

УРОВЕНЬ TSPO В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ МОДУЛИРУЕТСЯ ЛИГАНДОМ TSPO ВЕЩЕСТВОМ РК11195 И ИНГИБИТОРОМ MAP-КИНАЗ UO126

© С. Н. Гырылова, Т. Г. Рукша, А. В. Комина

*Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого;
e-mail: sveta_sol84@mail.ru*

TSPO (translocator protein) является белком с преимущественной внутриклеточной локализацией, который принимает участие в регуляции пролиферации клеток, дифференцировки и апоптоза. При этом механизмы регуляции собственно TSPO изучены недостаточно. В настоящем исследовании оценивали модулирующий эффект вещества РК11195 — лиганда TSPO и блокатора MAP-киназного сигнального пути UO126 на уровень экспрессии TSPO клеток меланомы кожи. Показано, что РК11195 в наномолярных концентрациях повышает уровень TSPO в клетках меланомы кожи. Та же тенденция выявлена при использовании блокатора UO126 с помощью иммуноцитохимического исследования и ПЦР в реальном времени. Показано также, что при сочетании РК11195 с UO126 происходит активация апоптотической гибели клеток меланомы. Полученные данные могут быть использованы для регуляции функциональной активности TSPO в процессах, связанных с его участием.

Ключевые слова: TSPO, MAP-киназы, меланома, вещество РК11195, блокатор UO126.

Белок TSPO (translocator protein) регулирует фундаментальные процессы в нормальных и опухолевых клетках, такие как апоптотическая гибель, пролиферация, дифференцировка, синтез стероидных гормонов (Batarseh et al., 2010). TSPO локализован преимущественно на наружной митохондриальной мембране и формирует основу митохондриальной поры, увеличение продолжительности открытия которой ведет к снижению мембранного потенциала. Потеря мембранного потенциала митохондрий относится к самым ранним событиям инициации апоптотического каскада. Нарушение функционирования митохондриальной поры, которая регулирует потенциал внутренней митохондриальной мембраны, приводит к преапоптотическому коллапсу мембранного потенциала митохондрий. Таким образом, TSPO может модулировать функционирование митохондриальной поры, способствовать развитию отека митохондрий и последующему выделению митохондриального цитохрома *c* (Veenman et al., 2010). Выход цитохрома *c* приводит к активации каспаз и апоптотической гибели клеток (Hirsch et al., 1998). Помимо этого, TSPO был выявлен также в ядерно-перинуклеарной области (Pretner et al., 2006).

К классическим синтетическим лигандам, связывающимся с TSPO, относят вещество РК11195. В 1999 г. впервые было показано, что РК11195 может индуцировать апоптоз в тимоцитах (Dallaporta et al., 1999). В дальнейшем апоптозиндуцирующее действие РК11195 было выявлено в различных типах клеток. На изолированных кардиальных митохондриях и в кардиомиоцитах было определено, что в развитии проапоптотических эффектов РК11195 решающую роль играет модуляция функционального состояния митохондриальных пор, так как РК11195 приводит к изменению проницаемости и

ультраструктурным повреждениям в митохондриях (Salvetti et al., 2000). Связывание TSPO с РК11195 вызывает изменение функционирования TSPO (Batarseh et al., 2010).

Ранее нами было установлено, что в клетках меланомы кожи происходит изменение уровня TSPO по сравнению с нормальными меланоцитами (Рукша, 2009). Известно, что одним из ключевых изменений, приводящих к развитию данной опухоли, является мутагенная активация сигнального пути MAP-киназ (митогенактивируемых протеинкиназ). MAP-киназный сигнальный каскад активируется протеинкиназой *C*, в свою очередь также регулирующей промоторную активность и экспрессию TSPO. MAP-киназный сигнальный каскад является одним из наиболее патогенетически важных сигнальных механизмов в развитии меланомы кожи, активация которого отмечается более чем в 90 % случаев меланомы кожи (Izumi et al., 2005). Наиболее часто активация данного сигнального каскада происходит из-за мутации гена BRAF, что приводит к повышению уровня клеточной пролиферации (Pollock, Meltzer, 2003).

