

УДК 616—006.6—018.1

Ю. Т. АЛЕКСАНЯН

О НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ДЛИТЕЛЬНО КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК МЫШИНОЙ ГЕПАТОМЫ XXIIa*

Показана высокая пролиферативная активность длительно выращиваемых вне организма клеток гепатомы XXIIa. Установлено, что клетки гепатомы, находящиеся как на 5-ом, так и на 8-ом году культивирования, сохраняют злокачественность.

Исследование биологических свойств длительно культивируемых вне организма опухолевых клеток представляет значительный интерес для разработки ряда вопросов генетики соматических клеток, онкологии, вирусологии и т. д. [2, 3, 5]. Однако в литературе имеются довольно противоречивые данные о биологических свойствах опухолевых клеток в культуре, в частности, о сохранении или утрате их злокачественности [4, 6—10].

Задачей настоящей работы являлось изучение пролиферативной активности и злокачественности длительно культивируемых вне организма клеток мышинной гепатомы XXIIa.

Методика исследований

В качестве объектов для изучения были использованы клеточная линия МГХХIIa, полученная нами из солидной формы мышинной гепатомы XXIIa [1], предоставленные Институтом цитологии АН СССР две клоновые культуры (А и В), полученные из клеточной линии МГХХIIa на 8-ом году культивирования клеток. Клетки культивировали на питательной среде следующего состава: среда 199—80%; сыворотка крупного рогатого скота—20%. Для изучения пролиферативной активности культивируемых клеток производили дозированный засев ($3 \cdot 10^4$, $5 \cdot 10^4$, 10^5 клеток в 1 мл питательной среды) с последующим определением коэффициента пролиферации клеток на 3, 4, 5, 6 и 7-й дни культивирования. Злокачественность клеток гепатомы, находящихся как на 5-, так и на 8-ом году культивирования, а также клеток клоновых куль-

* Работа выполнена в группе клеточной фармакологии Онкологического научного центра АМН СССР. Выражаем глубокую благодарность доктору медицинских наук Я. В. Добрынину за любезно предоставленные возможности для выполнения настоящей работы.

тур, вводимых мышам линии СЗНА в дозах 10^2 — 10^6 , определяли по их прививаемости. С целью исследования характера изменчивости культивируемых клеток гепатомы определяли пролиферативную активность экплантированных клеток опухолей, образовавшихся у мышей линии СЗНА после прививки клеток гепатомы на 5- и 8-ом годах культивирования и пассированных в течение 3 генераций.

Результаты исследований и обсуждение

В табл. 1 представлены результаты изучения пролиферативной активности клеток гепатомы на 5-ом (55-й месяц), 8-ом году культивирования (92-й месяц) и клоновых культур. Из приведенных данных следует, что клетки гепатомы, находящиеся как на 5-ом, так и на 8-ом году культивирования, а также клетки клоновых культур характеризовались высокой пролиферативной активностью. Следует отметить, что максимальная пролиферативная активность (коэффициент пролиферации 8,2—9) отмечена на 7-й день культивирования при засеве клеток в дозе $5 \cdot 10^4$ в 1 мл питательной среды. При засеве клеток в дозах $3 \cdot 10^4$ и 10^5 в 1 мл питательной среды коэффициент пролиферации не превышал 8,1.

В табл. 2 представлены данные о злокачественности длительно выращиваемых вне организма клеток гепатомы ХХIIа. Из приведенных результатов следует, что прививка мышам клеток гепатомы, находящихся как на 5-, так и на 8-ом году культивирования, а также клеток клоновых культур А и В в дозе 10^6 приводила к образованию опухолей в 100% случаев. 100% прививаемость при прививке 10^5 клеток отмечена и для клеток гепатомы на 5- и 8-ом годах культивирования и клоновой культуры А. При прививке клеток гепатомы в дозах 10^3 — 10^4 опухоли образовывались лишь у части привитых животных. При использовании клеток гепатомы в дозе 10^2 ни в одном случае не отмечено появления опухолей. Не наблюдалось случаев спонтанной регрессии выросших опухолей. Приведенные данные, свидетельствующие о сохранении злокачественности длительно культивируемых клеток гепатомы ХХIIа, подтверждают имеющиеся в литературе сведения по этому вопросу [4, 7, 8]. Ранее нами была отмечена 100% прививаемость клеток гепатомы ХХIIа на 1-ом году культивирования, вводимых мышам в дозах 10^2 — 10^6 [1]. Результаты изучения злокачественности клеток гепатомы на 5- и 8-ом годах культивирования свидетельствуют также о некотором ослаблении злокачественности этих клеток. Возможно, что в механизме ослабления онкогенности культивируемых опухолевых клеток, выявляемой биопробой на злокачественность, определенная роль принадлежит действию новых антигенов, возможность возникновения которых в процессе длительного культивирования опухолевых клеток не может быть исключена. В частности, нельзя не принимать во внимание возможный занос вирусов в культуру, и, как следствие этого процесса, появление вирусиндуцированных трансплантационных антигенов. Следует иметь в виду также возможность образования новых

Таблица 1

Проллиферативная активность культивируемых клеток гепатомы XXIIa

Дни культивирования клеток	Засев клеток в дозе $5 \cdot 10^4$ в 1 мл питательной среды			
	коэффициент пролиферации клеток гепатомы на 5-ом году культивирования (55-й месяц)	коэффициент пролиферации клеток гепатомы на 8-ом году культивирования (92-й месяц)	коэффициент пролиферации клеток клоновой культуры А	коэффициент пролиферации клеток клоновой культуры В
3	2,9	2,7	2,8	3
4	4,2	4,5	4,3	4,2
5	5,7	5,9	5,5	5,8
6	7,1	7,6	6,8	7,2
7	8,5	9	8,2	8,7

