



УДК 615.277.3

Гетерогенность популяции клеток линии A431 карциномы кожи человека по устойчивости к противораковому цитокину TRAIL

Н. В. Долгих¹, А. В. Чеканов¹, В. С. Акатов^{1,2}

¹Пуцинский государственный естественно-научный институт, Пуццино

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуццино
E-mail: n.v.dolgikh@gmail.com

Аннотация. Чувствительность опухолевых клеток к TRAIL-индуцированному апоптозу является ключевым фактором эффективности противоопухолевой терапии на основе рекомбинантного белка TRAIL. Показано, что из популяции опухолевых клеток линии A431 можно получить стабильные TRAIL-чувствительные и TRAIL-резистентные сублинии. Подобные сублинии являются удобным инструментом для изучения механизмов чувствительности и резистентности опухолевых клеток к TRAIL.

Ключевые слова: противораковый белок TRAIL, опухолевые клетки, резистентность, конфлюэнтная культура.

Белок TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) является членом семейства фактора некроза опухолей и способен вызывать апоптотическую гибель опухолевых клеток путём связывания со специфическими рецепторами клеточной гибели DR4 и DR5 [2]. Способность TRAIL селективно элиминировать опухолевые клетки привела к появлению терапевтических агентов на основе TRAIL, таких, как рекомбинантные белки TRAIL. Некоторые из этих терапевтических агентов на основе TRAIL в настоящее время проходят клинические испытания [1]. К сожалению, эти испытания показывают слабую терапевтическую активность рекомбинантных белков TRAIL, несмотря на то, что *in vitro* эти белки высокоэффективны и избирательны по отношению к раковым клеткам. Это определяет актуальность выяснения причин резистентности раковых клеток к белкам TRAIL.

Ранее нами была показана зависимость чувствительности опухолевых клеток к действию белка TRAIL от плотности культуры [3]. Установлено, что при увеличении плотности культуры клеток в результате их роста и пролиферации до образования конфлюэнта (монослоя слившихся клеток) значительно возрастает резистентность клеток к белку TRAIL [3]. Так, клетки карциномы кожи человека (линия A431) являются чувствительными к действию TRAIL в редкой культуре и абсолютно резистентными в конфлюэнтной культуре [4]. Конфлюэнтная резистентность является одной из форм

многоклеточной резистентности опухолевых клеток к лекарственным препаратам, которая способна радикально подавить терапевтическую эффективность рекомбинантных белков TRAIL и других препаратов. Поэтому изучение механизмов резистентности и чувствительности опухолевых клеток к лиганду TRAIL в зависимости от плотности клеток является одной из ключевых задач противоопухолевой терапии.

Мы предположили, что популяция клеток A431 может быть гетерогенна по чувствительности к TRAIL, поскольку в конфлюентной культуре A431 наблюдается незначительный процент погибших от действия TRAIL клеток, а часть популяции в редкой культуре способна выжить даже после действия высоких концентраций TRAIL. Исходя из этого наблюдения, мы предположили, что можно получить TRAIL-чувствительные и TRAIL-резистентные сублинии клеток A431. Данные сублинии являются важными моделями для изучения механизмов конфлюентной резистентности к TRAIL.

Для получения TRAIL-чувствительной сублинии клетки исходной линии A431 высевались на 100 мм чашку Петри диаметром 100 мм в концентрации 10 клеток/мл, клетки выращивались до образования клонов. Далее каждый клон оценивался по чувствительности к белку TRAIL в состоянии конфлюентной культуры. В результате был отобран клон, клетки которого в конфлюентной культуре были чувствительны к TRAIL. Так была получена стабильная TRAIL-чувствительная сублиния, утратившая свойство конфлюентной резистентности, в отличие от исходной линии.

Для получения TRAIL-резистентной сублинии клетки в редкой культуре подвергались инкубации с белком TRAIL в концентрации 100 нг/мл, затем выжившие клетки выращивали и вновь инкубировали с TRAIL. В результате была получена стабильная TRAIL-резистентная сублиния, нечувствительная к действию белка TRAIL в редкой культуре и, соответственно, в конфлюентной культуре.

Таким образом, клетки TRAIL-резистентной сублинии являются абсолютно резистентными к TRAIL как в редкой, так и в конфлюентной культуре, а клетки TRAIL-резистентной сублинии утратили свойство конфлюентной резистентности присущей исходной линии A431, что говорит о гетерогенности исходной популяции клеток, в которой присутствуют как TRAIL-чувствительные, так и TRAIL-резистентные клоны.