С другой стороны, показано, что сигнальный путь MAPK регулирует функциональную активность TSPO (Batarseh et al., 2010). В этой связи можно предположить, что TSPO играет некую роль в развитии меланомы кожи через изменение своего функционирования при мутагенной активации MAP-киназного сигнального каскада. Тесная взаимосвязь между MAP-киназами и TSPO должна учитываться при формировании новых терапевтических подходов при лечении меланомы кожи.

Целью настоящего исследования было определение уровня TSPO в клетках меланомы кожи при воздействии лигандом TSPO и блокатором MAP-киназ.

Материал и методики

Клетки. Культура клеток SK-MEL1 (ATCC) меланомы кожи человека была любезно предоставлена Московским научно-исследовательским институтом медицинской экологии. Клетки выращивали в среде RPMI 1640, содержащей 10 % эмбриональной бычьей сыворотки (FBS, fetal bovine serum), 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 0,25 мкг/мл амфотерицина при 37 °С и 5 % CO₂. Клетки рассевали в чашки Петри с плотностью (2—4) · 10⁶ кл./мл за 24 ч до начала эксперимента.

В первой группе к суспензии клеток, рассеянных в среде RPMI 1640, содержащей 10 % эмбриональной бычьей сыворотки, добавляли лиганд TSPO вещество PK11195 (Sigma, США) в концентрации 10, 100 нмоль/л или 10 мкмоль/л. В другой группе к суспензии клеток добавляли блокатор киназы MEK (эффektorной протеинкиназы MAP-киназного сигнального каскада) вещество UO126 (Sigma, США) в концентрации 10 или 50 мкмоль/л. В третьей группе к суспензии клеток меланомы добавляли одновременно UO126 и PK11195 в концентрациях 10 мкмоль/л и 100 нмоль/л соответственно. Через 72 ч культивирования клетки центрифугировали в течение 10 мин со скоростью вращения 1,5 тыс. об./мин (1350 g). Клеточный осадок промывали в холодном фосфатно-солевом буферном растворе. Далее клеточный осадок переносили на стекла и фиксировали высушиванием в парах 10%-ного формалина в течение 30 мин.

Иммуноцитохимическое окрашивание производили по стандартной методике, используя моноклональные антитела к TSPO в разведении 1 : 400 (Trevigen, США). Кроме того, использовали моноклональные антитела к маркеру клеточной пролиферации белку PCNA (proliferating cell nucleus antigen) в разведении 1 : 200 (Novocastra, Великобритания). Для визуализации использовали систему детекции Ready-to-Use и диаминобензидин (Novocastra, Великобритания) в качестве хромогена. Подсчет положительно окрашенных клеток (на 100 клеток) производили с помощью микроскопа Olympus BX-41 при увеличении объектива 40×. Определяли долю положительно окрашенных клеток. Тест повторялся трижды, по результатам рассчитывали медиану, доверительный интервал и его пределы (95 и 5—95 % соответственно).

Для определения уровня мРНК TSPO использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени (РТ ПЦР). Для этой цели из клеток меланомы выделяли РНК с помощью набора «Рибо-золь-В» (AmpliSens, Россия), после чего проводили реакцию обратной транскрипции (РТ) с использованием комплекта реагентов «Реверта» (AmpliSens, Россия). Синтезированную в результате РТ кДНК использовали для ПЦР в реальном времени, применяя специфичные праймеры к TSPO и β-актину в качестве эндогенного контроля (TaqMan, Applied Biosystems, США). Амплификацию и детекцию на приборе StepOne™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США). Качественные результаты РТ ПЦР анализировали по методу сравнения ΔCt, который определяет амплификационный цикл, во время которого флуоресценция исследуемого образца становится достоверно выше базального сигнала. Оценивали сигналы TSPO путем нормализации их к сигналам от β-актина. Для достоверного сравнения уровня экспрессии мРНК TSPO в контроле и после инкубации клеток с PK11195 и UO126 использовали критерий Манна—Уитни. Програм-

ма термоциклирования: 50 °С — 2 мин, 95 °С — 10 мин; 45 циклов: 95 °С — 15 с, 60 °С — 1 мин.

