

Влияние Notch-зависимых межклеточных взаимодействий на остеогенную дифференцировку мезенхимных стволовых клеток различного происхождения

Научный руководитель – Малашичева Анна Борисовна

Мустаева Аделя Маратовна

Выпускник (бакалавр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: adel.mustaewa2011@yandex.ru

Патологическая остеогенная дифференцировка клеток представляет собой сложно регулируемый процесс, лежащий в основе кальцификации тканей, которая может приводить к серьезным заболеваниям сердечно-сосудистой системы. Предполагается, что на ранних этапах этот процесс контролируется сигнальным путем Notch. Сигнальный путь Notch является ключевым молекулярным каскадом, обеспечивающим межклеточную коммуникацию при образовании тканей и органов, в том числе, сердца и сосудов. Данные исследований роли сигнального пути Notch в процессе остеогенной дифференцировки различных клеток противоречивы, и детальные молекулярные механизмы остаются неясными.

Целью данной работы было изучить роль Notch-зависимых межклеточных взаимодействий в процессе остеогенной дифференцировки мезенхимных стволовых клеток (МСК) разного происхождения.

В работе использовали периодонтальные МСК, фетальные МСК жировой ткани и эндотелиальные клетки пуповинной вены человека (ЭК). Остеогенную дифференцировку запускали добавлением в среду остеоиндукторов - дексаметазона, β -глицерофосфата и аскорбиновой кислоты. Оценку степени остеогенной дифференцировки проводили на основе анализа экспрессии генов-остеомаркеров методом ПЦР в реальном времени, а также путем окраски клеток на отложения фосфатов кальция ализариновым красным и на щелочную фосфатазу. Сигнальный путь Notch активировали при помощи трансдукции клеток лентивирусной конструкцией, несущей NICD (Notch intercellular domain, активированный внутриклеточный домен Notch1). Для изучения влияния межклеточных взаимодействий на остеогенную дифференцировку МСК сокультивировали с различной дозой ЭК в условиях индукции остеогенной дифференцировки. Для выявления роли Notch-зависимых межклеточных взаимодействий МСК сокультивировали с ЭК, трансдуцированными разным количеством NICD лентивируса.

При сокультивировании периодонтальных МСК с разным количеством ЭК наблюдали дозозависимое усиление интенсивности окраски ализариновым красным по сравнению с остеогенной дифференцировкой в монокультуре. Сокультивирование с ЭК, трансдуцированными NICD лентивирусной конструкцией, также приводило к усилению эффективности остеогенной дифференцировки МСК. В фетальных МСК окраска была выражена менее интенсивно, что указывает на сниженный остеогенный потенциал этих клеток. Взаимодействие с ЭК, а также индукция сигнального пути Notch при остеогенной дифференцировке приводила к усилению экспрессии остеомаркеров *RUNX 2*, *COL1A1* и *POSTN*, усилению отложения фосфатов кальция и накоплению щелочной фосфатазы.

Таким образом, межклеточные взаимодействия, опосредованные сигнальным путем Notch, оказывают дозозависимый позитивный эффект на остеогенную дифференцировку МСК.