

# Действие плаценты на лимфоциты и раковые клетки

Университет Чiba  
Факультет садоводства  
Биохимическая лаборатория

Moe Tsutsumi  
Yoshie Hashimoto  
Masahiro Masada

Известно, что гидролизат человеческой плаценты обладает положительным действием при хронической болезни печени, климактерических нарушениях, язве желудка и т.д.

В ходе данного эксперимента мы изучили действие гидролизата плаценты на раковые клетки HL60 и иммунные системы, к которым относится естественный лимфоцит-киллер (NK). В ходе исследования был использован препарат Леннек, являющийся одним из гидролизатов плаценты.

## <Действие на раковые клетки>

Образец А представляет собой необработанный гидролизат плаценты, а образец В – обработанный активированным углем гидролизат плаценты.

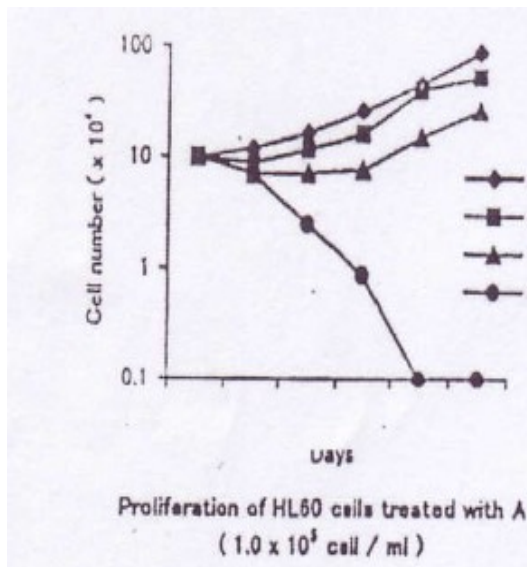
Суть обработки состоит в том, что активированный уголь добавляется к гидролизату плаценты и перемешивается при 4°C в течение всей ночи, после чего удаляется при помощи фильтрования с отсасыванием. Фильтрат лиофилизируется, и получившийся в результате порошок используется как неабсорбированная фракция активированного угля и гидролизата плаценты. HL60, человеческие промиелоцитарные лейкозные клетки, выращиваются в течение пяти дней, для сравнения в качестве контроля используются клетки без добавления гидролизата.

На “Рис.1” и “Рис.2” показаны кривые роста клеток HL60 в присутствии необработанного гидролизата плаценты А или В в течение 5 дней. По вертикальной оси показано число клеток, по горизонтальной – число дней выращивания. Верхней линией показан контроль, остальными – добавление образца А по 0.5 ~ 1.0 мг/мл.

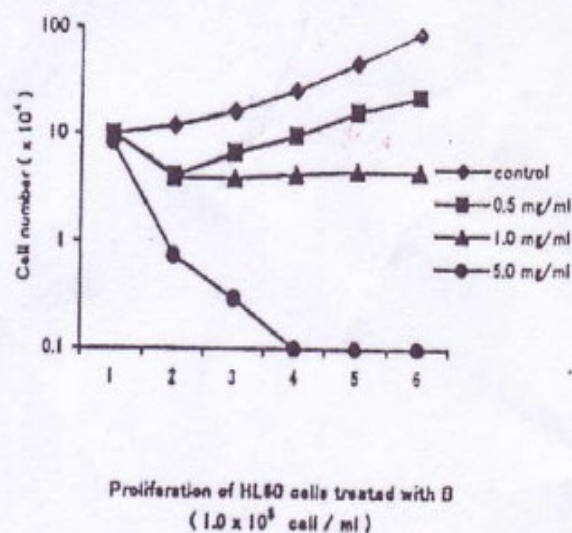
Данный график указывает на подавление роста клеток HL60 в присутствии образца А. Следует отметить, что число клеток снижается на первый день, а последующая скорость их роста остается почти такой же, как у контрольных клеток. Следовательно, предполагается, что добавление гидролизата плазмы каким-то образом вызывает гибель клеток.

При добавлении обработанного активированным углем гидролизата В рост клеток HL60 также подавляется. В данном случае при добавлении образца В в количестве

0,5мг/мл, наблюдается та же ситуация, что и при применении образца А – число клеток на первый день снижается, а последующая скорость их роста остается почти такой же, как у контрольных клеток. Однако при применении 1,0мг/мл, почти не наблюдается признаков роста клеток. Следовательно, предполагается, что существует вероятность подавления способности к росту гидролизатом плаценты в определенной концентрации.



(Рисунок 1)



(Рисунок 2)

Рис 1:

*cell number* – число клеток

*days* – дни

*control* – контроль

*mg/ml* – мг/мл

*Proliferation of HL60 cells treated with A (1,0 x 10<sup>5</sup> cell/ml)* – пролиферация клеток HL60 при обработке образцом А (1,0 x 10<sup>5</sup> кл/мл)

Рис 2:

*cell number* – число клеток

*days* – дни

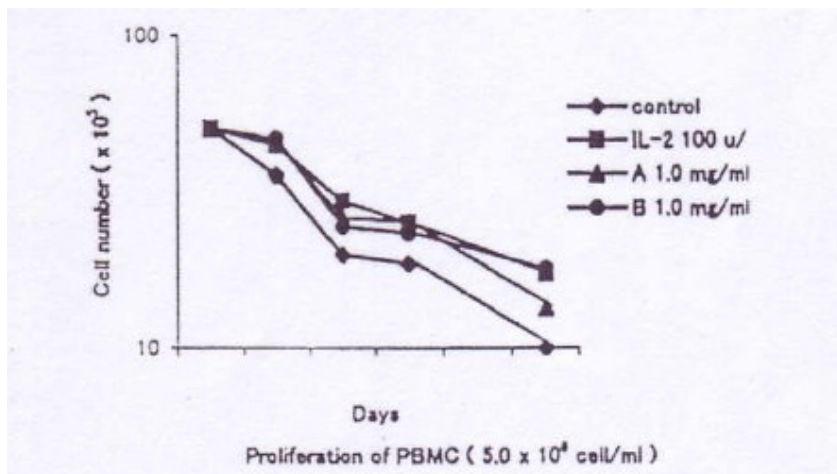
*control* – контроль

*mg/ml* – мг/мл

*Proliferation of HL60 cells treated with B (1,0 x 10<sup>5</sup> cell/ml)* – пролиферация клеток HL60 при обработке образцом В (1,0 x 10<sup>5</sup> кл/мл)

На "Рис. 3" показана кривая роста человеческого лимфоцита периферической крови (РВМС) при добавлении образцов А и В в течение 5 дней. Рост нормальных клеток РВМС снижается в течение периода выращивания, однако возможно еще более замедлить уменьшающуюся скорость путем добавления цитокина интерлейкина 2 (IL-

2), способного индуцировать дифференцировку. При добавлении гидролизата плаценты, в особенности обработанного активированным углем, наблюдался почти такой же эффект снижения скорости роста клеток как в случае с IL-2. Следовательно, доказано, что гидролизат плаценты не обладает таким же действием на PBMC, как на HL60.



(Рисунок 3)

*Рис 3*

*cell number – число клеток*

*days – дни*

*control – контроль*

*mg/ml – мг/мл*

*Proliferation of PBMC (5,0 x 10<sup>3</sup> cell/ml) - пролиферация клеток PBMC (5,0 x 10<sup>3</sup> кл/мл)*

Как объяснялось выше, считается, что гидролизат плаценты каким-то образом в зависимости от концентрации вызывает гибель клеток HL60 и подавляет способность к росту. При этом, подтверждается, что на рост нормальных клеток он не оказывает такого действия, как на HL60.

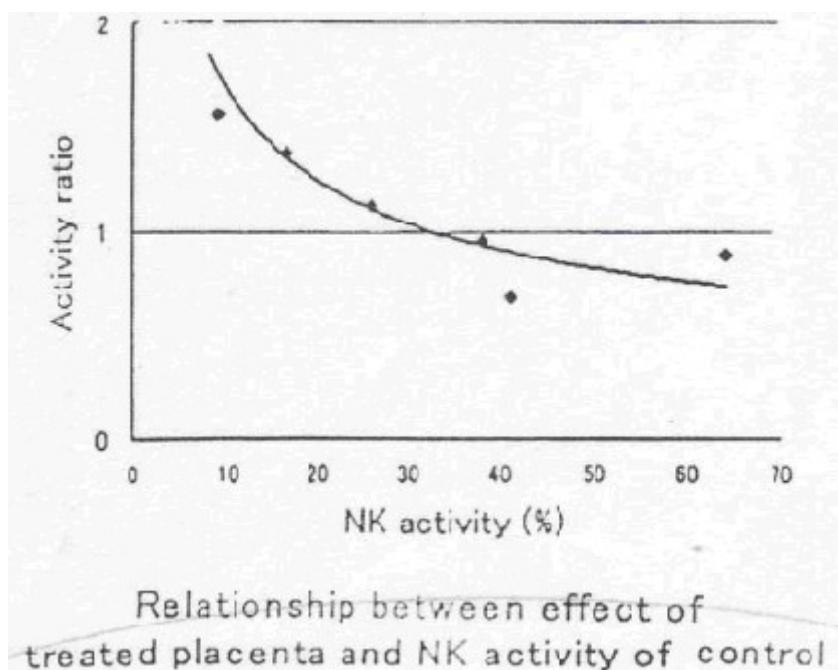
<Действие на активацию естественных киллеров>

Активация естественного киллера (NK) указывает на активацию NK-клеток, присутствующих в человеческих лимфоцитах, направленную против клеток-мишеней. Когда активация NK-клеток достигает высокого уровня может развиваться нарушение иммунитета, такое как ревматизм или аллергия. Низкий уровень активации может вызвать рак. Также известно, что активация NK изменяется в зависимости от физического или психологического состояния. В данном эксперименте активация NK используется в качестве индекса.

Лимфоциты, выделенные из человеческой периферической крови (PBMC) используются как клетки-эффекторы, а человеческие промиелоцитарные лейкозные клетки (K562) – в качестве клеток-мишеней.

Гидролизат плаценты добавляют к PBMC, и культивируют в течение двух дней. Затем измеряют уровень активации NK-клеток при помощи флуоресцентного метода.

Активация NK-клеток у разных людей различна, данный показатель оценивается по трем уровням; низкому, среднему, и высокому. В результате, уровень активации повышается для низкой активации NK-клеток и снижается для высокой. Активация не действует на клетки с нормальным уровнем активации.



(Рисунок 4)

Рис 4:

*Activity ratio* – показатель активности

*NK activity* – активность NK-клеток

*Relationship between effect of treated placenta and NK activity of control* – отношение между действием обработанной плаценты и активностью NK-клеток контроля

Горизонтальная ось: активация NK-клеток

Вертикальная ось: активация NK-клеток после добавления гидролизата плаценты/  
активация NK-клеток до добавления гидролизата плаценты

Исходя из данного результата, полагают, что гидролизат плаценты обладает контрольной способностью поддерживать активность NK-клеток на нормальном уровне против лимфатических систем.