

УДК 616-006.04:618.19:615.373

Т.С. Гергелюк, О.М. Перепелиціна, М.В. Сидоренко

## ПОРІВНЯННЯ ВПЛИВУ КОНДИЦІЙОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА ВІД МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ЛЮДИНИ ТА ІНТЕРФЕРОНУ- $\alpha$ НА РОЗВИТОК ПОПУЛЯЦІЇ ПУХЛИННИХ КЛІТИН MCF-7

ДУ «Відділення біотехнічних проблем діагностики Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України», м. Київ

**Резюме.** Запропонована робота присвячена дослідженню посередників і механізмів впливу мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку (МСК КМ) людини на пухлинну популяцію клітин лінії MCF-7 (аденокарцинома молочної залози). При виконанні роботи авторами проведено порівняння впливу кондиційованого середовища (К-середовища) від МСК та інтерферону-альфа (ІФН- $\alpha$ ) на проліферацію, адгезію, виживаність та антигенний профіль клітин лінії MCF-7 аденокарциноми молочної залози. У результаті виявлено, що К-середовище від МСК КМ гальмує проліферативну активність MCF-7, підвищує адгезивні властивості клітин, гальмує здатність до міграції, а також зни-

жує експресію естрогенового рецептора і рецептора епідермального фактору росту. Експресія цитокератинів, навпаки, підвищувалася, що є позитивною ознакою для пухлинних клітин епітеліального генезу. Аналогічні, але більш виражені тенденції впливу на пухлинну популяцію продемонстрував ІФН- $\alpha$ . Отримані дані вказують на протипухлинну активність МСК КМ. Також представлені результати дозволяють припустити, що ІФН- $\alpha$  є одним із ключових посередників протипухлинного впливу МСК.

**Ключові слова:** інтерферон-альфа, мезенхімальні стовбурові клітини, аденокарцинома молочної залози, MCF-7.

**Вступ.** Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) – це плюрипотентні стовбурові клітини дорослого організму, необхідні для забезпечення відновлення тканин хазяїна, здатні диференціюватися в напрямку ряду соматичних клітинних ліній [6]. При захворюваннях і пошкодженнях МСК задіяні в процесу тканинної регенерації і репарації, а також беруть участь у регуляції імунної відповіді [3]. Згідно з даними літератури, основними джерелами МСК є червоний кістковий мозок і жирова тканина, проте, ці клітини були виділені також із печінки, селезінки, нирок та підшлункової залози, синовіальних оболонок, легенів та шкіри [6]. До загальних властивостей мезенхімальних стовбурових клітин відносять: здатність до симетричного і асиметричного поділу, високий проліферативний потенціал, здатність до адгезії, фібробластоподібна морфологія, легко індуковане диференціювання [16]. МСК здатні до диференціювання в клітини кісткової, хрящової і жирової тканини, беруть участь у розвитку та регуляції імунної системи.

Можливість широкого використання МСК у медицині базується на їх здатності впливати на перебіг запальних процесів в організмі. Відомо, що клітини імунної системи виділяють у вогнищі запалення великий спектр про- і протизапальних факторів, у тому числі білки-цитокіни: фактор некрозу пухлини-альфа (ФНП- $\alpha$ ), інтерферон-альфа і -гамма (ІФН- $\alpha$ , - $\gamma$ ), інтерлейкіни (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8). У відповідь на це, МСК секретують ряд факторів, фізіологічний ефект яких полягає у пригніченні запальної реакції та імносупресії: ІЛ-4, ІЛ-10, фактор росту пухлини-бета (ФРП- $\beta$ ), фактор росту гепатоцитів (ФРГ), простагландин Е2 (ПГЕ2) [12], ІФН- $\alpha$  [7, 17]. Таким чином, взаємна регуляція включає вплив клітин імунної системи через медіатори імунної відпові-

ді (цитокіни, хемокіни, простагландини) на МСК, і навпаки, у відповідь – вплив МСК на клітини імунної системи [4], ендотеліальні клітини, моноцити і макрофаги [10]. Також, МСК залучені в процеси клітинної виживаності, міграції та взаємодії з позаклітинним матриксом [18].