Выраженность апоптоза оценивали с помощью окраски акридиновым оранжевым (АО) и бромистым этидием (ЕВ) (АО/ЕВ, acridine orange/ethidium bromidi) (Gerbu Biothechnick GmbH, MP Biomedicals Inc., США) (Ribble et al., 2005). АО проникает во все клетки и окрашивает ядра в зеленый цвет. ЕВ проникает только в клетки с поврежденной цитоплазматической мембраной, окрашивает ядра поврежденных клеток в оранжевый цвет, при этом окраска бромистым этидием преобладает над акридиновым оранжевым. Определяли долю апоптотических клеток (из 100) с ядром, окрашенным (полностью или фрагментарно) в оранжевый цвет. Тест повторяли трижды, по результатам рассчитывали медиану и доверительный интервал (95 %; пределы значений 5—95 %).

Ядра живых клеток окрашивались в зеленый цвет. Визуализацию и подсчет числа апоптотических клеток проводили с помощью флуоресцентного микроскопа Primo Star (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия).

Результаты

При иммуноцитохимическом исследовании клеток меланомы с помощью моноклональных антител к TSPO определялось преимущественно цитоплазматическое окрашивание. 8 % (7,5—10,0) меланомы были TSPO-положительными. После культивирования клеток в присутствии PK11195 или UO126 во всех тестируемых концентрациях количество TSPO-положительно окрашенных клеток увеличивалось по сравнению с контрольной группой (табл. 1). При сочетании применении вышеуказанных модуляторов также наблюдалось увеличение TSPO-положительно окрашенных клеток (табл. 1).

При оценке уровня мРНК TSPO с помощью РТ ПЦР выявлено, что PK11195 в концентрации 100 нмоль/л ($P < 0,05$) индуцировал увеличение экспрессии TSPO (рис. 1). После воздействия на клетки меланомы ингибитором MAP-киназы UO126 в концентрации 10 мкмоль/л также было выявлено повышение уровня мРНК TSPO (рис. 1). Таким образом, MAP-киназный сигнальный путь обладает регулирующим действием на TSPO. После сочетанного использования PK11195 в концентрации 100 нмоль/л и UO126 в концентрации 10 мкмоль/л в клет-

Таблица 1

Уровень TSPO⁺-клеток меланомы SK-MEL1 после культивирования в присутствии PK11195 или UO126, а также их комбинации

| Агент и его концентрация | Доля TSPO ⁺ -клеток, % |
|---|-----------------------------------|
| — (контроль) | 8,0 (7,5—10,0) |
| PK11195, 10 нмоль/л | 68 (66,0—71,5) |
| PK11195, 100 нмоль/л | 81,4 (78,7—84,2) |
| PK11195, 10 мкмоль/л | 85,8 (84,4—86,4) |
| UO126, 10 мкмоль/л | 92,0 (88—93) |
| UO126, 50 мкмоль/л | 83,0 (79—94) |
| PK11195, 100 нмоль/л + UO126, 10 мкмоль/л | 75,0 (73—78,5) |

Примечание. Данные иммуноцитохимического исследования. Все отличия от контрольной группы достоверны при $P < 0,001$. В скобках указаны пределы 95%-ного доверительного интервала.

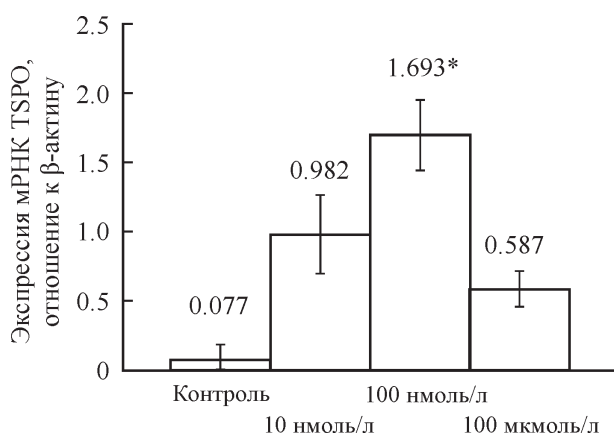


Рис. 1. Уровень экспрессии мРНК TSPO в клетках меланомы после 72-часового культивирования их в присутствии вещества PK11195 — лиганда TSPO.

