

## IN VITRO KARCINOGENEZIS VIZSGÁLATOK EGÉR FIBROBLASZT SEJTEKEN

LAPIS KÁROLY az MTA levelező tagja, FERENCZ GÉZA, SZENDE BÉLA, az orvostudományok kandidátusa, KOVALSZKY ILONA, JENEY ANDRÁS, az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1976. IX. 3.

### *Bevezetés*

Szövettenyésztetben fenntartott sejtek különböző kémiai karcinogén anyagok hatására malignusan transzformálódhatnak (Berwald és Sachs 1963, 1965). A policiklusos szénhidrogének közül gyakran használt vegyület a metil-kolantrén (MC); abból is elsősorban a 3-MC és a 3-MC 11., 12. oxid formát használják in vitro vizsgálatokhoz. A felhasznált dózis általában magas, 0,5—10  $\mu\text{g/ml}$  között mozog. (Chen 1969, Huberman 1972, Diamond 1972.) A karcinogén anyagok hatásában az alkalmazási módtól (in vivo vagy in vitro), a tesztobjektumként használt állatfajtól és sejtípustól függően különbségek mutatkoznak. A karcinogén hatás kialakulásához szükséges a kérdéses vegyület aktív formába történő átalakulása. Ez a folyamat a mikroszomális aril hidrokarbon hidroxiláz (AHH) enzim jelenlétéhez, ill. kellő mennyiségéhez kötött (Gelboin 1971). Ez az enzim emlős állatok májában megtalálható, de más szövetek izolált sejtjeiből (így pl. az emberi embrionális fibroblasztokból) hiányozhat (Kuroki 1974). Az aktív vegyület (hidroxid ill. epoxid) meghatározott kromatin fehérjéhez kötődik (H-protein, ligandin), melynek hiányában nem jön létre a DNS és a karcinogén anyag közötti, transzformációt eredményező kölesönhatás (Ketterer 1974). Megnehezíti az in vitro nyert eredmények értékelését az a tény is, hogy egy bizonyos passzálás-szám után a szövettenyésztetben fenntartott — különösen egér eredetű — sejtek spontán malignusan transzformálódhatnak (Sanford 1968). A malignus transzformáció vizsgálatára ajánlott in vitro módszerek önmagukban nem elegendők a malignus transzformáció igazolására (Sanford 1974). Az egyetlen bizonyító erejű kísérletnek az állatba visszaoltott sejtek daganatképző képességét tekintik (Eagle 1970).

Vizsgálatainkban a ritkábban használt 20-MC viszonylag alacsonyabb dóziséval CBA  $T_6T_6$  egérembrío-fibroblaszt sejtek malignus átalakítását igyekeztünk létrehozni. A kezeletlen és kezelt kultúrák összehasonlításával adatokat kívántunk nyerni a megváltozott tulajdonságokról, a malignus transzformáció és a sejtek AHH aktivitásának kapcsolatáról, a CBA  $T_6T_6$  egértörzs izolált embrionális sejtjeinek transzformálhatóságáról, a transzformáció során bekövetkező, azt kísérő és jelző, a biológiai sajátosságokat illető változásokról, különös tekintettel a sejtek AHH aktivitására.

### *Anyag és módszer*

#### *Szövettenyészetek kialakítása:*

A szövettenyészetek kialakítása a beltenyésztett CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egértörzsből származó 20 napos embriók felhasználásával történt. Az embriók tüdejét steril körülmények között szövettani ollóval feldaraboltuk, majd PBS-ben történt mosás után 20 percig 0,25%-os tripsin oldattal emésztettük. Szűrés és centrifugálás után (1000/perc) a sejteket 10 ml médiumban (Parker médium + 10% borjúsavó) Falcon plasztik edényekben 37 C°-on inkubáltuk.