З практичної точки зору, вченими неодноразово відзначався позитивний ефект уведення суспензії стовбурових клітин онкологічним хворим. Це проявлялося як у зменшенні розмірів пухлини або розсмоктуванні дрібних метастазів, так і в швидкому відновленні повноцінного кровотворення і, як наслідок, поліпшенні загального стану хворого [9]. Показано, що МСК впливали на виділення в середовище ІФН- $\alpha$ , - $\beta$  і - $\gamma$  та гальмували ріст пухлини [11, 19]. Крім того, трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин може використовуватися для відновлення строми кісткового мозку в онкологічних хворих після радіо- та хіміотерапії, а в поєднанні з клітинами кісткового мозку – для відновлення гемопоезу. Однак широке застосування МСК у медичній практиці не можливе без ґрунтовного вивчення онкогенного потенціалу стовбурових клітин. Так, виявилось, що стовбурові клітини кісткового мозку мають потенційну онкогенну активність [5, 18]. Крім того, трансплантація будь-яких тканинспецифічних стовбурових клітин, позитивних за маркерами раннього ембріогенезу – Oct-4, може бути потенційно онкогенно небезпечною [14]. Виявлено, що стовбурові CD133+ клітини, які були виділені з нейропухлин людини, володіють облігатною канцерогенною активністю *in vivo* [1]. МСК також вважаються джерелом пухлиноасоційованих фіброblastів (ПАФ), які є важливими компонентами строми пухлини та активаторами пухлинного росту. Таким чином, МСК відіграють важливу роль в організації пухлинного

мікрооточення через вплив на ангиогенез, модуляцію імунної системи і формування строми пухлини, крім того, вони можуть бути залучені в процеси стимуляції метастазування [13]. За даними інших авторів, МСК із кісткового мозку і навколишніх тканин активно мігрують до первинної пухлини або метастатичного вузла, де впливають на мікрооточення пухлини, пригнічуючи її ріст. Тому, можна припустити, що МСК можуть виступати як позитивним, так і негативним чинником впливу на пухлинні клітини, залежно від складових мікрооточення, походження, стадії диференціювання [8]. Наведені дані показують неоднозначність впливу МСК КМ на пухлинні клітини і важливість ґрунтового вивчення онкогенного потенціалу як МСК КМ, так і інших стовбурових клітин дорослого організму перед початком клітинної терапії.

**Мета дослідження.** Вивчити вплив біологічно активних речовин клітинного походження (кондиційованого середовища від МСК КМ та ІФН- $\alpha$ ) на життєдіяльність пухлинних клітин раку молочної залози лінії MCF-7.

**Матеріал і методи.** Нами задіяні імуноцитохімічні, цитологічні, біохімічні та статистичні методи аналізу.

Клітини лінії MCF-7 (аденокарцинома молочної залози людини) культивувалися при стандартних умовах (37°C, 100 % вологості, 10 % CO<sub>2</sub>), у живильному середовищі DMEM (4500 мг/л глюкози).

Кріоконсервовані МСК КМ надані Інститутом проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

**Схема експерименту.** МСК КМ культивувалися в середовищі DMEM зі зниженим вмістом глюкози (DMEM-1000 мг/л), з 10 % ембріональної телячої сироватки, у стандартних умовах. Щільність клітин становила 5·10<sup>3</sup> кл/см<sup>2</sup>. Заміна середовища проводилася кожні три доби. Відібране кондиціоноване середовище (К-середовище) центрифугували при 1000g 10 хв для видалення можливої клітинної складової, надосад відбирали і зберігали при -20°C до використання в експерименті. Як позитивний контроль в експериментах використовувався ліофілізований препарат ІФН- $\alpha$  в концентрації 10<sup>4</sup> МО/мл (Лаферобіон, Україна).

