

О. С. ФРАНКФУРТ

**ТКАНЕВО-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИНГИБИТОРЫ ДЕЛЕНИЯ
КЛЕТОК (КЕЙЛОНЫ) В ЭПИДЕРМИСЕ.
ВЛИЯНИЕ НА КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И РАЗВИТИЕ ГИПЕРПЛАЗИИ**

(Представлено академиком Г. М. Франком 13 IV 1970)

В последние годы в различных тканях животных были обнаружены тканево-специфические ингибиторы деления клеток (¹⁻⁶), получившие название «кейлонов» (¹). Тканевая специфичность действия указывает на то, что кейлоны могут иметь существенное значение в регуляции клеточного размножения. Так, Буллоу (^{1, 7}) полагает, что регуляция пролиферации осуществляется кейлонами по механизму отрицательной обратной связи. Кроме того, кейлоны представляют значительный интерес, как новая группа противоопухолевых агентов (⁸⁻¹⁰). Значительное подавление митотической активности в опухолевых клетках (^{4, 8}), регрессия меланом (⁹) и снижение количества лейкоэмических клеток в крови (¹⁰) при введении соответствующих кейлонов указывает на необходимость детального исследования противоопухолевого действия этих агентов. Особенно важно, что в связи с тканевой специфичностью действия, кейлоны не дают неспецифического токсического эффекта (^{9, 10}).

В настоящей работе было изучено действие *in vivo* эпидермальных кейлонов, свойства и метод выделения которых детально описаны

(^{1, 11, 12}). Так, установлено, что эпидермальные кейлоны содержатся во фракции экстракта, осаждаемой спиртом (¹¹), и что активность, по-видимому, связана с белком (или гликопротеидом) с мол. весом 30—40 000 (¹²).

Фракцию экстракта, содержащую кейлоны, выделяли следующим образом: соскоб кожи крыс, содержащий эпидермальные клетки, экстрагировали водой, экстракт осаждали 80° спиртом и преципитат растворяли в физиологическом растворе. Полученный раствор, содержащий 5,2 мг белка в 1 мл, вводили подкожно мышам линии СЗНА (вес 18—20 г) (дозы введенного экстракта далее указаны в миллиграммах белка). В качестве контроля на неспецифическое действие экстракта использовали аналогичную фракцию из гомогената печени крыс. Для изучения влияния кейлонов на митотическую активность мышам одновременно с препаратами кейлонов вводили 0,1 мг колхицина, и через 4 часа ткани фиксировали.

В предварительных опытах было установлено подавление митотической активности в нормальном эпидермисе мышей при введении кейлонов. Однако более детально действие кейлонов было изучено на гиперпластическом эпидермисе (табл. 1). Отсутствие значительной вариабельности между отдельными животными и большое количество митозов в гиперпласти-

Таблица 1

Влияние эпидермальных кейлонов на митотическую активность в гиперпластическом эпидермисе уха мышей*

Вводимый препарат	Колич. белка, мг	Число митозов в 100 μ эпидермиса	
		значит. гиперплазия	слабая гиперплазия
Контроль	—	3,2±0,19	0,69±0,05
	3,2	0,43±0,03	0,21±0,07
	1,6	0,94±0,11	0,21±0,01
Экстракт эпидермиса	0,8	1,43±0,5	0,19±0,03
	0,4	2,3±0,4	0,33±0,06
	0,2	3,2±0,76	0,45±0,1
	1,6	2,7±0,86	0,72±0,01
Экстракт печени	2,2	3,2±0,7	0,59±0,01

* Прогрессивание 1 мин. при 100°

ческом эпидермисе дает возможность получить более точные и воспроизводимые результаты. Для индукции гиперплазии кожу уха мышей за 48 час. до опыта смазывали Твином-60. Участок значительной гиперплазии расположен в нижней части ушной раковины, а остальная часть эпидермиса реагировала на Твин-60 значительно слабее. Подсчет вели в участках двух типов раздельно. Препарат, выделенный из эпидермиса, снижал митотическую активность в гиперпластическом эпидермисе, и этот эффект зависел от дозы (табл. 1). Прогретый раствор не оказывал существенного