#### *A tenyészetek fenntartása:*

A kialakított sejttenyészetek passzálásához 0,25%-os tripsin oldatot, fenntartásához 10% borjúsavót tartalmazó Parker médiumot használtunk. A passzálás az első néhány alkalommal ritkábban és tápfolyadékcserevel felváltva, később a stabilizálódott sejtvonalak esetében átlagosan 5 naponként történt (500 000 sejt/10 ml).

#### *A kísérletre felhasznált sejtvonal kiválasztása:*

Az indított tenyészetek jelentős részéből nem sikerült stabilizálódott sejtvonalat kialakítani. A stabilizálódott sejtvonalak közül néhány a malignus transzformálódásra utaló jeleket mutatott már a 20. passzázs előtt is.

Ismertetendő vizsgálatainkhoz azt a sejtvonalat választottuk ki, amely kezeletlenül, állatba való visszaoltás után a 20. passzázsra még nem okozott daganatot. Ez a sejtvonal *in vitro* növekedése során sem mutatott malignus átalakulásra utaló biológiai, illetve morfológiai jeleket.

#### *Kezelések:*

A 20 MC-vel való kezeléshez 10 000 sejt/edény koncentrációban ülepítettük ki a sejteket, majd az MC-t DMSO-ban oldva adtuk a sejtek médiumához úgy, hogy a DMSO végkoncentrációja ne haladja meg a 0,05%-ot. Az MC-t tartalmazó médiumot 14 napig csere nélkül a tenyészeteken hagytuk. Kontrollként kezeletlen, ill. 0,05% DMSO-val kezelt tenyészeteket használtunk.

#### *Sejtdenzitás meghatározása:*

A kezeletlen és kezelt sejteket 0,5 millió sejt/edény koncentrációban ülepítettük ki a kísérleti edényekbe. Az összsejtszámot és az 1 cm<sup>2</sup> edényfelületre eső sejtszámot Buerker kamrában határoztuk meg naponként a tenyésztési idő alatt. A kultúrákon az 5. napon tápfolyadékcsereét végeztünk, így 9 napon át kísérhettük figyelemmel a sejtdenzitás alakulását.

### *Savókoncentráció-függés vizsgálata :*

A szokásos passzálásokhoz 10% borjúsavót tartalmazó médiumot használtunk. Ennek hígításával 5, 3, 1% savót tartalmazó médiumot állítottunk elő. Passzáláskor a sejteket alacsony sejtszám felhasználásával (5 000 sejt/edény) ülepítettük ki. Ilyen módon az egyes sejtekből képződő telepeket külön-külön tudtuk tanulmányozni. Az inkubációs idő elteltével (5. és 6. nap) vizsgáltuk a telepenként észlelt sejtszámot a különböző szérumkoncentrációknál.

### *Telepkezelés vizsgálata lágyagar-médiumban :*

A sejteket is tartalmazó komplett médiumhoz forró fürdőben tartott 5%-os agar-agar (Difco) törzsoldatot cseppentettünk olyan mennyiségben, hogy az agar-agar végkoncentrációja 0,4%-os legyen. Ezután a szuszpenziót 5 ml-enként 5 cm átmérőjű Falcon plasztik petricsészékbe mértük szét, majd 5% CO<sub>2</sub> — 95% levegővel átáramoltatott termosztátban 8 napig inkubáltuk. Az inkubálási idő elteltével a telepenkénti átlagos sejtszámot vizsgáltuk.

### *Állatoltások kivitelezése :*

A sejteket — tripsinnel eltávolítva az edényfalról — centrifugáltuk (1000/perc), háromszor mostuk fiziológias konyhasóoldattal, majd ugyancsak fiziológias konyhasóoldattal oly módon hígítottuk, hogy a kapott szuszpenzió 0,1 ml-e  $4 \times 10^6$  sejtet tartalmazzon. A sejtek befecskendezése újszülött CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egerekbe, a hát bőre alá történt (0,1 ml/állat). A sejtekkel beoltott egereket — amennyiben azokban daganat nem keletkezett — 6 hónapos korukig megfigyelés alatt tartottuk. Daganatképződés esetében a tumor általában már az oltást követő 10. napon tapinthatóvá vált, és a 20. napra átmérője elérte az 1—1,5 cm-t. Ekkor az állatokat leöltük és a daganatokat kipreparáltuk. A daganatszövetből egyrészt morfológiai vizsgálatokat végeztünk, másrészt a daganatsejteket újabb in vitro kultúrák létesítésére használtuk fel.