Результаты ПЦР в реальном времени. Концентрации PK11195: 10 мкмоль/л, 10 и 100 нмоль/л. Сигналы TSPO оценивали по отношению к сигналам от β-актина.

Звездочкой показано достоверное отличие от контроля ($P < 0.05$). Для сравнения использовали критерий Манна—Уитни, рассчитывали медиану (цифры при столбцах) и 95%-ный доверительный интервал (вертикальные отрезки).

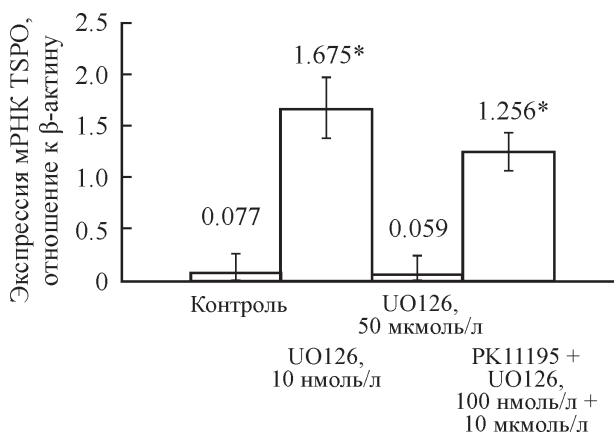


Рис. 2. Уровень экспрессии мРНК белка TSPO в клетках меланомы после действия ингибитора MAP-киназы UO126 (10 мкмоль/л) или совместного действия PK11195 (100 нмоль/л) и UO126 (50 мкмоль/л) по результатам ПЦР в реальном времени.

Звездочкой показано достоверное отличие от контроля ($P < 0.05$). Обозначения те же, что и на рис. 1.

ках меланомы кожи также увеличивался уровень экспрессии мРНК TSPO (рис. 2). Таким образом, при иммуноцитохимическом исследовании и при определении уровня мРНК TSPO с помощью РТ ПЦР была выявлена однонаправленная тенденция, указывающая на способность PK11195 модулировать уровень TSPO в клетках меланомы.

Маркер клеточной пролиферации белок PCNA в клетках SK-MEL1 определялся в ядрах 80 клеток (76.5—83.5) из 100, что согласуется с данными литературы (Torres et al., 2005). После культивирования клеток меланомы в присутствии PK11195 в концентрации 10, 100 нмоль/л или 10 мкмоль/л, а также после культивирования в присутствии UO126 в концентрации 10 или 50 мкмоль/л число PCNA-положительных клеток снижалось (табл. 2). При этом наиболее выраженное снижение (в 3—3.5 раза) наблюдалось после культивирования клеток в присутствии 50 мкмоль/л UO126 или PK11195 в

концентрации 10 мкмоль/л или 100 нмоль/л. В группе сочетанного применения модуляторов в низких концентрациях (10 мкмоль/л PK11195 и 100 нмоль/л UO126) также происходило снижение количества PCNA-положительных клеток, но в меньшей степени (табл. 2). Преимущество комбинации PK11195 и UO126 по сравнению с селективным использованием PK11195 и UO126 в клетках меланомы в отношении изменения тестируемого параметра (количества PCNA-положительных клеток) выявлено не было.

