

УДК 57.085.23

КЛЕТОЧНЫЙ КАННИБАЛИЗМ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА A431

А.С. Гаранина, М.А. Савицкая

(кафедра клеточной биологии и гистологии; e-mail: anastasiacit@gmail.com)

В работе определены отдельные этапы процесса поглощения клетки клеткой, происходящего спонтанно в культуре эпидермоидной карциномы человека A431. Показано, что клеточный каннибализм (КК) сопровождается изменениями морфологии клетки-мишени внедрения и “клетки-жертвы” и что деградация последней происходит путем активации лизосом обеих клеток.

Ключевые слова: культура клеток A431, клеточный каннибализм, механизмы.

В настоящее время описаны два типа клеточного каннибализма (КК): гетеротипический (или эмпериполез [1, 2]) и гомотипический. Последний в свою очередь подразделяется на КК в суспензии (или энтоз [3]) и КК на твердом субстрате. По ряду признаков процесс КК отличается от фагоцитоза. КК особенно характерен для клеток злокачественных опухолей. Феномен “клетка-в-клетке” в некоторых случаях используется для диагностики заболеваний и прогноза развития опухолей, однако точные механизмы, лежащие в основе этого явления, до сих пор не изучены. В связи с этим целью нашей работы было исследование механизмов КК в культуре клеток эпидермоидной карциномы человека A431.

Материалы и методы

Работу проводили на культуре клеток A431 (эпидермоидная карцинома человека). Клетки выращивали в среде DMEM (Пан-Эко) с добавлением 10%-й фетальной сыворотки телят (FBS), 2 mM L-глутамин и 80 мкг/мл гентамицина и культивировали при 37°C и 5%-й CO₂. Клетки исследовали методами световой микроскопии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии (ТЭМ и СЭМ соответственно). Для ТЭМ и СЭМ были использованы стандартные методы фиксации и подготовки образцов для исследования. Кислый везикулярный компартмент изучали после окрашивания акридиновым оранжевым методом флуоресцентной микроскопии.

Результаты и обсуждение

При светомикроскопическом и электронно-микроскопическом изучении культуры A431 выявлено, что проникновение одной клетки в другую сопровождается

изменением морфологии обеих клеток. В “поглощающей” клетке ядро приобретает бобовидную форму и смещается к периферии. “Поглощенная” клетка находится внутри крупной каннибалической вакуоли, имеет округлую форму, уплотненную цитоплазму, а ее размер примерно вдвое меньше размеров соседних клеток (рис. 1). С помощью метода СЭМ получены изображения клеток, представленные на рис. 2. На основании наблюдаемых картин можно следующим образом представить процесс внедрения одной

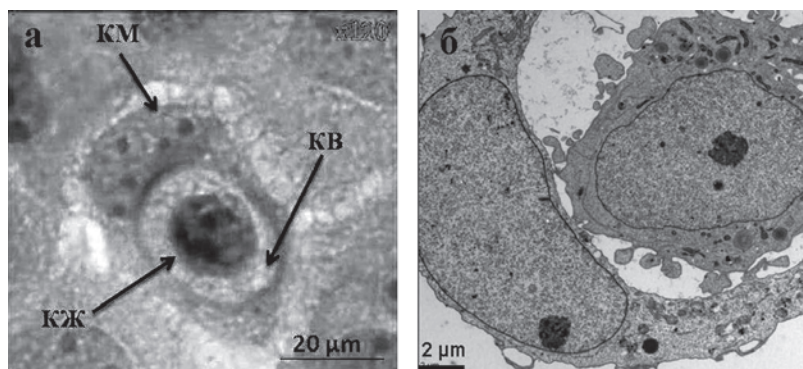


Рис. 1. Клетки эпидермоидной карциномы человека A431. Окраска гематоксилином и эозином, 2 сут (а); ТЭМ, 1 сут (б). Обозначения: KB — каннибалическая вакуоль; КЖ — “клетка-жертва”; KM — клетка — мишень внедрения

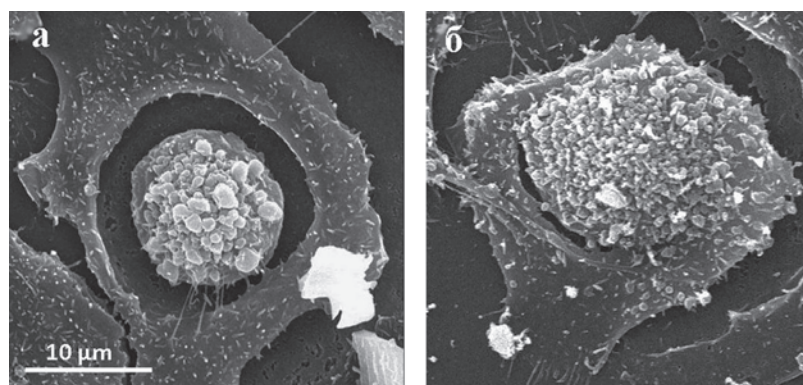


Рис. 2. Клетки эпидермоидной карциномы человека A431. СЭМ: а — стадия кратера; б — стадия образования псевдоподии, закрывающей “клетку-жертву”

