

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-138

ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТА КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКА ЧЕЛОВЕКА
ЛИНИИ SKOV-3 В БЕСКЛЕТОЧНЫХ МАТРИКСАХ ОРГАНОВ МЫШИ
С РАЗЛИЧНЫМИ СТРУКТУРНО-МЕХАНИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ*

STUDY OF GROWTH OF HUMAN OVARIAN ADENOCARCINOMA CELLS LINE SKOV-3 IN
ACELLULAR MATRICES OF MOUSE ORGANS WITH DIFFERENT STRUCTURAL
AND MECHANICAL CHARACTERISTICS

С. Д. Гефтер¹, А. Д. Поспелов¹, Д. Б. Трушина^{2,3}, Ю. М. Ефремов², М. Ю. Карпушин¹, И. В. Балалаева¹

¹Нижегородский национальный исследовательский государственный университет им. Н. И. Лобачевского

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России

³Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва

S. D. Gefter¹, A. D. Pospelov¹, D. B. Trushina^{2,3}, Yu. M. Efremov², M. Yu. Karpushin¹, I. V. Balalaeva¹

¹Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

²Sechenov First Moscow State Medical University

³Federal Research Center "Crystallography and Photonics" RAS, Moscow

✉ sofia.gieftier.00@mail.ru

Аннотация

В работе проанализированы особенности роста клеток аденокарциномы яичника человека линии SKOV-3 в бесклеточных матриксах органов мыши. Показано, что способность опухолевых клеток к заселению ткани зависит от структурно-механических параметров матрикса. В частности, наибольший рост клеток наблюдался в матриксах с низкой жесткостью трехмерной структуры и большим размером пор.

Abstract

The paper analyzes the growth characteristics of human ovarian adenocarcinoma cells of the SKOV-3 line in cell-free matrices of mouse organs. It is shown that the ability of tumor cells to populate tissue depends on the structural and mechanical parameters of the matrix. In particular, the greatest cell growth was observed in matrices with low stiffness of the three-dimensional structure and large pore size.

Микроокружение опухоли играет важную роль в ее развитии и прогрессировании. Одним из основных компонентов опухолевого микроокружения является внеклеточный матрикс (ВКМ), интерес к которому все больше возрастает со стороны фундаментальной и прикладной онкологии. Исследования влияния структурно-механических свойств ВКМ на рост и развитие опухолевых клеток в настоящее время получили активное развитие. Существует мнение, что наиболее важными физическими факторами, влияющими на прогрессирование опухоли, являются жесткость и размер пор [1]. Изучить клеточно-матриксные взаимодействия в условиях *in vitro* позволяют трехмерные модели опухолевого роста на основе децеллюляризованных (ДЦЛ) тканей.

Цель работы — исследование роста клеток аденокарциномы яичника человека линии SKOV-3 в бесклеточных матриксах органов мыши, различающихся по своим структурно-механическим свойствам.

ВКМ получали из органов лабораторных мышей линии Balb/C согласно разработанному ранее протоколу децеллюляризации [2]. Фрагменты органов (легкое, печень, почка, селезенка) объемом не более 50 мм³ инкубировали в трех детергентах различных концентраций (0,5 % Triton X-100, 0,5 % SDS и 1 % SDC и 0,075 % SDS) для удаления нативных клеток из ткани. Качество полученных матриксов оценивали стандартным гистоморфологическим анализом; структурные параметры, такие как размеры пор и диаметр волокон ДЦЛ матриксов, анализировали при помощи сканирующей электронной микроскопии (Hitachi™ 4000Plus); общую жесткость трехмерной структуры матриксов измеряли методом макроиндентации, принцип которой основан на оказании давления с заданной нагрузкой на образец (Mach-1™ v500csst); локальную жесткость матриксов на уровне индивидуальных волокон измеряли методом атомно-силовой микроскопии (BioScope Resolve microscope). Для заселения матриксов опухолевыми клетками использовали линию аденокарциномы яичника человека SKOV-3. Клетки в количестве

* Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (код проекта FSWR2023-0032).

3×10^5 клеток в 200 мкл полной ростовой среды вкалывали шприцом в каждый ДЦЛ матрикс. Подсчет количества клеток и анализ их морфотипа проводили через 7 дней с помощью стандартного гистологического исследования.

По результатам работы получены бесклеточные органые ДЦЛ матриксы, характеризующиеся структурной целостностью и демонстрирующие полную клеточную элиминацию. Выявлено, что каждый из полученных матриксов характеризуется специфичным набором значений параметров, таких как площадь пор и диаметр фибрилл, общая жесткость трехмерной структуры и на уровне отдельных волокон. Таким образом, можно сделать заключение об уникальности структурно-механических свойств органых матриксов различного происхождения.

По результатам гистологического анализа все матриксы заселены опухолевыми клетками (рис. 1), однако характер заселения отличался для матриксов разных органов.

Наибольшая степень заселения показана для ДЦЛ матрикса тканей легких; клетки мезенхимальной морфологии наблюдались по всему пространству матрикса. В матриксе печени клетки обнаруживались в соединительной ткани печеночной триады, формируя хорошо выраженный кластер. При рецеллюляризации почек было обнаружено большое количество сильно диссеминированных по корковому веществу клеток. Инвазивность клеток в ДЦЛ матрикс тканей селезенки очень низкая, клетки обнаруживались по внешнему периметру капсулы с единичной локальной миграцией внутрь.

