

О СИНТЕЗЕ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫМИ ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ

Ю. Т. АЛЕКСАНЯН

В работе приводятся данные о способности опухолевых клеток в культуре синтезировать сывороточные белки. Рассматривается значение этих белков для маркирования длительно культивируемых опухолевых клеток.

Одной из актуальных задач молекулярно-клеточной биологии является иммунологический анализ способности культивируемых опухолевых клеток синтезировать альфа-фетопротейн и другие сывороточные белки.

В 1963 г. Г. И. Абелевым с сотр. было установлено, что в печени новорожденных мышей в большом количестве содержится антиген, который ранее считался специфичным для мышинной гепатомы [1]. Этот антиген был идентифицирован как нормальный компонент сыворотки плода—эмбриоспецифический глобулин (альфа-фетопротейн). Концентрация его в сыворотке мышей—носителей гепатомы была выше, чем в самой опухоли. Был сделан вывод, что альфа-фетопротейн синтезируется клетками гепатомы и секретирует в кровь и, таким образом, является специфическим секретлируемым белком, синтез которого возобновляется в клетках печени при их малигнизации [2]. В дальнейшем тест на выявление альфа-фетопротейна приобрел большое практическое значение при диагностике первичного рака печени и тератобластом [9, 12, 17].

Изучение альфа-фетопротейна представляет также значительный теоретический интерес. Считается, что «...эмбриоспецифические антигены являются уникальной моделью для исследования механизмов, участвующих в регуляции белкового синтеза в онтогенезе и при злокачественной трансформации тканей» [1]. Существует представление, согласно которому эпигеномные изменения играют огромную роль в механизмах канцерогенеза [5, 8, 10]. Они обусловлены стойкими изменениями уровней и характера регуляции транскрипции при неизменном генотипе. Поскольку неопластическая трансформация клетки означает нарушение дифференцировки, а не просто возврат к эмбриональному состоянию, следует признать правильным использование термина дисдифференцировка [3]. Способность опухолевых клеток синтезировать эмбриональные антигены, по-видимому, свидетельствует об эпигеном-

ных изменениях в клетках при их малигнизации. Думается, что роль этих изменений в механизмах малигнизации если не решающая, то, по-видимому, весьма значительная и, следовательно, детальное изучение этого вопроса поможет понять сущность злокачественного роста. В этом аспекте значительный интерес представляет вопрос об использовании альфа-фетопротейна в качестве маркера при изучении дифференцировочных процессов в нормальных и опухолевых тканях [14].

Для иммунобиологической характеристики опухолевых клеток большое значение имеет изучение способности этих клеток при культивировании вне организма синтезировать альфа-фетопротейн, однако литература по этому вопросу представлена единичными данными.

В целях исследования способности культивируемых клеток асцитной формы перевиваемой мышинной гепатомы XXIIa синтезировать альфа-фетопротейн были получены три штамма культур асцитной гепатомы [16]. В течение первых недель роста они синтезировали альфа-фетопротейн, однако по мере дальнейшего пассирования утрачивали эту способность. Следует отметить, что в двух культурах произошла обратимая утрата способности синтезировать альфа-фетопротейн (у мышей при прививке культивируемых клеток образовывались опухоли и в сыворотках мышей-опухоленосителей обнаруживался альфа-фетопротейн). В третьей же культуре утрата синтеза альфа-фетопротейна оказалась необратимой. Однако опухоли, возникшие от прививки клеток этой культуры, хотя и не продуцировали альфа-фетопротейн, продолжали оставаться гепатомами. Авторами высказано мнение, что утрата культивируемыми клетками способности к синтезу этого белка связана с условиями роста клеток вне организма.

Синтез альфа-фетопротейна был выявлен также в культуре клеток рака печени человека [18]. Опухоли различных локализаций в отношении их способности синтезировать альфа-фетопротейн изучены еще не полностью. В этом аспекте определенный интерес представляет работа [15], авторы которой изучали наличие этого белка в культурах, полученных из тканей человеческого зародыша. С помощью методов иммуноавторадиографии и иммуноэлектрофореза альфа-фетопротейн был обнаружен в культурах, полученных из тканей печени, желточного мешка и желудочно-кишечного тракта. В культурах же из тканей других органов он не был обнаружен. Эти данные в определенной мере свидетельствуют о большей вероятности появления опухолей, синтезирующих альфа-фетопротейн, в желудочно-кишечном тракте (включая и печень), чем в других органах и тканях организма.

