

Сравнение влияния мезенхимальных стволовых клеток и альфа ИФН на функционирование популяции опухолевых клеток линии MCF-7

Т.С. ГЕРГЕЛЮК, Е.М. ПЕРЕПЕЛИЦЫНА, М.В. СИДОРЕНКО

ГУ «Отделение биотехнических проблем диагностики

Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины», г. Киев

Comparison of Mesenchymal Stem Cells and α IFN Effects on Functioning of MCF-7 Cancer Cell Population

T.S. GERGELYUK, E.M. PEREPELTSYNA, M.V. SIDORENKO

Department of Biotechnical Problems of Diagnostics at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

Практическое применение стволовых клеток (СК) и препаратов клеточного происхождения приобрело наибольшее распространение для решения задач иммунологии, онкологии, гематологии и трансфузиологии. При этом используются как пролиферативные и дифференциальные свойства СК, так и их секреторные возможности. В то же время существуют опасения относительно неоднозначной роли мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в опухолевом процессе. Поэтому данная работа посвящена исследованию посредников и механизмов влияния МСК на опухолевую популяцию клеток линии MCF-7 (аденокарцинома молочной железы).

Известно, что МСК продуцируют широкий спектр цитокинов и хемокинов, обеспечивая гуморальное микроокружение клеток. В частности МСК продуцируют фактор некроза опухолей (TNF- α), IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, альфа ИФН. Нами было проведено сравнение пролиферации, адгезии, выживаемости и антигенного профиля клеток аденокарциномы при культивировании со средой, кондиционированной МСК (К-средой) и альфа ИФН. Клетки линии MCF-7 были получены из Банка клеток и тканей человека и животных ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого, МСК предоставлены Институтом проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.

MCF-7 культивировали 48 ч перед экспериментом и 48 ч в эксперименте, МСК – 4–6 пассажей. При этом К-среду отбирали при каждом пассаже, центрифугировали и надосадок использовали в последующем эксперименте. К одним образцам монослойной культуры клеток MCF-7 при смене среды добавляли К-среду в соотношении 1:1 со свежей средой. Другие образцы MCF-7 культивировали 48 ч с альфа ИФН в концентрации 10^4 МЕ/мл. Затем выживаемость опухолевых клеток исследовали с помощью МТТ-теста, интенсивность пролиферации и распределение на адгезивную и суспензионную фракции – путем подсчета с использованием трипанового синего. Экспрессию клетками MCF-7 эстрогенового рецептора, рецептора эпидермального фактора роста, цитокератинов A1/A2, 5, 6, 8, 18 и E-кадгерина определяли с помощью иммуноцитохимии.

В результате было выявлено, что К-среда тормозит пролиферативную активность MCF-7, повышает адгезивные свойства клеток, супрессирует способность к миграции, а также снижает экспрессию эстрогенового рецептора и рецептора эпидермального фактора роста. Экспрессия E-кадгерина и цитокератинов, наоборот, повышалась, что является позитивным признаком для опухолевых клеток эпителиального генеза. Аналогичные, но более выраженные тенденции влияния на опухолевую популяцию продемонстрировал альфа ИФН. Это позволяет предположить, что альфа ИФН является одним из посредников противоопухолевого влияния МСК.

The practical application of stem cells (SCs) and preparations of cell origin has become the most widely spread in solving the tasks of immunology, oncology, hematology and transfusiology. Herewith there are used both proliferative, differentiated properties of SCs and their secretory possibilities. At the same time, there are concerns about an ambiguous role of mesenchymal stem cells (MSCs) in tumour process. Therefore, this work is devoted to study the mediators and mechanisms of MSCs effect on MCF-7 cancer cell line population (breast adenocarcinoma).

The MSCs are known to produce a wide range of cytokines and chemokines, by providing a humoral micro-environment of cells. In particular, MSCs produce the tumor necrosis factor (TNF- α), IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, α IFN. We compared the proliferation, adhesion, survival and antigenic profile of adenocarcinoma cells when cultured with MSCs-conditioned medium (K-medium) and α IFN. The MCF-7 cells were received from the Human and Animal Cell and Tissue Bank at R.E. Kavetsky Institute for Experimental Pathology, Oncology and Radiology of National Academy of Sciences of Ukraine, the MSCs were kindly provided by the Department of Cryobiochemistry at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine.

The MCF-7 were cultured within 48 hrs prior to and 48 hrs during the experiment, the MSCs were cultured for 4–6 passages. K-medium was collected at each passage, centrifuged and the supernatant was used in following experiment. During changing the culture medium into some samples of MCF-7 cell monolayer culture we added K-medium in 1:1 ratio with fresh medium. Other MCF-7 samples were cultured for 48 hrs with alpha interferon in 10^4 IU/ml concentration. Then the tumor cell survival was studied with the MTT-test, the proliferation intensity and distribution in adhesive and suspended fractions were examined by counting with trypan blue. The expression on MCF-7 cells of estrogen receptor, epidermal growth factor receptor, cytokeratins A1/A2, 5, 6, 8, 18, and E-cadherin was characterized using immunocytochemistry.

As a result, the K-medium was revealed to inhibit the MCF-7 proliferative activity, increase the adhesive properties of cells, to suppress the ability for migration, as well as to reduce the expression of estrogen receptor and that of epidermal growth factor. The expression of E-cadherin and cytokeratins, conversely, increased, that was a positive sign for tumor cells of epithelial origin. Similar but more pronounced tendencies of the effect on tumor population were demonstrated by α IFN. This enables to suggest α IFN to be one of the mediators of MSCs anti-tumoral effect.