### *Biokémiai vizsgálatok*

A vizsgálatokhoz 48 órás tenyészeteket használtunk. Egy-egy minta 2 millió sejtet tartalmazott. Az AHH aktivitást *Nebert és Gelboin* (1968) módszere szerint mértük, és a 30 perc alatt képződött NaOH oldékony Benzpyren átalakulási termék 1 mg sejtfehérjére vonatkoztatott fluoreszcenciájában fejeztük ki. A képződött termék fluoreszcenciáját *Gelboin* által rendelkezésünkre bocsátott 3-OH-Benzpyren és máj mikroszomalis enzim által átalakított Benzpyren származék fluoreszcenciájával hasonlítottuk össze.

### Morfológiai vizsgálatok

A monolayer kultúrákat etanol-ecetsavas fixálás után Giemsa oldattal festettük meg. Szövetteni metszeteket 4%-os formalinos fixálás és paraffinos beágyazás után készítettünk; ezeket HE-al festettük.

### Eredmények

A kiválasztott sejtvonal a hatodik passzálás után stabilizálódott, de még nem mutatott malignus transzformációra utaló jeleket, így alkalmas volt a carcinogénnel történő kezelésre. Felszaporítás után a nyolcadik passzálásánál került sor a 20-MC toxicitásának vizsgálatára. Az eredményeket az 1. táblázatban

1. táblázat

Mc toxicitásának meghatározása CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egér fibroblaszt sejtekben