З метою дослідження впливу ІФН- $\alpha$  і К-середовища від МСК КМ на проліферацію, адгезію і виживаність клітини MCF-7 розсівали в 24-лункові плати та культивувалися за нормальних умов (37°C, 100 % вологості, 10 % CO<sub>2</sub>) у повному живильному середовищі DMEM (4500 мг/л глюкози). Після доби культивування лунки були розділені на три групи: 1-ша група – контроль, 2-га група – інкубовані з ІФН- $\alpha$  в концентрації 10<sup>4</sup> МО/мл і 3-тя група – культивування з К-середовищем від МСК КМ (1:1 з повним живильним середовищем). Підрахунок кількості живих і мертвих клітин в адгезійній і суспензійній фракціях на 24-ту, 48-му, 72-гу і 96-ту годину культивування

проводили за допомогою камери Горяєва та трипанового синього. Дані були оброблені статистично в програмі «Статистика 6.0» і представлені у вигляді діаграм.

Для визначення впливу ІФН- $\alpha$  і К-середовища від МСК КМ на рецепторний профіль MCF-7 клітини висівали в 6-лункові плати, після однієї доби культивування формували три групи: 1-ша група – контроль, 2-га м інкубовані з ІФН- $\alpha$  в концентрації 10<sup>4</sup> МО/мл, 3-тя – інкубовані з К-середовищем від МСК КМ (1:1 з живильним середовищем) DMEM (4500 мг/л). Термін інкубації – 48 годин. Експресію естрогенового рецептора (ЕР), рецептора епідермального фактора росту (ЕФР – р) і цитокератинів 1-8, 10, 13-16, 18 і 19 (клони AE1/AE3, 5D3, LP34) визначали методом імуногістохімічного забарвлення (Dako, USA). Обробку результатів проводили шляхом підрахунку співвідношення клітин, які несуть маркер до загального числа клітин (гістологічний індекс, HS), відповідно до рекомендацій виробника. Візуалізацію результатів здійснювали за допомогою мікрофотографування на мікроскопі Stemy 2000C, Zeiss.

**Статистична обробка результатів.** Ефективність впливу факторів середовища оцінювалася після визначення співвідношення кількості живих пухлинних клітин в експериментальних ( $\phi_e$ ) і контрольних ( $\phi_k$ ) зразках за формулою:  $\eta = \phi_k / \phi_e$  [2]. При цьому: якщо  $\eta = 1$ , констатується відсутність ефекту від впливу піддослідної протипухлинної речовини. Всі зразки з  $\eta > 1$  демонструють протипухлинний вплив від незначного гальмування  $1,25 \geq \eta \geq 1,0$  до повної зупинки росту клітинної популяції,  $\eta \rightarrow +\infty$ . Значення в інтервалі  $1 \geq \eta \geq 0$  описують стимулювальний вплив компонентів інкубування. Статистичний аналіз і оцінка даних проводилася з використанням критерію Стьюдента. Достовірними вважалися дані з рівнем відхилень  $p \leq 0,05$  та  $p \leq 0,01$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Аналіз результатів експерименту показав, що К-середовище від МСК і ІФН- $\alpha$  гальмують проліферацію пухлинних клітин. У культурі досліджуваних зразках після інкубування з ІФН-альфа і К-середовищем від МСК відмічене зниження кількості живих клітин відносно контролю в адгезійній фракції.  $\eta$  для ІФН- $\alpha$  становить 1,26; для К-середовища – 1,2 відповідно (рис. 1.А). У суспензійній фракції це зниження мало більш виражений ефект: під дією ІФН- $\alpha$  кількість живих клітин зменшилася на 50 % ( $\eta = 2,03$ ), а К-середовища від МСК – на 28 % ( $\eta = 1,36$ ) (рис. 1.Б). У той же час, кількість мертвих клітин під впливом ІФН-альфа і К-середовища від МСК у адгезійній фракції збільшилася порівняно з контролем на 80 % і 76 % відповідно (рис. 1.А). У суспензійній фракції, навпаки, ІФН- $\alpha$  зменшував кількість мертвих клітин на 69 %, а К-середовище від МСК – на 66 % (рис. 1.Б). Дані про кількість живих і мертвих клітин в адгезійній фракції свідчать про ефективну протипухлинну

