

Влияние криоконсервированных клеток фетальной печени на состояние иммунной системы у мышей линии С3Н до клинического проявления рака молочной железы

Н.А. БОНДАРОВИЧ, О.В. САФРАНЧУК, М.В. ОСТАНКОВ, А.Н. ГОЛЬЦЕВ
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Preventively Introduced Cryopreserved Fetal Liver Cells on Indices of Immune System in C3H Mice Prior to Clinical Manifestation of Breast Cancer

N.A. BONDAROVICH, O.V. SAFRANCHUK, M.V. OSTANKOV, A.N. GOLTSEV
Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Развитие онкологических заболеваний затрагивает все системы организма и, прежде всего, иммунную, которая отвечает за противоопухолевую резистентность. Превентивное лечение опухолевого процесса возможно при использовании методов молекулярно-генетической идентификации предрасположенности к его развитию. Для изучения механизмов реализации противоопухолевой активности клеток фетальной печени (КФП) хорошей моделью являются мыши линии С3Н с генетически детерминированным развитием рака молочной железы (РМЖ).

Цель работы – изучить влияние превентивно введенных криоконсервированных КФП на показатели иммунной системы (ИС) мышей линии С3Н до клинического проявления РМЖ.

Эксперименты выполнены на 6-месячных мышках-самках линии С3Н и СВА (контроль) весом 15–18 г в соответствии с положениями “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985). Опытным животным в хвостовую вену вводили нативные или криоконсервированные (по методу Цуцаевой А.А. и соавт., 1983) КФП мышей линии С57BL (14 суток гестации) по 0,2 мл в дозе 1 или 5×10^6 клеток/мышь. Показатели Т-клеточного звена иммунитета определяли методом проточной цитофлуориметрии (FACS Calibur, BD, США) с использованием моноклональных антител (МАТ) к антигенам CD3, CD4, CD8, Ia, CD25 в селезенке и тимусе; стволовые раковые клетки (СРК) в молочной железе – с использованием МАТ к CD44, CD24, CD133. Исследовали циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), цитотоксическую активность естественных киллеров, фагоцитарную и адгезивную активность. Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента-Фишера.

Применение КФП в качестве превентивной терапии у мышей линии С3Н снижало гранулоцитарную гиперплазию костного мозга, бластную реакцию в селезенке и плазмоцитарную реакцию в лимфатических узлах. В ИС леченых мышей наблюдали снижение содержания Т-регуляторных клеток ($CD4^+CD25^+$), Т-супрессоров/цитотоксических ($CD8^+$), активированных Ia^+ -клеток, ЦИК и повышение Т-хелперов/индукторов ($CD4^+$) в селезенке, общих Т-лимфоцитов ($CD3^+$) в тимусе. Показатели фагоцитарной и адгезивной активности клеток перитонеальной полости соответствовали контрольным значениям. Содержание в молочной железе СРК с фенотипом $CD44^+CD24^-$ было ниже, чем у мышей без лечения, но выше контрольных значений. Способность угнетать пролиферацию опухолевых клеток и восстанавливать показатели ИС проявляли в большей степени криоконсервированные КФП в дозе 5×10^6 клеток/мышь и нативные КФП в дозе 1×10^6 клеток/мышь.

Development of oncological diseases concerns all the systems of an organism and primarily immune system, responsible for anti-tumour resistance. Preventive treatment of tumour process is possible when using the methods of molecular-genetic identification of predilection to its development. To study the mechanisms of implementation of anti-tumour activity of fetal liver cells (FLCs) the C3H mice with genetically determined development of breast cancer (BC) are the convenient model.

The research aim was to investigate the effect of preventively introduced cryopreserved FLCs on immune system indices of C3H mice prior to clinical manifestation of BC.

The experiments were performed in 6-months female C3H and CBA (control) mice with the weight of 15–18 g in accordance with the European convention on protection of vertebrate animals used in scientific purposes (Strasbourg, 1985). Into caudal vein of experimental animals we introduced either native or cryopreserved (according to the method of Tsutsayeva A.A. *et al.*, 1983) FLCs of C57BL mice (14th gestation day) by 0.2 ml in a dose of 1 or 5×10^6 cells per mouse. The indices of T cell link of immunity were examined by the method of flow cytometry (FACS Calibur, BD, USA) using monoclonal antibodies (MABs) to CD3, CD4, CD8, Ia, CD 25 in spleen and thymus; cancer stem cells (CSCs) in mammary gland using MABs to CD44, CD24, CD133. There have been studied circulating immune complexes (CIC), cytotoxic activity of natural killers, phagocyte and adhesive activity. Statistical processing was performed by the method of Student-Fisher.

FLC introduction as preventive therapy in C3H mice reduced granulocyte hyperplasia of bone marrow, blast reaction in spleen and plasmocyte reaction in lymph nodes. In immune system of treated mice there was observed the reduction of the content in regulatory T cells ($CD4^+CD25^+$), suppressor/cytotoxic T cells ($CD8^+$), activated Ia^+ cells, CIC and rise of helper/inducer T cells ($CD4^+$) in spleen, total T lymphocytes ($CD3^+$) in thymus. Indices of phagocytic and adhesive activity of peritoneal cavity cells corresponded to the control values. SCS content in mammary gland with $CD44^+CD24^-$ phenotype was lower than in mice with no treatment, but higher than the control values. The ability to suppress the proliferation of tumour cells and restore the immune system indices was manifested in a greater extent by cryopreserved FLCs in a dose of 5×10^6 and native FLCs in a dose of 1×10^6 cells/mouse.