

ЭПИДЕРМАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА ВЫЗЫВАЕТ УМЕНЬШЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА CD146, НЕ ВЛИЯЯ НА ЕГО ИНТЕРНАЛИЗАЦИЮ

© 2020 г. Р. С. Каменцева^{1, *}, М. В. Истомина², М. В. Харченко¹, Е. С. Корнилова^{1, 2, 3}

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 195251 Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*E-mail: rkamentseva@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.04.2020 г.

После доработки 15.04.2020 г.

Принята к публикации 17.04.2020 г.

Ранее методом проточной цитометрии нами было показано, что при длительном культивировании мезенхимных стромальных клеток эндометрия в присутствии эпидермального фактора роста (ЭФР) снижается количество CD146 на плазматической мембране. Одна из возможных причин – усиление неспецифической интернализации CD146 в таких условиях. В данном исследовании с помощью конфокальной микроскопии мы показали, что в контроле CD146 локализован не только на плазматической мембране, но и в везикулах, где он частично колокализуется с маркерами ранних и рециклирующих эндосом. Однако стимуляция эндоцитоза рецептора ЭФР не влияет на количество CD146⁺ везикул в течение 60 мин, хотя количество эндосом, содержащих рецептор ЭФР, значительно возрастает. Более того, при культивировании в присутствии ЭФР в течение 5 сут падает общая интенсивность флуоресценции клетки, ассоциированная как с CD146, так и с рецептором ЭФР. Таким образом, снижение количества CD146 при длительной инкубации в присутствии ЭФР не связано с усилением его эндоцитоза.

Ключевые слова: CD146, мезенхимные стромальные клетки человека, эпидермальный фактор роста

DOI: 10.31857/S0041377120070020

Поверхностный маркер CD146 (также известный как белок адгезии меланомы MCAM, Muc-18, S-endo 1, гицерин) часто используют для выделения и характеристики мезенхимных стромальных клеток (МСК) (Sorrentino et al., 2008). В различных исследованиях показано, что уровень CD146 может коррелировать со скоростью пролиферации и эффективностью дифференцировки (Ulrich et al., 2015; Paduano et al., 2016). Кроме того, мы обнаружили, что для МСК характерен высокий уровень экспрессии рецептора эпидермального фактора роста (ЭФР), сравнимый с таковым в клетках в линии HeLa. Методом проточной цитометрии мы показали, что доля CD146⁺ клеток в популяции эндометриальных мезенхимных стромальных клеток (энМСК) снижается при культивировании в течение 5 сут в среде, содержащей ЭФР, причем этот эффект лишь частично связан с увеличением плотности культуры (Каменцева и др., 2018).

Принятые сокращения: МСК – мезенхимные стромальные клетки; ПКС – полная культуральная среда; энМСК – эндометриальные мезенхимные стромальные клетки; ЭФР – эпидермальный фактор роста; рЭФР – рецептор ЭФР.

Проточная цитометрия живых клеток, использованная нами ранее, позволяет оценить количество CD146 лишь на их поверхности. Полученные данные могут свидетельствовать об усилении интернализации этого белка под действием ЭФР. Действительно, для интернализации многих белков существенную роль играет ди-лейциновый мотив в цитоплазматическом домене (Wang et al., 2007), и подобный мотив обнаружен в структуре CD146 (Guezguez et al., 2006). Однако данные о внутриклеточной локализации и возможных путях эндоцитоза CD146 в МСК практически отсутствуют. Таким образом, целью данного исследования, было исследовать внутриклеточную локализацию CD146 в энМСК в контроле и под действием ЭФР.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Клетки. Мезенхимные стромальные клетки человека, полученные из десквамированного эндометрия (энМСК) и охарактеризованные в Институте цитологии РАН (Земелько и др., 2011), культивировали в полной культуральной среде (ПКС) на основе DMEM/F12 (Gibco, Великобритания), содержащей