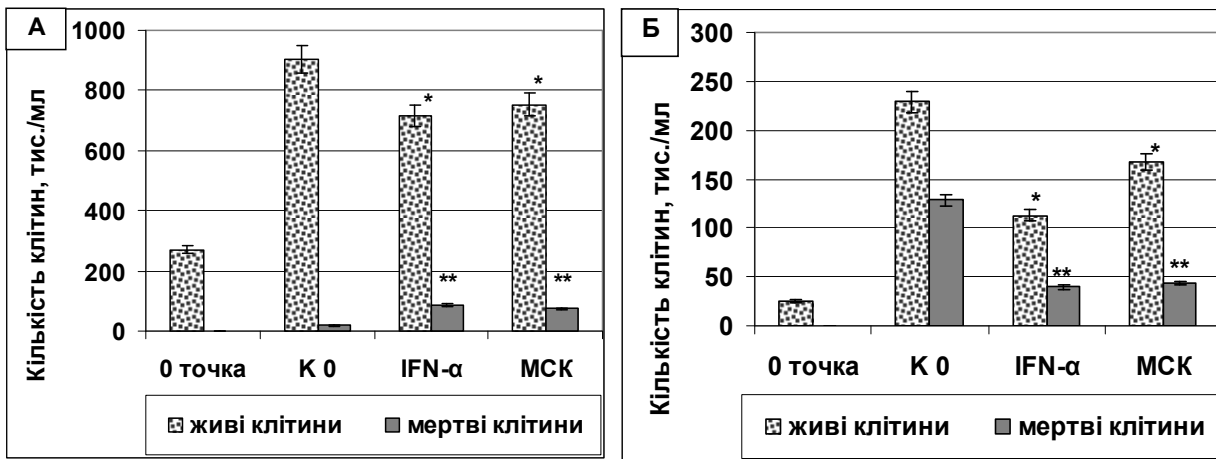


Рис. 1. Вплив К-середовища від мезенхімальних стовбурових клітин та інтерферону-альфа на кількість пухлинних клітин лінії MCF-7 (А – адгезія, Б – суспензія). Підрахунок клітин у камері Горяєва з трипановим синім. \* – різниця статистично достовірна ( $p < 0,05$ ), у серії даних для живих клітин, \*\* – різниця статистично достовірна ( $p < 0,05$ ), у серії даних для мертвих клітин