Kiindulási sejtszám: 10 ezer sejt/edény

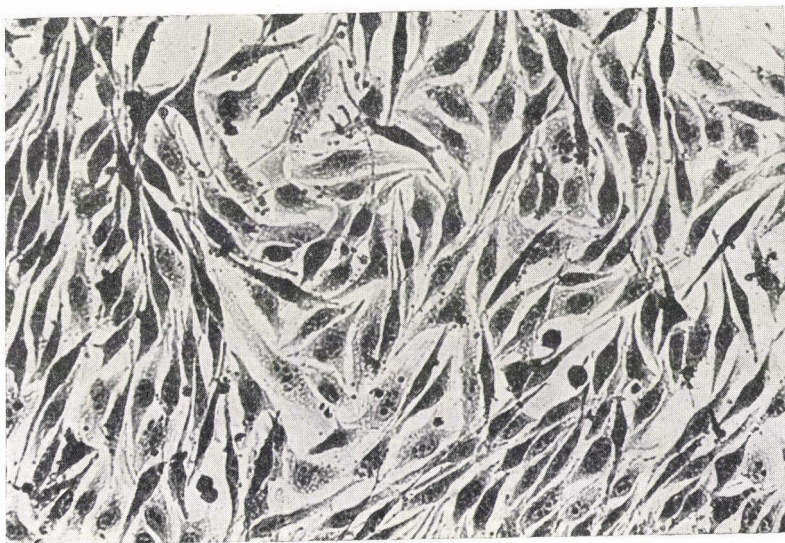
Kezelési idő: 5 nap

Passzálás-szám: 8

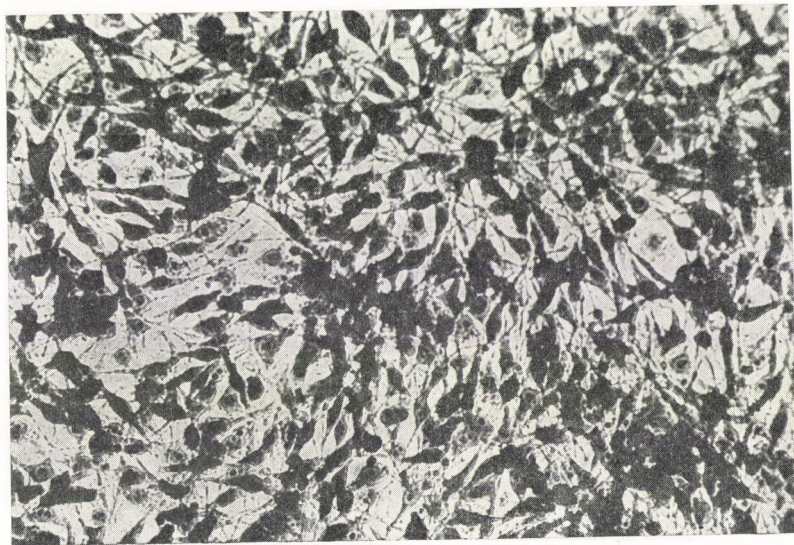
MC cc.	sejtszám/edény
0,01 $\mu\text{g/ml}$	310 ezer
0,1 $\mu\text{g/ml}$	320 ezer
1 $\mu\text{g/ml}$	310 ezer
10 $\mu\text{g/ml}$	270 ezer
50 $\mu\text{g/ml}$	180 ezer
K $\mu\text{g/ml}$	320 ezer
DMSO K $\mu\text{g/ml}$	310 ezer

közzöljük. Az általunk alkalmazott és sikeres malignus transzformációt létrehozó MC-dózis a 0,1  $\mu\text{g/ml}$ , tehát nem mutatkozott toxikusnak. A tenyészet kezelését a nyolcadik passzálás után végeztük 0,1  $\mu\text{g/ml}$  MC felhasználásával. A 14 napos kezelési periódus elteltével a kezeletlen és a kezelt sejtek morfológiája között jelentős eltérés mutatkozott (1. és 2. ábra). A kezelt kultúrákban a kontakt gátlás felfüggesztődött, a sejtek sokirányú növekedés mellett több réteget alkottak. A kezeletlen és kezelt kultúrák biológiai sajátosságainak további összehasonlítására a sejtek felszaporítása után került sor. A további passzázsok során tápfolyadékcsere nélkül, szokott tenyésztési viszonyok mellett a kezeletlen és kezelt sejtpopulációk *szaporodási sajátosságai* nem különböztek egymástól (2. táblázat).

A monolayer kialakulását követő tápfolyadékcsere után végeztük el a *sejtdenzitás* összehasonlítását. Jelentős különbséget kaptunk az edényenkénti összsejtszám és az ebből számított egységnyi felületre eső sejtszám vonatkozásában. Az 5. napon végzett tápfolyadékcsere után az 1 cm<sup>2</sup>-re eső sejtszám csak



1. ábra: Kezeletlen CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egér tüdő fibroblaszt, 13. passzázs. A kontakt gátlás érvényesül. a sejtek egy réteget alkotnak. (Giemsa, 300x)



2. ábra: MC-kezelt (0,1 µg/ml) CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egér tüdő fibroblaszt, 3. passzázs kezelés után. A kontakt gátlás felfüggesztődött, a sejtek helyenként több rétegben nőnek. (Giemsa, 300x)

## 2. táblázat

Kezeletlen és MC-kezelt sejtvonal sejtszámának alakulása szokásos passzálások során

