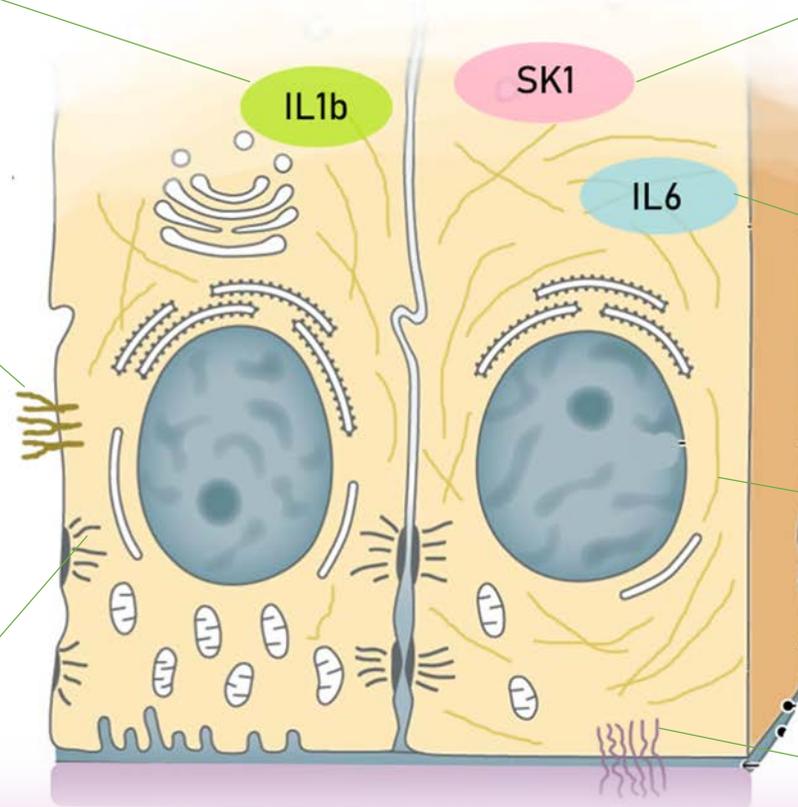
Изучение влияния ингибиторов mTOR индивидуально и в комбинации с ГК на уровень экспрессии ряда генов, отвечающих за формирование межклеточных контактов на моделях РМЖ *in vitro*.

IL1B - провоспалительный цитокин, потенциальный биомаркер для прогнозирования пациентов с РМЖ с повышенным риском развития метастазов в кости

Молекула межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) - трансмембранный гликопротеин. ICAM-1 экспрессируется на поверхности многих типов опухолевых клеток, повышение экспрессии способствует метастазированию

Белок **Е-кадгерин (CDH1)** - важная составляющая адгезии эпителиальных клеток и эпителиально-мезенхимального перехода. Е-кадгерин вовлечён в механизмы регуляции межклеточной адгезии, клеточной подвижности и пролиферации эпителиальных клеток. Понижение экспрессии увеличивает вероятность метастазирования

Исследуемые гены



Сфингозинкиназа (SK1) взаимодействует с различными сигнальными путями, участвующими в выживании и химиорезистентности клеток. Высокая экспрессия SK1 связана с ухудшением прогноза

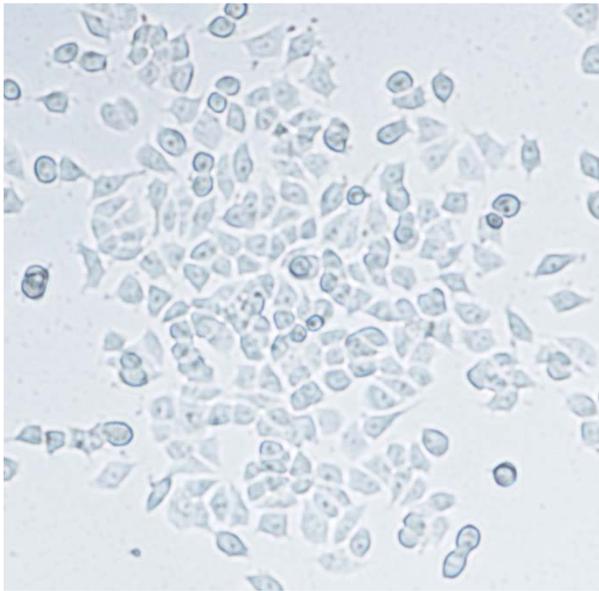
Цитокин интерлейкин 6 (**IL6**) составляет ключевой онкогенный путь, который, функционально связан с рецептором эстрогена α при раке молочной железы.

Белок **RhoB** обычно регулирует миграцию опухолевых клеток за счет повышения стабильности интегриновых адгезий и активности интегрин, тем самым способствуя миграционной полярности.