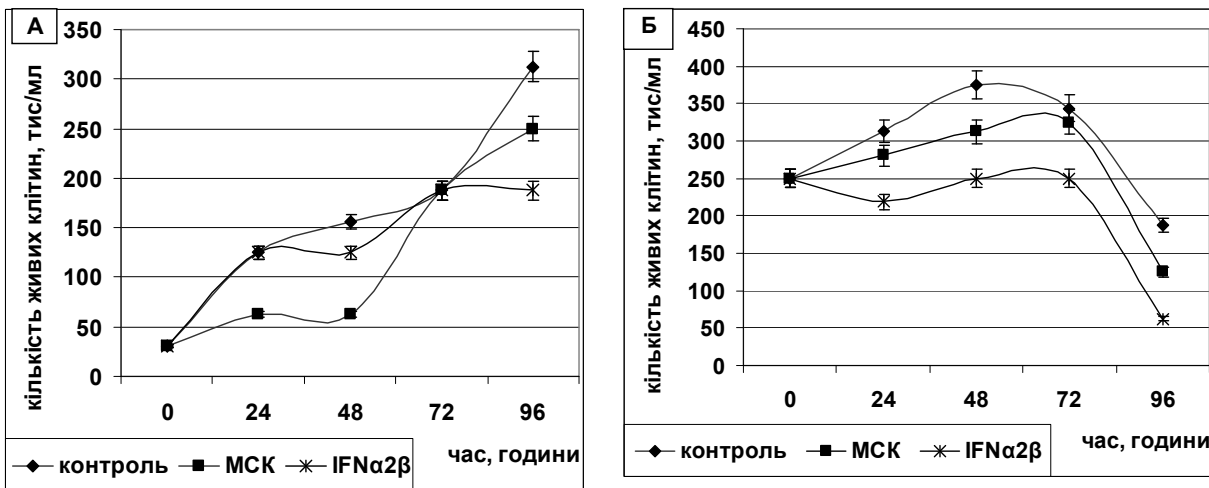


Рис. 2. Графік залежності кількості пухлинних клітин від впливу К-середовища від мезенхімальних стовбурових клітин та інтерферону-альфа та строку культивування (А – адгезія, Б – суспензія). Підрахунок клітин у камері Горяєва з трипановим синім

дію досліджуваних речовин. У суспензійній фракції під впливом К-середовища від МСК і ІФН-α спостерігається пропорційне зменшення як числа живих, так і мертвих пухлинних клітин, що також свідчить саме про гальмування росту популяції пухлинних клітин. Загалом при дослідженні залежності кількості пухлинних клітин від умов інкубування протягом 96 годин було підтверджено припущення, що К-середовище від МСК і ІФН-α гальмують проліферацію пухлинних клітин (рис. 2.А, Б) як у адгезії, так і в суспензії. Водночас ці речовини підтримували на низькому рівні перехід пухлинних клітин у суспензію. Таким чином, К-середовище від МСК і ІФН-α мають виражений протипухлинний вплив на клітинну популяцію, утримуючи кількість живих клітин як у суспензії, так і в адгезії нижче рівня контролю.

Ми припустили, що такі зміни проліферативної активності клітинної популяції не можуть відбутися без зміни рецепторного профілю пухлинних клітин. Для гормонозалежної пухлини молочної залози найбільш показовими і діагностично цінними є рецептори естрогену (ЕР) і епі-

дермального фактору росту (ЕФР-р). Збільшення експресії рецепторів цитокератинів (Ск) для клітин епідермального генезу може свідчити про диференціювання клітин, що є позитивним сигналом при пухлинному процесі. Так, у результаті підрахунку гістологічного індексу, число клітин, що експресують цитокератини 1-8, 10, 13-16 і 19 (клон АЕ1/АЕ3) після інкубування з К-середовищем від МСК КМ збільшувалося на 53,4 %, а з ІФН-α – на 31,1 % (табл. 1). Водночас число клітин, що експресують цитокератини 5, 6, 8 і 18 (клон панцитокератинів) залишається на рівні 100 % при інкубації з МСК КМ і знижується до 5,6 % – з ІФН-α (табл. 2). У той же час, експресія ЕФР-р за наявності МСК КМ достовірно підвищується на 16,7 %, а з ІФН-α підвищується не достовірно (6,7 %). В обох зразках збільшення частки ЕФР-р-позитивних клітин відбувається за рахунок пулу ЕФР-р-негативних клітин, оскільки частина цих клітин знижується в 2-3 рази (табл. 3). Однак слід зауважити, що підвищення експресії ЕФР-р не носить характеру надмірної експресії, а знаходиться близько меж статистичної до-

Таблиця 1

**Вплив К-середовища від мезенхімальних стовбурових клітин та інтерферону-альфа на експресію рецепторів цитокератинів клон (AE1/AE3) у пухлинних клітинах лінії MCF-7 (гістологічний індекс)**

Умови інкубування	AE1/AE3+ клітини,%	AE1/AE3+/- клітини,%	AE1/AE3- клітини,%
Контроль	46,6±3,1	46,6±3,3	6,8±0,5
+МСК	98,0±2,0	0	0
+ІФН-α	77,7±5,2	11,2±0,8	11,1±0,7

Таблиця 2

**Вплив К-середовища від мезенхімальних стовбурових клітин та інтерферону-альфа на експресію рецепторів Пан-цитокератинів (PanCk) у пухлинних клітинах лінії MCF-7 (гістологічний індекс)**

