

ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИЙ A549 И ОКР-GS ИНДУЦИРОВАТЬ ОБРАЗОВАНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК (NETs)

Е. В. Шамова¹, Т. Г. Дубовская¹, В. А. Шумский¹, П. С. Стенникова²,
А. Ю. Кохан¹, А. Н. Свешникова³

¹Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, РФ

Значительную часть опухолевого микроокружения составляют клетки иммунной системы, среди которых наиболее многочисленной группой являются нейтрофилы. Показано повышение уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs) в тканях и периферической крови у пациентов с солидными опухолями. NETs, с одной стороны, маскируют опухолевые клетки от иммунной защиты организма, а с другой стороны, способствуют тромбозам, что приводит к неблагоприятным исходам. Механизмы стимуляции NETs опухолевыми клетками до конца не изучены и во многом зависят от типа опухоли, ее микроокружения и других факторов. В настоящей работе исследована способность опухолевых клеток линий A549 (карцинома легкого) и ОКР-GS (карцинома почки) и их секрета индуцировать образование NETs.

Нейтрофилы выделяли из стабилизированной цитратом венозной донорской крови центрифугированием в двойном градиенте плотности. Нейтрофилы инкубировали с опухолевыми клетками либо их кондиционированной средой в течение 3,0–3,5 часов в CO₂-инкубаторе при 37 °С. Образование NETs детектировали посредством флуоресцентной микроскопии и анализа интенсивности флуоресценции на планшетном ридере с применением флуоресцентного зонда на ДНК SytoxGreen и флуоресцентно-меченного антитела против миелопероксидазы (МПО). В качестве положительного контроля для стимулирования NETs использовали РМА (200 нМ) и иономицин (1 мкМ).

Установлено, что через 3,0–3,5 часа инкубации нейтрофилов с опухолевыми клетками ОКР-GS наблюдалось достоверное увеличение интенсивности флуоресценции SytoxGreen на 51,7±10,9% относительно контроля (в отсутствии дополнительного стимула). Данный эффект был сравним с РМА-индуцированным нетозом (54,6±17,1%), однако значительно слабее влияния иономицина (146±31,6%). С помощью флуоресцентной микроскопии показано, что нейтрофилы, инкубированные с опухолевыми клетками ОКР-GS образуют тяжи внеклеточного ДНК, что подтверждается колоколизацией флуоресцентных сигналов на SytoxGreen и анти-МПО. При инкубации нейтрофилов с кондиционированной опухолевыми клетками средой (секретом опухолевых клеток) обнаружено, что секрет ОКР-GS достоверно ингибировал образование NETs на 23,6±14,4%. Анализ экспериментальных данных по влиянию опухолевых клеток A549 и их секрета не выявил достоверных различий. Полученные данные позволяют предположить существование нескольких механизмов регуляции функциональной активности нейтрофилов опухолевыми клетками ОКР-GS: индукция нетоза вероятно осуществляется при непосредственном взаимо-

действии клеток ОКР-GS и нейтрофилов, в то время как в секрете ОКР-GS содержатся биологически активные молекулы, негативно воздействующие на данный процесс.

Таким образом, в настоящей работе показано, что опухолевые клетки линии ОКР-GS при их инкубации с нейтрофилами индуцируют NETs, при этом секрет ОКР-GS, напротив, оказывает ингибирующее действие на данный процесс. Полученные данные свидетельствуют о существовании различных механизмов индукции и регуляции NETs.

Финансовая поддержка: грант №Б23РНФ-162; РНФ23-45-10039.