Napok	Kontroll		MC-kezelt	
	Passzázs szám	Sejtszám/edény (x 10 <sup>6</sup> )	Passzázs szám	Sejtszám/edény (x 10 <sup>6</sup> )
0.	13	0,6	3	0,6
1.	13	0,6	6	0,6
2.	13	0,9	3	1,0
3.	13	1,6	3	1,6
4.	13	2,1	3	2,3
5.	13	2,2	3	2,3
0.	18	0,5	8	0,5
1.	18	0,4	8	0,4
4.				
2.	18	0,7	8	0,8
3.	18	1,1	8	1,1
4.	18	1,5	8	1,6
5.	18	2,1	8	2,1
6.	18	2,3	8	2,3

## 3. táblázat

A sejtdenzitás és összsejtszám alakulása a kezeletlen és MC-kezelt sejtvonalban tápfolyadékcseré előtt és után

Sejtszám a kísérlet indításakor: 0,5 mill/edény (10 mo)

Passzázs szám: Kontroll 15

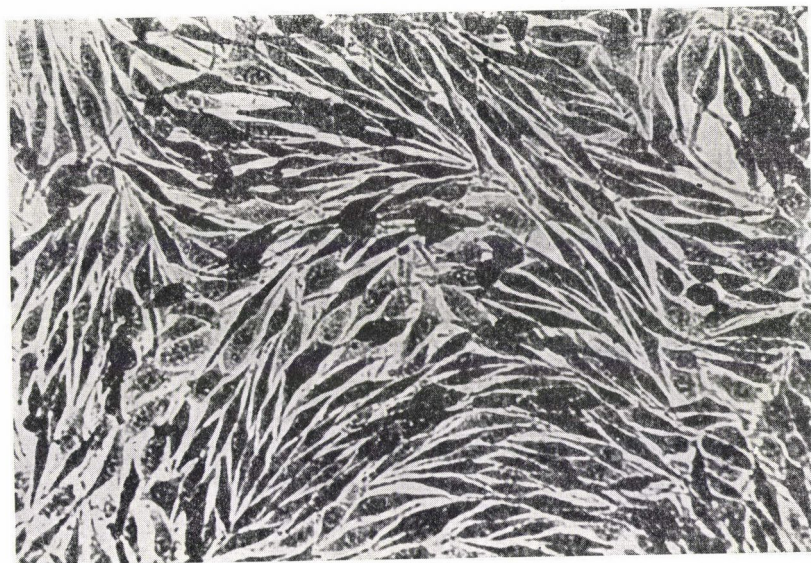
MC-kezelt 5

Tápfolyadékcseré: 5. napon

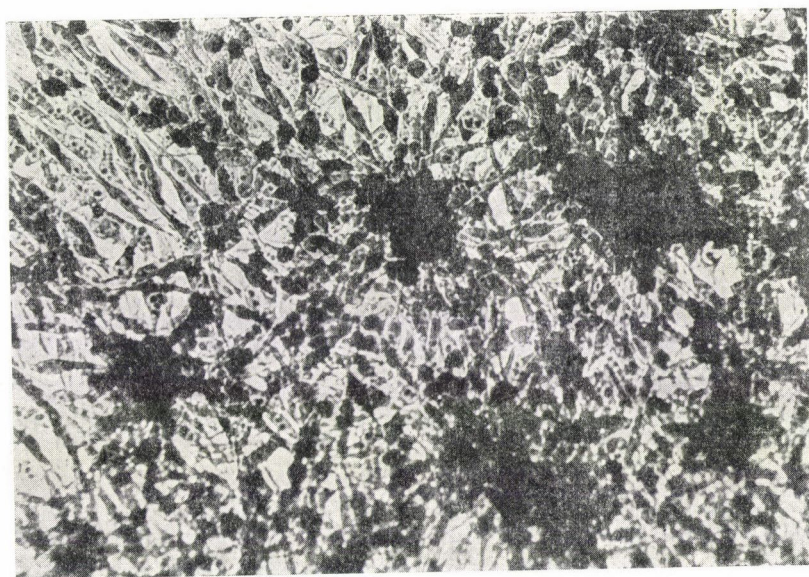
Napok	Kontroll		MC-kezelt	
	Sejtszám (x 10 <sup>6</sup> )	Sejt/cm <sup>2</sup> (x 10 <sup>4</sup> )	Sejtszám (x 10 <sup>6</sup> )	Sejt/cm <sup>2</sup> (x 10 <sup>4</sup> )
0.	0,5	0,2	0,5	0,2
1.	0,4	0,16	0,45	0,18
2.	0,7	0,28	0,8	0,32
3.	1,1	0,44	1,3	0,52
4.	1,8	0,72	1,8	0,72
5.	2,2	0,88	2,3	0,92
6.	2,4	0,96	2,7	1,08
7.	2,3	0,92	3,2	1,28
9.	1,8	0,72	2,4	0,96