Таблица 2

Влияние эпидермальных кейлонов на развитие гиперплазии в эпидермисе уха мышей

Вводимый	Число клеток в 100 μ эпидермиса		
	0 час *	34 часа	46 час.
Контроль	25,3 \pm 2,3	49,0 \pm 6,9	63,0 \pm 3,8
Экстракт печени	—	48,7 \pm 2,6	58,8 \pm 8,3
Экстракт эпидермиса	—	34,0 \pm 1,8	38,1 \pm 4,1

* Время после аппликации Твина-60.

влияния, по-видимому, в результате денатурации белка. Препарат, выделенный из печени, не влиял на деление клеток в эпидермисе. Эти данные показывают, что интенсивно пролиферирующий эпидермис сохраняет чувствительность к действию кейлонов.

Экстракт эпидермиса не влиял на митотическую активность в эпителии крипт тонкого кишечника (митотический индекс $26,6 \pm 2,3\%$ в контроле и $25,1 \pm 1,1\%$ после введения 1,6 мг белка) и снижал митотический индекс в ороговевающем эпителии преджелудка с $3,3 \pm 0,9$ до $1,2 \pm 0,36\%$ при введении той же дозы. Это показывает, что действие кейлонов связано с определенным типом дифференцировки клеток. Чувствительность различных ороговевающих эпителиев к эпидермальным кейлонам была установлена Буллоу (1) в опытах *in vitro*.

Для изучения влияния кейлонов на развитие гиперплазии эпидермиса кожу уха мышей смазывали Твином-60 и начиная с 20-го часа каждые 4 часа (всего 4 раза) вводили экстракт эпидермиса (по 1,6 мг белка) или экстракт печени (по 2,2 мг белка). Нарастание количества клеток в участках значительной гиперплазии было заторможено при введении экстракта эпидермиса, причем уменьшенное количество клеток сохранялось в течение 14 час. после прекращения введений (табл. 2). Следовательно, после прекращения введения кейлонов не происходит деления задержанных перед митозом клеток.

Торможение развития гиперплазии указывает на то, что кейлоны могут оказывать антиканцерогенное действие на стадии активации канцерогенеза, поскольку гиперплазия необходима для проявления действия коканцерогенов (12).

Влияние эпидермальных кейлонов на поведение клеток, деление которых блокировано кейлонами, было изучено методом автордиографии в эпителии преджелудка мышей. Кинетика клеточной популяции в этом эпителии детально описана ранее (14). Подсчет количества гранул показал, что при однократном введении экстракта эпидермиса (1,6 мг белка) через 1 час после введения H^3 -тимидина к 12-му часу все базальные клетки делятся и затем дифференцируются (табл. 3). Следовательно, однократное введение кейлонов вызывает лишь кратковременное торможение деления. После 3-го введения этой же дозы препарата с 4-часовым интервалом разведением метки над базальными клетками было замедлено и, что особенно важно, интенсивность ее над дифференцированными клетками была повышена (табл. 3). Это показывает, что при длительном торможении деления

кейлонами неразделившиеся клетки дифференцируются, в результате чего происходит уменьшение субпопуляции пролиферирующих клеток. Такой эффект может объяснить, почему задержка развития гиперплазии сохраняется после прекращения введения кейлонов (см. табл. 2).