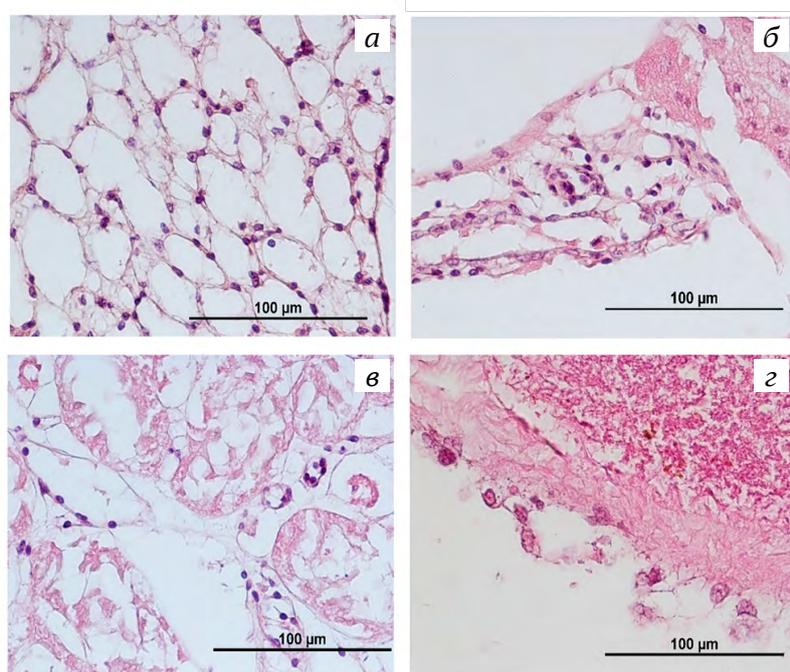


Рис. 1. Микрофотографии органых ДЦЛ матриксов после репопуляризации опухолевыми клетками (окрашивание Н&Е): а — легкого; б — печени; в — почек; з — селезенки

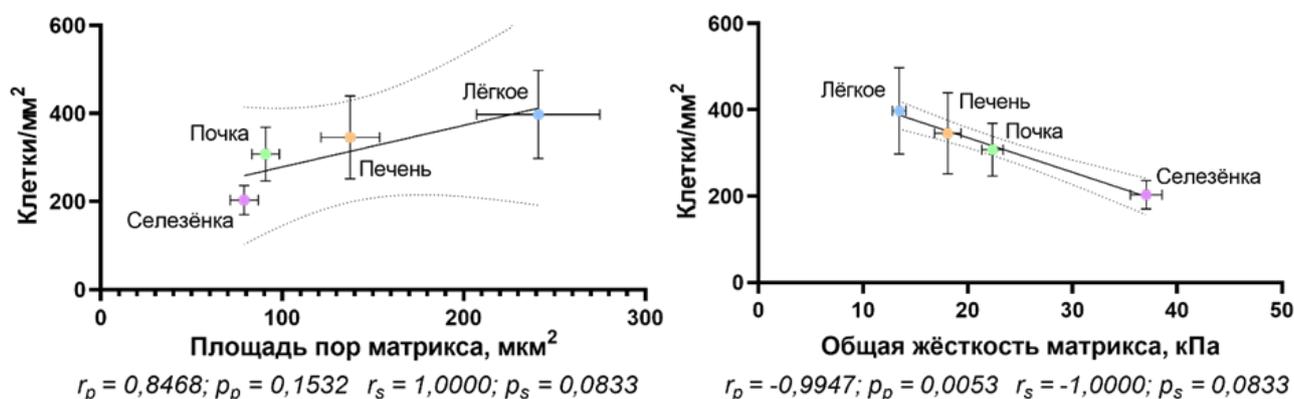


Рис. 2. Анализ корреляции между структурно-механическими параметрами матрикса и ростом клеток аденокарциномы яичника человека линии SKOV-3. Для всех сравнений указан коэффициент корреляции Пирсона (r_p) и Спирмена (r_s) с соответствующими уровнями значимости (p_p и p_s)

Для проверки влияния структурно-механических свойств ДЦЛ матриксов на клетки проведен корреляционный анализ. Мы выявили выраженную тенденцию к прямой связи между заселенностью ДЦЛ матрикса клетками аденокарциномы и размерами матриксных пор ($r_s = 1,0$, $p_s < 0,1$) и выраженную обратную корреляцию между уровнем заселенности матрикса и его общей жесткостью трехмерной структуры ($r_p \approx -0,99$, $p_p < 0,05$) (рис. 2). Можно предположить, что низкая общая жесткость внеклеточного матрикса и большой размер пор являются факторами, влияющими на высокую пролиферативную и инвазивную активность клеток аденокарциномы яичника человека линии SKOV-3.

Полученные результаты согласуются с закономерностями, показанными ранее для опухолевых клеток другого происхождения [2]. Обнаруженные корреляции паттернов клеточного роста со структурно-механическими параметрами матрикса позволяют предположить наличие универсальных закономерностей клеточно-матриксных взаимодействий для клеток разного происхождения со сходным мезенхимальным фенотипом.

Литература

1. Tien J., Ghani U., Dance Y.W. et al. Matrix Pore Size Governs Escape of Human Breast Cancer Cells from a Microtumor to an Empty Cavity // *iScience*. 2020. Vol. 23 (11).
2. Pospelov A.D., Kutova O.M., Efremov Y.M. et al. Breast Cancer Cell Type and Biomechanical Properties of Decellularized Mouse Organs Drives Tumor Cell Colonization // *Cells*. 2023. Vol. 12 (16).