

Взаимосвязь лиганда Jagged1 и рецептора Notch3 в эндотелиальных клетках и их влияние на остеогенную дифференцировку клеток мезенхимного происхождения

Научный руководитель – Малашичева Анна Борисовна

Басович Любовь Сергеевна

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: miloverova@yandex.ru

Костная ткань включает клетки мезенхимного происхождения и эндотелиальные клетки. Сложная коммуникационная сеть между остеобластами и эндотелиальными клетками незаменима для любого трехмерного формирования кости и тонко сбалансирована паракринными сигнальными механизмами, а также прямыми клеточными контактами. Костная сосудистая сеть содержит эндотелиальные клетки типа Н, которые преимущественно ассоциируются с остеопрогениторами, специализированными для поддержки созревания и регенерации кости. При этом рост кровеносных сосудов в кости требует передачи сигналов Notch. Было показано, что экспрессируемый эндотелиальными клетками Jagged1 (Jag1) индуцирует экспрессию Notch3 и Jag1 в совместно культивируемых гладкомышечных клетках, что стимулирует их дифференцировку посредством ауторегуляции.

Целью исследования являлся анализ влияния подавления лиганда Jag1/ рецептора Notch3 сигнального пути Notch в эндотелиальных клетках на остеогенную дифференцировку клеток мезенхимного происхождения при совместном культивировании в прямом контакте. В качестве клеток мезенхимного происхождения использовались культуры первичных остеобластов в со-культивировании с клетками эндотелия пупочной вены человека (HUVECs). Эндотелиальные клетки были модифицированы путем трансдукции лентивирусами, кодирующими короткую шпилечную РНК. Запуск остеогенной дифференцировки осуществлялся по стандартному протоколу добавлением 100 нМ дексаметазона, 50 мкМ аскорбиновой кислоты и 10 мМ β -глицерофосфата в питательную среду. Остеогенная дифференцировка была проанализирована с помощью окраски ализариновым красным. Анализ экспрессии генов в модифицированных эндотелиальных клетках осуществлялся методом количественной ПЦР.

Активация сигнального пути Notch посредством введения внутриклеточного домена NICD3 в эндотелиальных клетках усиливает остеогенную дифференцировку со-культуры и приводит к значительному повышению экспрессии *JAG1* в эндотелиальных клетках, что свидетельствует о положительном потенциальном влиянии NICD3 через активацию Jag1 в эндотелии на остео-дифференцировку. При нокдауне рецептора Notch3 происходит подавление остеогенной дифференцировки со-культуры и экспрессии таргетного гена сигнального пути Notch – *HEY1* в эндотелиальных клетках, а также снижение экспрессии лиганда *JAG1* на ранних временных точках (6-12 часов) с последующим восстановлением уровня экспрессии, что указывает на его ауторегуляцию. В случае нокдауна самого лиганда Jag1 в эндотелиальных клетках не происходит подавление экспрессии *HEY1* и *JAG1*, отсутствует заметное подавление остеогенной дифференцировки со-культуры. Однако сайленсинг Jag1 в эндотелиальных клетках приводит к уменьшению уровня экспрессии компонентов сигнального пути Notch: *hNOTCH1-4*, *DLL4*, а также эндотелиальных маркеров *CD31*, *CD144* и *vWF*, что свидетельствует об эндотелиально-мезенхимном переходе.

Исследование выполняется при финансовой поддержке гранта РФФ, № 23-15-00320.