az MC-vel transzformált kultúra esetében haladta meg a 6. és 7. napon az  $1 \times 10^4$  sejtszámot (3. táblázat, 3., 4. ábra).

A *szérumkoncentráció csökkentésének* hatását a sejtek osztódására a 14. passzázs (MC-kezelt sejtekre vonatkoztatva 4. passzázs) után vizsgáltuk. A 4. táblázatból látható, hogy a telepenkénti átlagos sejtszám a 3%-os savókoncentráció mellett mutatott jelentős eltérést a kezeletlen és MC-kezelt sejtpopuláció



3. ábra: Kezeletlen CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egér tüdő fibroblaszt három nappal a tápfolyadékcseré után, 15. passzázs. A tápfolyadékcseré után a kezeletlen sejtek nem mutatnak többrétegű növekedést. (Giemsa, 300x)



4. ábra: MC-kezelt CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egér tüdő fibroblaszt három nappal a tápfolyadékcseré után, 5. passzázs a kezelés után. A többrétegű ún. criss-cross növekedés kifejezettebbé válik. (Giemsa, 300x)

## 4. táblázat

Kezeletlen és MC-kezelt sejtvonal szérumkoncentráció függésének meghatározása

Sejtszám a kísérlet indításakor: 5000/edény (10 ml)

Passzázs szám: Kontroll 14

MC-kezelt 4

Szérumkoncentráció: 1–10%

Szérumkoncentráció (százalék)	Kontroll átlagos sejtszám/telep		MC-kezelt átlagos sejtszám/telep	
	5. nap	6. nap	5. nap	6. nap
1	0	0	3	3
3	1,5	0	9,5	15
5	8,2	14	9,7	17
10	9,8	16	10	17

## 5. táblázat

Kezeletlen és MC-kezelt sejtek telepképző képessége lágyagaras mediumban

Agar koncentráció: 0,4%

Kondicionálási idő: 8 nap

Passzázs-szám:

kontroll: 18

MC-kezelt: 8

Sejtszám a kísérlet indításakor: 1000/petrics. (8. ml)

Sejtvonal	2 sejt/telep	3–6 sejt/telep	7–10 sejt/telep
Kontroll	10%	—	—
MC-kezelt	12%	8%	2%

között. Míg a kezeletlen sejtek ennél a koncentrációnál osztódásra nem voltak képesek, a kezelt sejtek átlagosan 15 sejtet tartalmazó telepeket képeztek.

*Lágyagaros médiumban való telepképzésre* — bár alacsony százalékban — csak az MC-kezelt sejtek voltak képesek (5. táblázat).

A mikroszomális AHH enzimaktivitás vizsgálatára a passzálások során folyamatosan került sor. Így a kontroll-sejtek esetében a 13., 17., 26. passzálásnál, az MC-kezelt sejtpopuláció esetében a kezeléstől számított 3., 7., 16. passzálásnál. Az eredményeket az 5. ábrán mutatjuk be. A 3-OH-BP-re jellemző karakterisztikus fluoreszcenciát a kezeletlen vonal esetén a 13. és 17., a transzformált vonal esetén pedig csak a 3. passzázsban tudtuk észlelni, és ekkor is igen alacsonynak bizonyult. Ugyanakkor a NaOH-val extrahálható fázisban egy új fluoreszcenciás sajátossággal rendelkező anyag jelent meg, melynek gerjesztési maximuma 370 nm, fluoreszcencia maximuma pedig 480 nm volt. Ezt a fluoreszcenciát sem az oldott benzpyrenben, sem a hexan oldékony fázisban, sem a máj mikroszomális enzim által képzett NaOH oldékony fázisban nem