Умови інкубування	PanCk+ клітини,%	PanCk+/- клітини,%	PanCk- клітини,%
Контроль	97,0±4,5	0	0
+МСК	98,0±5,1	0	0
+ІФН	5,6±0,4	44,4±3,8	50,0±4,2

Таблиця 3

**Вплив К-середовища від мезенхімальних стовбурових клітин та інтерферону-альфа на експресію рецепторів епідермального фактору росту (ЕФР-р) у пухлинних клітинах лінії MCF-7 (гістологічний індекс)**

Умови інкубування	ЕФР-р+ клітини,%	ЕФР-р+/- клітини,%	ЕФР-р- клітини,%
Контроль	66,6±3,8	16,6±1,2	16,8±1,0
+МСК	83,3±7,2	11,1±0,7	5,6±0,4
+ІФН	72,7±5,4	18,2±1,3	9,1±0,7

Таблиця 4

**Вплив К-середовища від мезенхімальних стовбурових клітин та інтерферону-альфа на експресію рецепторів естрогену (ЕР) у пухлинних клітинах лінії MCF-7 (гістологічний індекс)**

Умови інкубування	ЕР+ клітини,%	ЕР+/- клітини,%	ЕР-клітини,%
Контроль	27,0±1,3	42,1±2,5	31±1,7
МСК	41,2±1,9	18,0±0,8	41±2,4
ІФН	39,5±3,1	46±2,9	15±1,1

стовірності. Відомо, що Р-ЕФР і його ліганди беруть участь у патогенезі РМЗ. У більшості випадків первинні пухлини МЗ продукують високі рівні лігандів ЕФР-р, тому, можна припустити, що при РМЗ збільшення експресії ЕФР-р за наявності МСК відбувається за допомогою ЕФР-подібних факторів росту. Активація ЕФР-р залучена в процеси утворення і прогресування метастазів при РМЗ. Саме по собі зазначене підвищення експресії ЕФР-р не прогнозує істотного стимулювання пухлинного процесу. Більш загрозливими і тривожними є дані про одночасне підвищення експресії рецептора естрогенів на 12 % (з ІФН-α) та 14 % (з МСК КМ) і збільшення клітин з естроген-негативним фенотипом на 10 % (з МСК КМ) (табл. 4). Естроген-рецепторний комплекс в клітині виконує роль транскрипційного фактора для цілого ряду рецепторів, таких, як рецептор епідермального фактора росту, фактора

росту кератиноцитів, циклін-залежні кінази, інсулін-подібні фактори росту, прозапальні цитокіни. У результаті підвищення експресії ЕР пухлинні клітини стають більш чутливими до сигналів, що стимулюють проліферацію.

#### Висновок

У нашій роботі, на системі моношарової культури пухлинних клітин, продемонстровано двоїстий вплив К-середовища від криозаморожених мезенхімальних стовбурових клітин. З одного боку, на рівні клітинної популяції спостерігається зниження зростання та міграційної активності пухлинних клітин. З іншого, рецепторний профіль клітин свідчить про процеси клітинного диференціювання шляхом збільшення експресії цитокератинів. Одночасно пухлиноасоційовані маркери (рецептор епідермального фактора росту та естрогеновий рецептор) демонструють невелике підвищення експресії. Аналогічні, але більш

виражені тенденції впливу на пухлинну популяцію проявляв інтерферон-альфа. Це дозволяє припустити, що інтерферон-альфа є одним із посередників впливу мезенхімальних стовбурових клітин на клітинні популяції.

#### Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати дають підстави для припущення про наявність різноспрямованих процесів у клітинній популяції та мікрооточення. Вплив на цей баланс із метою стимулювання диференціювання пухлинних клітин і буде предметом умови зміщення подальших досліджень.