Уровень апоптотической гибели клеток меланомы SK-MEL1 определяли с помощью окраски АО/ЕВ. Живые клетки имели ядра равномерного зеленого цвета, у апоптотических клеток определялись ядра с фрагментированным и конденсированным хроматином зеленого или оранжевого цвета. Некротические клетки имели структурно нормальное ядро, как в живой клетке, но характеризовались оранжевой окраской ядра, а не зеленой. Первоначальный уровень апоптотических клеток меланомы составил 5 % (4.5—7.5). После культивирования клеток меланомы в присутствии PK11195 или UO126 во всех концентрациях уровень апоптоза повышался в 5 и 6 раз соответственно и регистрировался по появлению оранжевой окраски ядра (табл. 3). В случае комбинации

Таблица 2

Уровень PCNA⁺-клеток меланомы SK-MEL1 после культивирования в присутствии PK11195 или UO126, а также их комбинации

| Агент и его концентрация | Доля PCNA ⁺ -клеток, % |
|---|-----------------------------------|
| — (контроль) | 80 (76.5—83.5) |
| PK11195, 10 нмоль/л | 62 (60.0—63.5) ^a |
| PK11195, 100 нмоль/л | 28 (26.5—31.0) ^b |
| PK11195, 10 мкмоль/л | 22 (21.5—24.0) ^b |
| UO126, 10 мкмоль/л | 59 (56—62) ^a |
| UO126, 50 мкмоль/л | 24 (23—26.5) ^b |
| PK11195, 100 нмоль/л + UO126, 10 мкмоль/л | 45 (43—47) ^a |

Примечание. Отличия от контрольной группы достоверны при $P < 0.05$ ^(a) и $P < 0.001$ ^(b). В скобках указаны пределы 95%-ного доверительного интервала.

Таблица 3

Доля апоптотических клеток меланомы SK-MEL1 после культивирования в присутствии PK11195 или UO126, а также их комбинации окраски

| Агент и его концентрация | Доля апоптотических клеток, % |
|---|--------------------------------|
| — (контроль) | 5 (4.5—7.5) |
| PK11195, 10 нмоль/л | 24 (21.75—26.25) ^a |
| PK11195, 100 нмоль/л | 26 (24.5—29.75) ^a |
| PK11195, 10 мкмоль/л | 26.6 (24.5—28.8) ^a |
| UO126, 10 мкмоль/л | 33 (29—34) ^b |
| UO126, 50 мкмоль/л | 14.7 (14.1—16.35) ^a |
| PK11195, 100 нмоль/л + UO126, 10 мкмоль/л | 42 (40—44.5) ^b |

Примечание. Даны результаты окрашивания смесью акридинового оранжевого и бромистого этидия. Отличия от контрольной группы достоверны при $P < 0.05$ ^(a) и $P < 0.001$ ^(b). В скобках указаны пределы 95%-ного доверительного интервала.

100 нмоль/л РК11195 и 10 мкмоль/л UO126 происходило более интенсивное повышение числа апоптотических клеток (в 8 раз): от 5 % в группе контроля до 42 % после воздействия ($P < 0.05$) (табл. 3). Так, уровень апоптотической гибели после действия РК11195 (100 нмоль/л) составил 26 %, а после этого же воздействия в комбинации с UO126 (10 мкм/л) — 42 % ($P < 0.05$). Уровень апоптотической гибели после действия 10 мкмоль/л UO126 составил 33 %, после использования его в комбинации с 100 нмоль/л РК11195 — 42 % ($P < 0.05$). Полученные данные говорят о положительном влиянии сочетанного применения веществ РК11195 и UO126.

Обсуждение

Изменение экспрессии TSPO ассоциировано с различными физиологическими процессами, такими как клеточная гибель и пролиферация. Понимание механизмов экспрессии гена TSPO необходимо для разработки диагностических, терапевтических и прогностических мероприятий, в частности при злокачественных заболеваниях, в том числе при меланоме кожи. Использование лиганда TSPO, а также блокаторов MAP-киназного сигнального каскада оказывает регулирующее влияние на его экспрессию (Batarseh et al., 2010).

Можно предположить, что в клетках меланомы SK-MEL1 с низким профилем экспрессии TSPO происходит изменение функционирования митохондриальных пор и как следствие снижение выраженности апоптотической гибели клеток меланомы на фоне неограниченной пролиферации, что является ключевым событием начальных изменений при опухолевой трансформации клеток, ведущих к формированию опухолевого фенотипа.