Полученные результаты указывают на то, что феномен конфлюентной резистентности не является строгой характеристикой постоянных линий опухолевых клеток и может быть утрачен в результате сочетания дрейфа трансформации этих клеток и их отбора под давлением внешних условий. В результате селекции можно отобрать клоны, отличающиеся от нормы в сторону большей или меньшей чувствительности к TRAIL. В конфлюентной культуре есть полностью чувствительные и полностью резистентные к TRAIL субпопуляции. Полученные клеточные сублинии являются удобным инструментом для дальнейшего изучения механизмов резистентности/чувствительности к TRAIL. Получение сублиний, различающихся по чувствительности к TRAIL, позволит приблизиться к пониманию причин

возникновения и утраты конфлюэнтной резистентности к TRAIL, что является важным для разработки стратегий и схем лечения на основе рекомбинантного белка TRAIL.

Список литературы

1. Повышение резистентности опухолевых клеток линии A431 К TRAIL-индуцированному апоптозу в конфлюэнтных культурах / Р. С. Фадеев [и др.] // Биофизика. – 2012. – Т. 57, № 4. – С. 649–654.
2. Резистентность опухолевых клеток к TRAIL-индуцированному апоптозу в конфлюэнтных культурах / Р. С. Фадеев [и др.] // Биологические мембраны. – 2012. – Т. 29, № 6. – С. 433–441.
3. Ashkenazi A. To kill a tumor cell: the potential of proapoptotic receptor agonists / A. Ashkenazi, R. S. Herbst // J. Clin. Invest. – 2008. – Vol. 118. – P. 1979–1990.
4. Wiezorek J. Death receptor agonists as a targeted therapy for cancer / J. Wiezorek, P. Holland, J. Graves // Clin. Cancer Res. – 2010. – Vol. 16. – P. 1701–1708.

Heterogeneity of Population of A431 Human Skin Carcinoma Cells in Resistance Toward Anticancer Cytokine TRAIL

N. V. Dolgikh¹, A. V. Chekanov¹, V. S. Akatov^{1,2}

¹Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino

²Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino

Abstract. Sensitivity of tumor cells to TRAIL-induced apoptosis is a key factor in the effectiveness of anticancer therapy based on the recombinant protein TRAIL. It is shown that stable TRAIL-sensitive and TRAIL-resistant sublines can be obtained from the population of the tumor cell line A431. Such sublines are a convenient tool for studying the mechanisms of sensitivity and resistance of tumor cells to TRAIL.

Keywords: anticancer protein TRAIL, tumor cell resistance, confluent culture.

*Долгих Надежда Владимировна
аспирант
Пуцинский государственный
естественно-научный институт
142290, г. Пуцино, Московская обл.,
пр. Науки, 3
тел.: (4967) 73–94–52
e-mail: n.v.dolgikh@gmail.com*

*Dolgikh Nadezda Vladimirovna
Postgraduate
Pushchino State Institute
of Natural Sciences
3, Science av., Pushchino, Moscow reg.,
142290
tel.: (4967) 73–94–52
e-mail: n.v.dolgikh@gmail.com*

*Чеканов Алексей Владимирович
кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник
Пуцинский государственный
естественно-научный институт
142290, г. Пуцино, Московская обл., пр.
Науки, 3*

*Chekanov Aleksey Vladimirovich
Candidate of Sciences (Biology)
Senior Research Scientist
Pushchino State Institute of Natural
Sciences
3, Science av., Pushchino, Moscow reg.,
142290*

тел.: (4967) 73–94–52
e-mail: alex.256@yandex.ru

Акатов Владимир Семенович
доктор физико-математических наук,
профессор, заведующий лабораторией
Пушчинский государственный
естественно-научный институт
142290, г. Пушчино, Московская обл.,
пр. Науки, 3
тел.: (4967) 73–94–52
Институт теоретической
и экспериментальной биофизики РАН
142290, г. Пушчино, Московская обл.,
ул. Институтская, 3
e-mail: akatov.vladimir@gmail.com

tel.: (4967) 73–94–52
e-mail: alex.256@yandex.ru

Akatov Vladimir Semenovich
Doctor of Sciences (Physics and Mathe-
matics), Professor, Head of Laboratory
Pushchino State Institute of Natural
Sciences
3, Science av., Pushchino, Moscow reg.,
142290
tel.: (4967) 73–94–52
Institute of Theoretical and Experimental
Biophysics RAS
3, Institutskaya st., Pushchino, Moscow
reg., 142290
e-mail: akatov.vladimir@gmail.com