#### Література

1. Берсенева А.В. Онкогенный потенциал CD133 / А.В. Берсенева // Клет. трансплантол. и ткан. инженерия. – 2005. – № 1. – С. 9-10.
2. Эмануель Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов / Николай Маркович Эмануель. – М.: Наука, 1977. – 414 с.
3. Кругляков П.В. Мезенхимные стволовые клетки и иммунопатологические состояния организма / П.В. Кругляков, Е.А. Лохматова // Клет. трансплантол. и ткан. инженерия. – 2006. – № 3. – С. 83-87.
4. Суздальцева Ю.Г. Направленная миграция и мезенхимальные прогениторные клетки: участие в воспалении, репарации и регенерации ткани / Ю.Г. Суздальцева, А.В. Воронников, Ю.П. Рубцов // Стволовые клетки и регенеративная медицина: сборник стат. – М., 2012. – С. 57-91.
5. Adult human mesenchymal stem cell as a target for neoplastic transformation / N. Serakinci, P. Guldborg, J.S. Burns [et al.] // Oncogene. – 2004. – Vol. 23, № 29. – P. 5095-5098.
6. Chamberlain G. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: Their Phenotype, Differentiation Capacity, Immunological Features, and Potential for Homing / G. Chamberlain // Stem. Cells. – 2007. – Vol. 25, № 11. – P. 2739-2749.
7. Chamberlain G. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: Their Phenotype, Differentiation Capacity, Immunological Features, and Potential for Homing / G. Chamberlain // Stem. Cells. – 2007. – Vol. 25, № 11. – P. 2739-2749.
8. Adult human mesenchymal stem cell as a target for neoplastic transformation / N. Serakinci, P. Guldborg, J.S. Burns [et al.] // Oncogene. – 2004. – Vol. 23, № 29. – P. 5095-5098.
9. Ferrantini M.F. Interferon-alpha and cancer: mechanisms of action and new perspectives of clinical use / M.F. Ferrantini, I. Capone, F. Belardelli // Biochimie. – 2007. – Vol. 89, № 6-7. – P. 884-893.
10. Honoki K. Cancer Stem Cell Niche: Stem cells in tumor microenvironment / K. Honoki, H. Fujii // Croatia: In Tech, 2011. – P. 189-206. – (Cancer stem cells – The cutting edge).
11. Kelli D. DNA Microarray analysis of genes regulated during the differentiation of embryonic stem cells / D. Kelli, A. Rizzino // Mol. Reprod. Develop. – 2000. – Vol. 56, № 1. – P. 113-123.
12. Kinniard T. Marow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms / T. Kinniard, E. Stabile, M. S. Burnett // Circ. Res. – 2004. – Vol. 5, № 94. – P. 678-685.
13. Li L. Normal Stem Cells and Cancer Stem Cells: The Niche Matters / L. Li, W. B. Neaves // Cancer Research. – 2006. – Vol. 66, № 9. – P. 4553-4557.
14. Mesenchymal stem cells for treatment and prevention of Graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation / T. Toubai, S. Paszesny, Y. Shono [et al.] // Current Stem cell research and therapy. – 2009. – Vol. 4, № 4. – P. 252-259.
15. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis / A.E. Karnoub, A.B. Dash, A.P. Vo [et al.] // Nature. – 2007. – Vol. 449. – P. 557-565.
16. Oct-4 expression in adult human stem cells: evidence in support of the stem cell theory of carcinogenesis / M.H. Tai, C.C. Chang, M. Kiupel [et al.] // Carcinogenesis. – 2005. – Vol. 26, № 2. – P. 495-502.
17. Possible oncogenicity subventricular zone neural stem cells: case report / K. Uchida, M. Mukai, H. Okano [et al.] // Neurosurgery. – 2004. – Vol. 55, № 4. – P. 977-978.
18. Regenerative and immunomodulatory potential of mesenchymal stem cells / M. Krampera, A. Pasini, G. Pizzolo [et al.] // Curr. Opin. Pharmacol. – 2006. – Vol. 6, № 4. – P. 435-441.
19. Rizza P. Recent advances on the immunomodulatory effects of IFN-alpha: implications for cancer immunotherapy and autoimmunity / P. Rizza, F. Moretti, F. Belardelli // Autoimmunity. – 2010. – Vol. 43, № 3. – P. 204-209.
20. Roorda B.D. Mesenchymal stem cells contribute to tumor cell proliferation by direct cell – cell contact interactions / B.D. Roorda // Cancer Invest. – 2010. – Vol. 28, № 5. – P. 526-531.
21. Studeny M. Mesenchymal stem cells: Potential precursors for tumor stroma and targeted-delivery vehicles for anticancer agents / M. Studeny // J. Natl. Cancer Inst. – 2004. – Vol. 96, № 11. – P. 1593-1603.

### СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ ОТ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА И ИНТЕРФЕРОНА- $\alpha$ НА РАЗВИТИЕ ПОПУЛЯЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК MCF-7

*Т.С. Гергельюк, О.М. Перепелицина, М.В. Сидоренко*

**Резюме.** Данная работа посвящена исследованию посредников и механизмов влияния мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (МСК КМ) на опухолевую популяцию клеток линии MCF-7 (аденокарцинома молочной железы). Известно, что МСК продуцируют широкий спектр цитокинов и хемокинов, обеспечивая гуморальное взаимодействие клеток организма. МСК КМ продуцируют в частности фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкины (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8), интерферон-альфа (ИФН- $\alpha$ ). В предлагаемой работе нами было проведено сравнение пролиферации, адгезии, выживаемости и антигенного профиля клеток аденокарциномы МЖ при культивировании с кондиционированной средой (К-средой) от МСК КМ и ИФН- $\alpha$ . В результате было выявлено, что К-среда от МСК КМ тормозит пролиферативную активность MCF-7, повышает адгезионные свойства клеток, снижает способность к миграции, а также снижает экспрессию эстрогенового рецептора и рецептора эпидермального фактора роста. Экспрессия цитокератинов наоборот повышалась, что является позитивным признаком для опухолевых клеток эпителиального генеза. Аналогичные, но более выраженные тенденции влияния на опухолевую популяцию продемонстрировал ИФН- $\alpha$ . Полученные данные указывают на противоопухолевую активность крио-

консервированных МСК КМ. А также наши данные позволяют предположить, что ИФН- $\alpha$  является одним из посредников противоопухолевого влияния МСК.

**Ключевые слова:** ИФН- $\alpha$ , мезенхимальные стволовые клетки, аденокарцинома молочной железы, MCF-7.

**COMPARISON INFLUENCE OF CONDITIONED MEDIUM  
OF HUMAN MESENCHYMAL CELLS AND INTERFERON- $\alpha$  ON  
DEVELOPMENT OF TUMOR CELL POPULATION**

*T.S. Herheliuk, O.M. Pereplytsina, M.V. Sydorenko*

**Abstract.** This work is a study of mediators and mechanisms of the effect of human mesenchymal stem cells from bone marrow (hMSC BM) on the tumor cell population line MCF-7 (breast adenocarcinoma). It is known that MSCs produce a wide range of cytokines and chemokines, and provide humoral cells interaction. BM MSCs produce tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8), interferon-alpha (IFN- $\alpha$ ). In this study we compared the proliferation, adhesion, survival and antigenic profile of breast adenocarcinoma cells that were cultured with conditioned medium (c-medium) of the MSC and IFN- $\alpha$ . Consequently, it was found that c-medium from MSC inhibited proliferation activity of MCF-7, increased cells adhesion, suppressed the ability to migrate, and reduced the expression of estrogen receptor and epidermal growth factor receptor. Conversely expression of cytokeratins increased, which is a positive sign for the tumor cells of epithelial origin. IFN- $\alpha$  showed a more pronounced effect on the tumor population. These findings suggest that cryopreserved MSC BM has antitumor activity. Also, our data suggest that IFN-alpha is one of the mediators of antitumor effect of MSCs.

**Key words:** IFN- $\alpha$ , mesenchymal stem cells, breast adenocarcinoma, MCF-7.

Рецензент – проф. Ю.Є. Роговий

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 2 (70). – P. 18-23

Надійшла до редакції 09.01.2014 року