Как известно, MAP-киназный сигнальный каскад активируется протеинкиназой C, также регулирующей промоторную активность и экспрессию TSPO (Batarseh et al., 2010). Мутации генов сигнального пути MAPK определяются более чем в 90 % случаев меланомы кожи (Izumi et al., 2005). Как уже указывалось выше, наиболее часто активация данного сигнального каскада происходит из-за мутации гена BRAF (Pollock, Meltzer, 2003).

Последние исследования продемонстрировали, что именно наличие мутации в гене BRAF определяет эффективность терапии ингибиторами MAP-киназы MEK при меланоме кожи. Ингибирование протеинкиназы MEK является патогенетически обоснованным терапевтическим подходом к лечению меланомы с положительным BRAF-статусом (Solit et al., 2006). Было отмечено, что в высоких концентрациях ингибиторы MEK, к которым относится в том числе UO126, снижают пролиферацию клеток различных линий меланомы кожи, а также снижают уровень метастатических поражений в легких (Grabe, 2002; Sharma et al., 2006).

В данном исследовании продемонстрировано влияние ингибитора MAP-киназ UO126 на уровень PCNA-положительных клеток меланомы кожи SK-MEL1, характеризующихся положительным BRAF-статусом. Происходило повышение количества PCNA-положительных клеток, что может свидетельствовать об ингибирующем влиянии UO126 на пролиферацию клеток.

Из данных литературы известно, что лиганд TSPO вещество РК11195 обладает выраженным синергетическим действием в комбинации с проапоптотическими агентами. РК11195 оказывает проапоптотическое действие в со-

четании с разнообразными противоопухолевыми препаратами. Например, комбинированное лечение РК11195 с противоопухолевым химиотерапевтическим препаратом паклитакселом (taxol) ведет к значимому повышению уровня апоптоза в линии клеток гепатомы человека при сравнении с применением только паклитаксела (Ferreira et al., 2002). Возможным преимуществом сочетанного действия РК11195 с другими противоопухолевыми и цитотоксическими веществами является низкая доза этих средств при их повышенной эффективности. В случае меланомы кожи в нашем исследовании при сочетанном применении лиганда TSPO РК11195 в концентрации 100 нмоль/л с MAP-киназными ингибитором UO126 в концентрации 10 мкмоль/л происходило более интенсивное повышение количества апоптотических клеток по сравнению с показателями при селективном использовании РК11195 и UO126. РК11195 потенцировал проапоптотическое действие MAP-киназного ингибитора UO126, что может являться свидетельством возможного применения РК11195 в качестве проапоптотического агента при меланоме кожи.