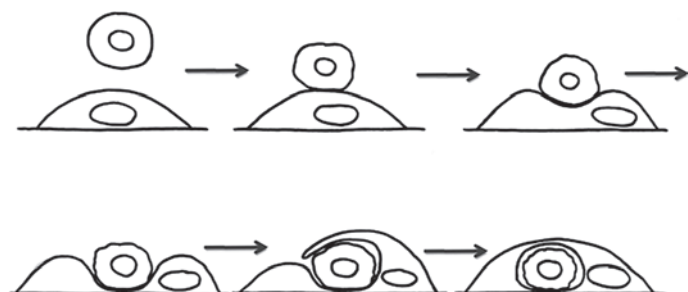


Схема. Этапы внедрения клетки в клетку

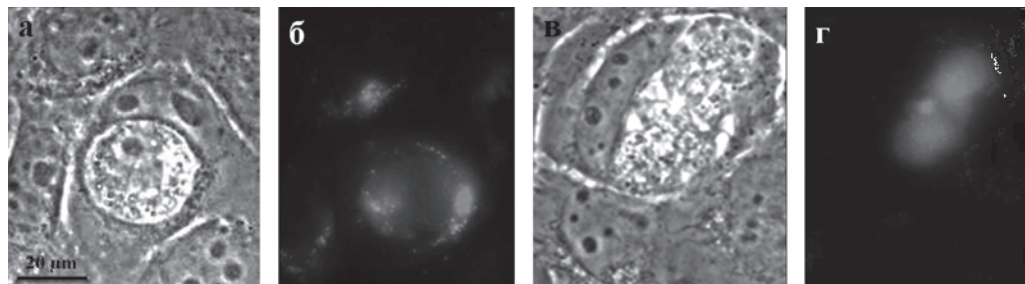


Рис. 3. Клетки эпидермоидной карциномы человека A431, 2 сут: а, в — фазовый контраст, б, г — прижизненное окрашивание акридиновым оранжевым. а, б — ранняя стадия КК; в, г — заключительная стадия КК

клетки в другую. “Клетка-жертва”, находящаяся в суспензионном состоянии, подходит к клетке-мишени внедрения, сидящей на субстрате, прикрепляется к ней с помощью десмосом и начинает продавливать мембрану последней, в результате чего возникает впадина. По мере углубления данной впадины формируется кратер, внутри которого располагается “клетка-жертва” (рис. 2, а). Затем “поглощающая” клетка образует псевдоподию (рис. 2, б), накрывающую внедряющуюся клетку, в результате чего “клетка-жертва” оказывается полностью внутри клетки-мишени внедрения (схема). Исследования состояния ядра внедрившейся клетки показали, что в ходе КК идет постепенная деградация “клетки-жертвы”. При анализе кислого везикулярного компартмента обнаружено, что на ранних стадиях

КК лизосомы “поглощенной” клетки собраны в околоядерной области (рис. 3, а, б). В ходе КК их число постепенно увеличивается, причем сначала лизосом становится больше на периферии клетки, а затем они равномерно распределяются по всей клетке и сливаются, образуя крупные везикулы. Параллельно идет закисление среды внутри “клетки-жертвы”, о чем можно судить по диффузному окрашиванию последней акридиновым оранжевым. На заключительной стадии КК выявляется обширная область с кислым значением рН в том месте, где ранее находилась “поглощенная” клетка (рис. 3, в, г). Изменения кислого везикулярного компартмента происходят также в клетке-мишени внедрения. На начальных этапах КК в ней идет увеличение продукции лизосом, которые располагаются по периферии каннибалической вакуоли. Это означает, что механизм деградации “клетки-жертвы” включает активацию лизосом обеих клеток — участниц данного варианта программированной клеточной гибели.

Выводы

Исследования КК показали, что в процессе внедрения одной клетки в другую участвуют обе клетки и что внедрившаяся клетка подвергается лизосомопосредованной деградации, в которой принимает участие кислый компартмент обеих клеток.

* * *

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 11-04-1518-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Humble J.G., Jayne W.H.W., Pulvertaft R.J.V. Biological interaction between lymphocytes and other cells // Br. J. Haemat. 1956. Vol. 2. P. 283—294.
2. Xia P., Wang S., Guo Z., Yao X. Emperipolesis, entosis and beyond: Dance with fate // Cell Res. 2008. Vol. 18. P. 705—707.
3. Overholtzer M., Mailleux A.A., Mouneimne G., Normand G., Schnitt S.J., King R.W., Cibas E.S., Brugge J.S. A nonapoptotic cell death process, phtosis, that occurs by cell-in-cell invasion // Cell. 2007. Vol. 131. P. 966—979.

Поступила в редакцию
10.05.2011

**CELL CANNIBALISM IN CELL CULTURE
OF HUMAN EPIDERMOID CARCINOMA A431**

A.S. Garanina, M.A. Savitskaya

We determined certain stages of spontaneous formation of “cell-in-cell” structures in A431 cell line. Cell cannibalism was accompanied with morphological alterations in host and internalized cells and lysosome-mediated degradation of internalized cell.

Key words: *cell culture A431, cell cannibalism, mechanisms.*

Сведения об авторах

Гаранина Анастасия Сергеевна — студентка кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-903-110-28-65; e-mail: anastasiacit@gmail.com

Савицкая Маргарита Анатольевна — аспирантка кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-903-574-56-21; e-mail: nakomis@mail.ru