Нами была изучена возможность синтеза альфа-фетопротейна клетками линии МГХХIIa, полученной из солидной формы перевиваемой мышинной гепатомы XXIIa [4]. С помощью метода иммуноавторадиографии [11] было показано, что клетки гепатомы на протяжении трех лет культивирования сохраняли способность синтезировать альфа-фетопротейн. Была установлена также способность клеток клоновой культуры линии МГХХIIa (клоновая культура получена на третьем году

культивирования клеток гепатомы) продуцировать этот белок. Как показали наши последующие исследования, в культуральной среде клеток гепатомы, находящихся на 5-м году культивирования, методом иммуноавтордиографии альфа-фетопротени не обнаруживается. Однако этот белок выявляется методом микропреципитации в агаре с помощью тест-системы в сыворотках мышей с опухолями, образовавшимися после прививки клеток гепатомы тех же сроков культивирования. Эти данные свидетельствуют о том, что на 5-м году культивирования утрата клетками гепатомы способности синтезировать альфа-фетопротени носила обратимый характер. Однако на 8-м году культивирования отмечалась необратимая супрессия синтеза этого белка.

Следует отметить, что для разработки проблемы иммунобиологии опухолевых клеток огромное значение имеет выяснение вопроса о сохранении или утрате опухолеспецифических антигенов длительно культивируемых опухолевых клеток. Синтез альфа-фетопротенина опухолевой клеткой является иммунологическим проявлением процесса дифференцировки при малигнизации. Поэтому большое значение приобретает изучение способности культивируемых клеток синтезировать эмбриоспецифические белки. Это открывает возможность для изучения на молекулярно-клеточном уровне механизмов регуляции синтеза клетками эмбриональных белков, а также факторов, играющих роль в этом процессе. Культивирование опухолевых клеток, обладающих способностью синтезировать эмбриональные белки, имеет определенное значение для выяснения вопроса о том, является ли синтез эмбриоспецифических белков лишь характерным признаком опухолевых клеток или же отражает саму сущность злокачественного роста. В опытах Ирлина и соавт. [16], как было отмечено, одна из культур гепатоминых клеток утратила способность синтезировать альфа-фетопротенин, однако опухоли, возникшие от прививки клеток этой культуры, хотя и не синтезировали этот белок, тем не менее продолжали оставаться гепатомами. Нами было показано, что при прививке мышам клеток гепатомы, находящихся на 8-м году культивирования, образовывались опухоли, но они не продуцировали альфа-фетопротенин. В этом же аспекте интересны данные о существовании «сероположительных» и «сероотрицательных» гепатом, т. е. гепатом, продуцирующих и не продуцирующих альфа-фетопротенин [1]. Учитывая эти соображения, можно, по-видимому, предположить, что синтез альфа-фетопротенина является характерным, но не обязательным признаком малигнизированной клетки.

Сохранение или утрата способности синтезировать альфа-фетопротенин длительно культивируемыми опухолевыми клетками, по-видимому, зависит от самой ткани и клеток, используемых для эксплантации. Иначе трудно объяснить причину сохранения в течение нескольких лет

Работа по изучению способности клеток линии МГХХ1а синтезировать альфа-фетопротенин, альбумин и трансферрин выполнена нами в лаборатории иммунохимии опухолей ОНЦ АМН СССР.

способности к синтезу альфа-фетопротейна клетками линии МГХХIIa, полученными из солидной формы мышинной гепатомы ХХIIa, и утрату через несколько недель этой способности клетками, полученными из асцитной формы той же гепатомы. Определенную роль, по-видимому, играют также какие-то факторы, влияющие на клетки в условиях культивирования их вне организма.

В последнее время способность культивируемых клеток продуцировать альфа-фетопротейн была использована в качестве маркера при гибридизации культивируемых соматических клеток [6]. В этом аспекте значительный интерес представляет также способность культивируемых клеток синтезировать другие сывороточные белки.

Показано, что культуры эмбриональной мышинной печени сохраняют способность синтезировать сывороточный альбумин [7]. Культуры, полученные из асцитной формы перевиваемой мышинной гепатомы ХХIIa, постоянно на протяжении многих месяцев синтезировали характерные белки сыворотки (альбумин и трансферрин) [16]. Исключение составляла одна культура, в которой на 7-й неделе культивирования прекратился синтез сывороточного альбумина.