Список литературы

- Рукиа Т. Г. 2009. Особенности экспрессии белков, ассоциированных со стероидогенезом, в клетках кожи. Цитология. 51 (11) : 940—944.
- Batarseh A., Li J., Papadopoulos V. 2010. Protein kinase C regulation of translocator protein (18 kDa) *Tspo* gene expression is mediated through a MAPK pathway targeting STAT3 and c-Jun transcription factors. *Biochemistry*. 49 : 4766—4778.
- Dallaporta B., Marchetti P., de Pablo M. A., Maise C., Duc H.-T., Métivier D., Zamzami N., Geuskens M., Kroemer G. 1999. Plasma membrane potential in thymocyte apoptosis. *J. Immunol*. 162 : 6534—6542.
- Ferreira C. G., Epping M., Krutz F. A. E., Giaccone G. 2002. Apoptosis: target of cancer therapy. *Clin. Cancer Res.* 8 : 2024—2034.
- Grabe C. 2002. Chemotherapy and chemoimmunotherapy in disseminated malignant melanoma. *Melanoma Res.* 2 : 291—299.
- Hirsch T., Decaudin D., Susin S. A., Marchetti P., Larochette N., Resche-Rigon M., Kroemer G. 1998. PK11195, a ligand of the mitochondrial benzodiazepine receptor, facilitates the induction of apoptosis and reverses Bcl-2-mediated cytoprotection. *Exp. Cell Res.* 241 : 426—434.
- Izumi Y., Kim-Mitsuyama S., Yoshiyama M., Omura T., Shiohara M., Matsuzawa A., Yukimura T., Murohar T., Takeya M., Ichijo H., Yoshikawa J., Iwao H. 2005. Important role of apoptosis signaling-regulating kinase 1 in ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25 : 1877—1883.
- Veenman L., Papadopoulos V., Gavish M. 2007. Channel-like functions of the 18-kDa translocator protein (TSPO): regulation of apoptosis and steroidogenesis as part of the host-defense response. *Curr. Pharm. Des.* 13 : 2385—2405.
- Pollock P. M., Meltzer P. S. 2002. A genome-based strategy uncovers frequent *BRAF* mutations in melanoma. *Cancer Cell.* 2 : 5—7.
- Pretner E., Amri H., Li W., Brown R., Lin C.-S., Makariou E., Defeudis F. V., Drieu K., Papadopoulos V. 2006. Cancer-related overexpression of the peripheral-type benzodiazepine receptor and cytostatic anticancer effects of Ginkgo biloba extract (EGb 761). *Anticancer Res.* 26 : 9—22.
- Ribble D., Goldstein N. B., Norris D. A., Shellman Y. G. 2005. A simple technique for quantifying apoptosis in 96-well plates. *BMC Biotechnol.* 5 : 12.
- Salveti F., Chelli B., Gesi M., Giannaccini G., Lucacchini A., Martini C. 2000. Effect of noise exposure on rat cardiac peripheral benzodiazepine receptors. *Life Sci.* 66 : 1165—1175.

Sharma A., Tran M. A., Liang S., Sharma A. K., Amin S., Smith C. D., Dong C., Robertson G. P. 2006. Targeting mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in the mutant (V600E) B-Raf signaling cascade effectively inhibits melanoma lung metastases. *Cancer Res.* 66 : 8200—8209.

Solit D. B., Garraway L. A., Pratils C. A., Sawai A., Getz G., Basso A., Ye Q., Lobo J. M., She Y., Osman I., Golub T. R., Se-

bolt-Leopold J., Sellers W. R., Rosen N. 2006. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition. *Nature.* 439 : 358—362.

Torres L. F., Sánchez-Suarez P., Rodríguez-Reyes A. A., Diaz-Rubio J. L., Saez-Espinola F., Ríos D., Torres O. D., Monjes L., Benítez-Bribiesca L. 2005. Analysis of PCNA, p53, and bcl-2 expression in the sequence primary acquired melanosis-conjunctival melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 46 : 3409.

Поступила 10 V 2012

TSPO LIGAND PK11195 AND MAPK INHIBITOR UO126 MODULATE TSPO EXPRESSION LEVEL

S. N. Gyrylova, T. G. Ruksha, A. V. Komina

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voino-Yasenetski;
e-mail: sveta_so184@mail.ru

Translocator protein TSPO and MAPK signaling partway are important regulators of numerous cell functions including carcinogenesis, cell proliferation and apoptosis. We have studied MAPK inhibitor UO126 and TSPO specific ligand PK11195 effects on TSPO expression level in melanoma cells. Using immunocytochemical staining, we have detected increased expression of TSPO after incubation with PK11195 and UO126 in all concentrations. These results were confirmed by real time PCR: the increase in mRNA TSPO expression level was detected after incubation with PK11195 in concentration 100 nmol/L, and with UO126 in concentration 10 μ mol/L. In the case of a combination of treatments with PK11195 and UO126, we also observed an increase in the level of TSPO expression. So, we conclude that TSPO ligand PK11195 and MAPK signaling partway inhibitor UO126 modulate TSPO expression. These data are crucial for indentifying of regulatory processes for TSPO expression. Pathogenetic interconnection between MAPK signaling partway and TSPO is important for novel therapeutic approaches in melanoma treatment.

Key words: TSPO expression, MAPK signaling partway, melanoma.

—————