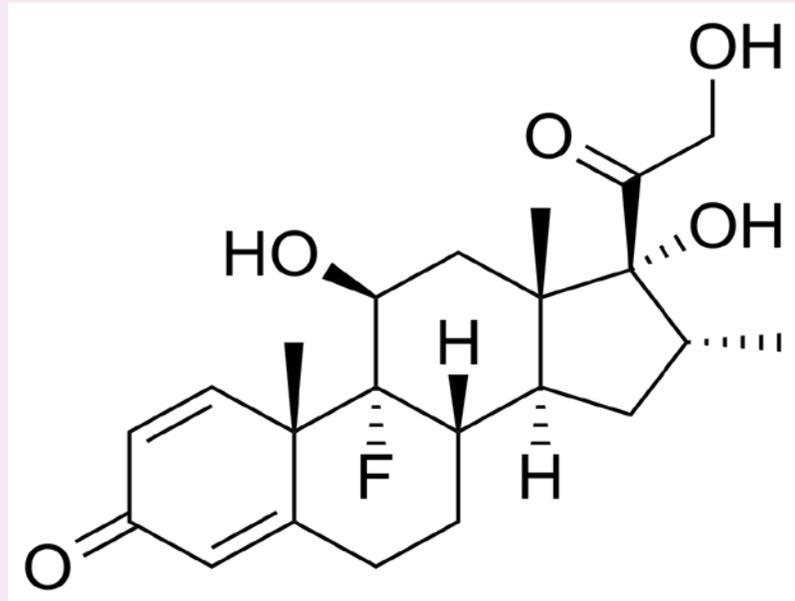
Фибулин-1 (FIBL1) представляет собой секретируемый гликопротеин, который обнаруживается в ассоциации со структурами внеклеточного матрикса. Способствует уменьшению миграционной активности

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

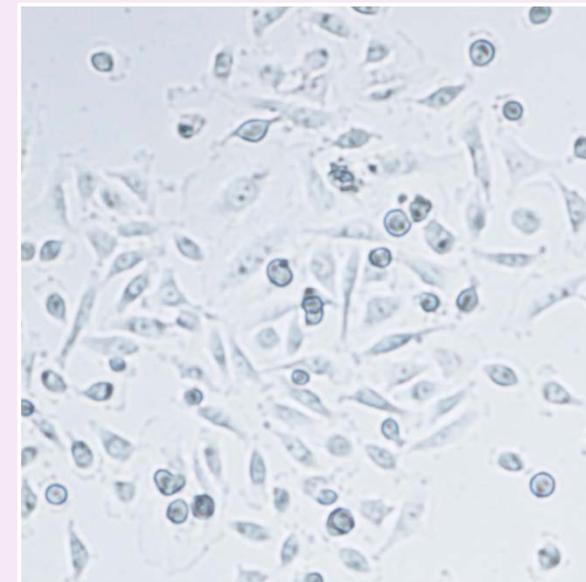
В работе были использованы клеточные линии люминального (MCF-7) и базального (MDA-MB-231) РМЖ, ингибиторы mTOR рапамицин, LY294002 (0.1 мкМ) и ГК дексаметазон (100 мкМ). Клетки рассеивали в 6-луночные планшеты по 500 тыс. клеток, после прикрепления к подложке вносили исследуемые ингибиторы mTOR, инкубировали 4ч, а затем в часть лунок вносили ГК. Уровни экспрессии ряда ГК-зависимых генов, связанных с формированием межклеточных адгезий клеток РМЖ определяли методом ПЦР в реальном времени через 24 ч после обработки ГК.



MCF-7



Дексаметазон (Dex) —синтетический глюкокортикоид, оказывает противовоспалительное и иммунодепрессивное действие, применяется в терапии множества болезней и состояний



MDA-MB-231

ВЫВОДЫ

- 1) Дексаметазон понижает экспрессию генов *FIBL-1* и *CDH1*, а также повышает экспрессию *RhoB*, что повышает вероятность метастазирования.
- 2) Рапамицин и LY294002 снижают метастатический потенциал клеток за счет повышения уровня *FIBL-1* и снижения *SK-1*, *ICAM1*, *RhoB* в люминальном подтипе, а также за счет понижения экспрессии *ICAM1*, *IL1b* и *IL6* в базальном подтипе.
- 3) Применение ингибиторов mTOR в комбинации с ГК повышает экспрессию *FIBL-1* и *CDH1*, что снижает миграционную активность клеток РМЖ обоих подтипов.

Ингибиторы mTOR способны регулировать экспрессию генов, связанных с межклеточными взаимодействиями и миграцией опухолевых клеток, понижая метастатический потенциал клеток РМЖ. При этом они могут нивелировать действие ГК на ряд генов, связанных с активацией метастазирования РМЖ. Таким образом, применение ингибиторов mTOR в комбинации с ГК может стать подходом к снижению побочных эффектов ГК при терапии РМЖ.