Нами с помощью метода иммуноавторадиографии показано сохранение способности клеток гепатомы (клеток линии МГХХIIa), находящихся на 5-м и 8-м годах культивирования, синтезировать трансферрин. Этот белок синтезировался и клоновыми культурами, полученными на 8-м году культивирования клеток гепатомы. На 5-м году клетки гепатомы продолжали синтезировать альбумин, однако на 8-м году этот белок не синтезировался. С помощью метода иммуноавторадиографии трансферрин и альбумин были обнаружены также в культуральной среде эксплантата опухоли (1—3-й месяцы эксплантации клеток), образовавшейся у мышей линии СЗНА после прививки клеток гепатомы пятого года культивирования и пассированной в течение четырех генераций.

Сохранение синтеза трансферрина и альбумина длительно культивируемыми клетками мышинной гепатомы является одним из немногочисленных примеров сохранения органоспецифических свойств опухолевых клеток при их длительной эксплантации.

Способность культивируемых клеток крысиной гепатомы синтезировать альбумин была использована при изучении дифференцировочных процессов при гибридизации соматических клеток [13].

Таким образом, маркирование культивируемых опухолевых клеток по их способности синтезировать определенные сывороточные белки может быть широко использовано в целях изучения ряда вопросов экспериментальной онкологии, клеточной дифференцировки и генетики соматических клеток.

ԿՈՒՎՏԻՎԱՅՎՈՂ ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ
ՇԻՃՈՒԿԱՅԻՆ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԻ ՎԵՐԱԲԵՐՅԱԼ

ՅԵՒ. Ք. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ

Հոդվածում քննվում է շիճուկային սպիտակուցների (ալֆա-ֆետոպրոտեին, ալբումին, տրանսֆերին) սինթեզի հարցը երկարատև կուլտիվացվող ուսուցրային բջիջների կողմից:

Ներկայացված են տվյալներ կուլտիվացվող բջիջների դրոշմման նշանակության մասին՝ ըստ այդ սպիտակուցների սինթեզի:

ON THE SYNTHESIZE OF THE SERUM PROTEINS
BY CULTIVATED TUMOR CELLS

Yu. T. ALEKSANYAN

The data on the ability of tumor cells to synthesise serum proteins in culture are cited. The significance of the protein study for marking the long cultivated tumor cells is considered.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абелев Г. И. Вестн. АМН СССР, 7, 49, 1970.
2. Абелев Г. И., Перова С. Д., Храмова Н. И., Постникова З. А., Ирлин И. С. Биохимия, 28, 4, 625, 1963.
3. Лшмарин И. П., Лызлова С. Н., Саямон Л. С. Цитология, 14, 12, 1538, 1972.
4. Басмаджян М. Е., Алексанян Ю. Т. Бюлл. exper биол., 10, 84, 1974.
5. Голубев Д. Б., Шлянкевич М. А. Современные аспекты вирусной теории происхождения злокачественных новообразований. Л., 1972.
6. Кассио Д. Тез. докл. XIV Междунар. генетич. конгр., 1, 399, 1978.
7. Лурия Е. А., Бакиров Р. Д., Абелев Г. И., Фриденштейн А. Я. Бюлл. exper. биол., 3, 95, 1969.
8. Саямон Л. С. Рак и дисфункция клетки. Л., 1974.
9. Татаринцов Ю. С., Ногаллер А. М. Вопр. онкологин, 12, 26, 1966.
10. Фель В. Я., Швембергер И. Н. Морфологическое и иммунологическое изучение цитодифференцировки экспериментальных опухолей. Л., 1968.
11. Эльгорт Д. А., Абелев Г. И. Бюлл. exper. биол., 2, 118, 1971.
12. Эльгорт Д. А., Абелев Г. И., О'Конор Г. Т. Вестн. АМН СССР, 10, 69, 1972.
13. Эфруси Б. Гибридизация соматических клеток. М., 1976.
14. Abelev G. I. Transplant. Rev., 20, 3, 1974.
15. Gittlin D., Perricelli A., Gittlin G. Cancer Res., 32, 5, 979, 1972.
16. Irllin I. S., Perova S. D., Abelev G. I. Int. J. Cancer, 1, 337, 1966.
17. O'Connor G. T., Tatarinow Yu. S., Abelev G. I., Uriel I. Cancer, 25, 5, 1091, 1970.
18. Quelin S., Rioche M., Bresson Y., Masseur R. C. R. Acad. Sci., 274, 5, 768, 1972