

MC1R RIDUCE LA MIGRAZIONE DELLE CELLULE MUSCOLARI LISCE AORTICHE MODULANDO LA VIA DI SEGNALAZIONE HSF1/p38-MAPK

Valentina Alfieri^{1,2}, Federica Saporiti², Fabrizio Ferrari², Luca Piacentini², Elisa Bono², Mattia Chiesa², Marina Camera^{1,2}, Gualtiero I. Colombo²

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi, Milano

²Unità di Immunologia e Genomica Funzionale, Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milano

INTRODUZIONE: Il recettore-1 melanocortinico (MC1R) è un recettore accoppiato a proteine-G e appartiene ad un sistema ormonale che svolge diverse funzioni omeostatiche e protettive [1-3], inclusa la regolazione della migrazione cellulare. L'ormone α -melanotropo (α -MSH), principale agonista fisiologico di MC1R, riduce la migrazione di cellule infiammatorie/immunitarie come monociti, linfociti, neutrofili [1] ed eosinofili [4]. La migrazione di cellule muscolari lisce (SMC) è uno dei principali eventi alla base del rimodellamento vascolare patologico ed è importante trovare bersagli molecolari per prevenire questo processo. In questo studio, abbiamo valutato se SMC aortiche umane (HAoSMC) esprimessero MC1R e se la sua attivazione potesse controllare la loro migrazione.

METODI: Abbiamo analizzato espressione e funzionalità di MC1R mediante RT-qPCR, western blot (WB) e misura della produzione di cAMP. Abbiamo valutato la migrazione delle HAoSMC sia con saggio direzionale (gap closure) che con saggio chemiotattico verso PDGF-BB (sistema Transwell). In esperimenti tempo-risposta, abbiamo analizzato effetti trascrizionali e vie di segnalazione del recettore mediante sequenziamento dell'RNA e WB.

RISULTATI: HAoSMC esprimono MC1R funzionalmente attivo. Nel saggio di migrazione direzionale, il trattamento con dosi fisiologiche di α -MSH riduce la velocità di chiusura del fronte cellulare, con un picco del 20% tra le 9-12 ore ($p < 0.01$ vs. cellule non trattate). Nel saggio di chemiotassi, abbiamo osservato una riduzione del 40% nella migrazione a 24h dal trattamento ($p < 0.01$). Il pretrattamento con MSG-606, antagonista specifico di MC1R, preveniva l'inibizione della migrazione cellulare. I dati di sequenziamento dell'RNA mostravano diminuita espressione di geni coinvolti nella migrazione delle SMC, in particolare quelli sotto il controllo di fattori trascrizionali quali HSF1. Questo è direttamente collegato alla via di segnalazione delle MAPK [5]. In effetti abbiamo osservato mediante WB che la fosforilazione di p38-MAPK, solitamente associata alla migrazione delle SMC [6], era significativamente ridotta dal trattamento con α -MSH ($p < 0.05$), così come l'espressione di HSF1. La defosforilazione di p38-MAPK era prevenuta dal pretrattamento con MSG-606.

CONCLUSIONI: Questo studio mostra che l'attivazione di MC1R modula la migrazione delle SMC attraverso la via di segnalazione HSF1/p38-MAPK. Ciò rivela una nuova funzione per i recettori melanocortinici periferici, che può influenzare il rimodellamento vascolare controllando la migrazione delle SMC.

1. Catania, A., et al., Targeting melanocortin receptors as a novel strategy to control inflammation, *Pharmacol Rev* 2004. 56(1): p. 1-29.

2. Cone, R.D., Studies on the physiological functions of the melanocortin system. *Endocr Rev*, 2006. 27(7): p. 736-49.

3. Garcia-Borron, J.C., B.L. Sanchez-Laorden, and C. Jimenez-Cervantes, Melanocortin-1 receptor structure and functional regulation. *Pigment Cell Res*, 2005. 18(6): p. 393-410.

4. Raap, U., et al., Alpha-melanocyte-stimulating hormone inhibits allergic airway inflammation. *J Immunol*, 2003. 171(1): p. 353-9.

5. Salinthon, S., M. Tyagi, and W.T. Gerthoffer, Small heat shock proteins in smooth muscle. *Pharmacol Ther*, 2008. 119(1): p. 44-54.

6. Wang, Z., M.R. Castresana, and W.H. Newman, Reactive oxygen species-sensitive p38 MAPK controls thrombin-induced migration of vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2004. 36(1): p. 49-56.