Таблица 2

Злокачественность длительно культивируемых клеток мышинной гепатомы XXIIa

Сроки культивирования клеток	Дозы прививаемых клеток									
	10^2		10^3		10^4		10^5		10^6	
	количество животных	прививаемость в %	количество животных	прививаемость в %	количество животных	прививаемость в %	количество животных	прививаемость в %	количество животных	прививаемость в %
5-й год культивирования (55-й месяц)	20	0	10	20	8	50	18	100	10	100
8-й год культивирования (92-й месяц)	10	0	10	10	10	40	12	100	10	100
Клоновая культура А (8-й год культивирования)	10	0	10	0	8	37,5	9	100	10	100
Клоновая культура В (8-й год культивирования)	10	0	10	10	10	30	8	87,5	10	100

антигенов в культивируемых клетках вследствие мутационного процесса. По-видимому, в процессе культивирования клеток новые антигены появляются гораздо чаще, чем об этом можно было бы судить по результатам прививаемости опухолевых клеток. В подобных случаях следует допустить появление в культивируемых клетках «слабых» антигенов, действие которых не сказывается на результатах прививаемости клеток. Для выяснения конкретных механизмов утраты или ослабления злокачественности длительно культивируемых клеток опухолевого происхождения необходимо проведение специальных исследований. В плане характеристики биологических свойств опухолевых клеток в культуре интересно отметить, что, несмотря на некоторое ослабление злокачественности длительно выращиваемых вне организма клеток гепатомы, они характеризовались высокой пролиферативной активностью.

Эксплантированные клетки опухолей, образовавшихся у мышей СЗНА после прививки клеток гепатомы на 5-ом году культивирования и пассированных в течение 3 генераций, заседали в дозе $5 \cdot 10^4$ в 1 мл питательной среды. Коэффициент пролиферации на 7-й день эксплантации клеток был равен 8,1. Коэффициент пролиферации эксплантированных клеток опухолей, образовавшихся у мышей СЗНА после прививки клеток гепатомы на 8-ом году культивирования и пассированных в течение 3 генераций, при той же дозе засева клеток на 7-й день культивирования был равен 8,6. Высокая пролиферативная активность реэксплантированных клеток гепатомы XXIIa в отличие от пролиферативной активности клеток первичных культур этой опухоли [1], по-видимому, свидетельствует об изменениях наследственности длительно культивируемых опухолевых клеток.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать заключение о том, что длительно культивируемые клетки гепатомы XXIIa характеризовались высокой пролиферативной активностью. Свойство злокачественности длительно выращиваемых вне организма клеток гепатомы можно использовать в качестве биологического маркера этих клеток.

Институт экспериментальной биологии АН Арм. ССР

Поступила 5/VII 1978 г.

ՏՈՒ Ք. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ

ԵՐԿԱՐԱՏԵՎ ԱՃԵՑՎՈՂ ՄԿԵԱՅԻՆ XXIIa ՀԵՊԱՏՈՄԱՅԻ ԲԶԻԶՆԵՐԻ ՈՐՈՇ ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Օրգանիզմից դուրս երկարատև աճեցվող (աճեցման 5-րդ և 8-րդ տարիները) մկնային XXIIa հեպատոմայի բջիջները բնութագրվում են բարձր բազմացման ակտիվությամբ:

Գծային СЗНА մկնորին, ինչպես աճեցման 5-րդ, այնպես էլ 8-րդ տարում գտնվող հեպատոմայի բջիջների պատվաստման դեպքում առաջանում են ուռուցքներ:

ON SOME BIOLOGICAL PROPERTIES OF PROLONGED
CULTIVATED CELLS OF MOUSE HEPATOMA XXII α

The prolonged cultivated cells (5-th and 8-th years of cultivation) of mouse hepatoma XXII α are characterized by high proliferative activity.

Inoculations of prolonged cultivated cells of hepatoma XXII α to the mouse of the C3HA line led to formation of tumours.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексанян Ю. Т., Басмаджян М. Е., Мовсезян К. С., Манукян Л. А., Геворкян С. К. Бюлл. exper. биол., 1972, 5, стр. 94.
2. Анджапаридзе О. Г., Гаврилов В. И., Семенов Б. Ф., Степанова Л. Г. Культура ткани в вирусологических исследованиях. М., 1962.
3. Добрынин Я. В. Вопросы онкологии, 1973, 4, стр. 98.
4. Левина Д. М., Парнес В. А., Исаева О. П., Варшавский А. Г., Гаврилов В. И., Плещивцева В. В., Блюмкин В. Н. Вопросы онкологии, 1969, 9, стр. 111.
5. Тимофеевский А. Д. В сб.: Труды VII итоговой научной конференции Ин-та экспериментальной и клинической онкологии АМН СССР. М., 1971, стр. 281.
6. Castell L., Marcante M., Caputo A. Z. Krebsforsch. und Klinische Onkol., 1973, 79, 4, 224.
7. Makino S., Sasaki K., Machara N., Nakamura N., Kasahara Sh. Kitasato Arch. Exptl. Med., 1968, 41, 3-4, 113.
8. Plata E. J., Aoki T., Robertson D. D., Chu E. W., Gerweil B. J. J. Nat. Cancer Inst., 1973, 50, 4, 849.
9. Southam Ch. Europ. J. Cancer, 1968, 4, 5, 507.
10. Yerganian G., Nell M., Cho S., Hayford A. H., Ho T. Nat. Cancer Inst. Monogr., 1968, 29, 241.