Полученные данные показывают, что задержка деления клеток эпидермальными кейлонами изменяет их судьбу. Вместо деления клетка дифференцируется и вследствие этого теряет способность к размножению. Этот эффект может иметь определенное значение при применении эпидермальных кейлонов в качестве противоопухолевых факторов. В плоскоклеточных карциномах и предраковых образованиях ороговевающего эпителия про-

Таблица 3

Среднее количество гранул серебра над клетками эпителия преджелудка в различные сроки после введения H^3 -тимидина

Вводимый препарат	Базальные клетки			Дифференцированные клетки	
	1 час	12 час.	30 час.	30 час.	48 час.
Контроль	26,1±2,4	14,0±0,2	13,7±0,8	13,8±1,4	14,7±0,9
Экстракт эпидермиса 1,6 мг 1 раз	—	14,7±0,7	—	16,0±1,2	16,9±0,7
1,6 мг 3 раза	—	21,0±0,7	15,6±1,5	23,0±3,1	21,8±1,5

лиферация происходит значительно быстрее, и все клетки входят в митоз за меньшее время, чем в нормальном эпителии (¹⁵, ¹⁶). Поэтому возможно, что нормальный ороговевающий эпителий окажется менее чувствителен к повреждающему действию кейлонов, чем возникающие из него опухоли.

Дифференцировка клеток, деление которых заблокировано, может иметь значение для физиологического действия эпидермальных кейлонов. Пролиферация и дифференцировка — это конкурентные процессы, и торможение одного из них ведет к преобладанию другого, что изменяет судьбу клетки. Изменение в соотношении числа клеток, идущих в направлении размножения или дифференцировки, является одним из важнейших проявлений действия факторов, регулирующих клеточное размножение. Возможно, эпидермальные кейлоны влияют на это соотношение и таким образом регулируют пролиферацию. Однако с этим предположением трудно согласовать то, что в норме клетки дифференцируются из пресинтетического периода (¹⁴), а основным известным эффектом, вызываемым эпидермальными кейлонами, является задержка клеток в премитотическом периоде.

Таким образом, показано, что введение мышам фракции экстракта эпидермиса, содержащей кейлоны, тормозит деление клеток в гиперпластическом эпидермисе, угнетает развитие гиперплазии эпидермиса и приводит к дифференцировке клеток эпителия преджелудка, деление которых было задержано.

Институт химической физики
Академии наук СССР

Поступило
23 III 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. S. Bullough, In: Cellular Control Mechanisms and Cancer, Amsterdam, 1964, p. 124. ² H. A. Saetren, Exp. Cell Res., 11, 229 (1956); Acta chem. scand., 17, 889 (1963). ³ T. Rytomaa, K. Kiviniemi, Cell Tissue Kinetics, 1, 329 (1968). ⁴ W. S. Bullough, E. B. Laurence, Europ. J. Cancer, 4, 607 (1968). ⁵ J. D. Simnett, J. M. Fisher, A. G. Heppleston, Nature, 223, 944 (1969). ⁶ J. D. Simnett, D. P. Chopra, Nature, 222, 1189 (1969). ⁷ W. S. Bullough, E. B. Laurence, Advance Biol. Skin, 7, 1 (1966). ⁸ W. S. Bullough, E. B. Laurence, Europ. J. Cancer, 4, 587, 607 (1968). ⁹ U. Mohr et al., Nature, 220, 138 (1968). ¹⁰ T. Rytomaa, K. Kiviniemi, Nature, 220, 136 (1968). ¹¹ W. S. Bullough, C. L. Hewett, E. B. Laurence, Exp. Cell Res., 36, 192 (1964). ¹² W. H. Boldingh, E. B. Laurence, Europ. J. Biochem., 5, 191 (1968). ¹³ J. V. Frei, P. Stephens, Brit. J. Cancer, 22, 83 (1968). ¹⁴ O. C. Франкфурт, Цитология, 9, 175 (1967). ¹⁵ A. B. Reiskin, M. L. Mendelsohn, Cancer Res., 24, 1131 (1964). ¹⁶ O. C. Франкфурт, Вопросы онкологии, 8, 68 (1966); Intern. J. Cancer, 2, 304 (1967).