## 6. táblázat

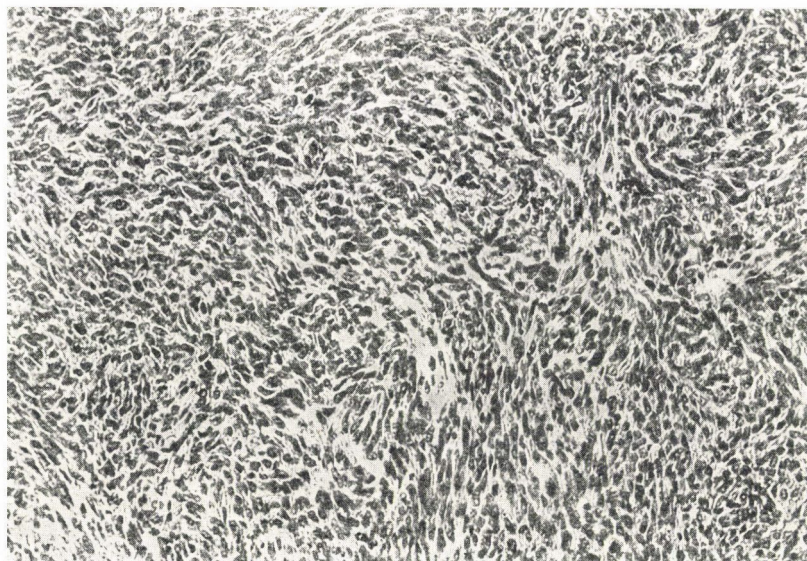
A kezeletlen és MC-kezelt sejtek visszaoltása újszülött CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egerekbeSejtszám: 4 × 10<sup>6</sup>/állat, sc.

Kiértékelés: oltás utáni 20. napon.

Sejtvonalak	Passzázs szám	Testsúly	Tumorsúly	Tumorsejtek szaporodása ismét szövettényészetben
Kontroll	9	9 g	—	—
		10	—	—
		9	—	—
	13	8	—	—
		8	—	—
		9	—	—
	16	11	—	—
		18	7	—
	18	10	—	—
		11	—	—
	19	10	—	—
		8	—	—
		9	—	—
	21	7	1	+
		26	8	1,2
30		7	2	+
		8	2,5	+
MC-kezelt	3	7,5 g	3,6 g	+
		8	3,2	+
		9	4	+
	6	8	3,2	+
		9	4	+
		6,5	3,2	+
	7	7,2	3,1	+
		10	4,2	+
	9	8 g	2 g	+
		7,9	3,8	+
		8,5	3,8	+
		8	3	+

tudtuk kimutatni, ezért feltételezzük, hogy egy általunk ismeretlen BP átalakulási termék képződött. A két vonal között az eltérés a következő volt. Míg a normál vonal esetén az első két passzázsban egyaránt megtalálható a 3-OH-BP és az új termék fluoreszcenciája, addig a transzformált vonal 3. passzázsában csak a normál vonalhoz viszonyítva igen alacsony 3-OH-BP fluoreszcenciát tudtuk mérni. Az új termék fluoreszcenciája, a malignus vonalban, a 7. passzázsban jelent meg, a normál sejtekhez viszonyítva magas intenzitással, ugyanekkor a 3-OH-BP-re jellemző fluoreszcencia eltűnt. A 16. passzázs során az új anyag képződése is a normál vonal által képzett mennyiség alá csökkent.

A kezeletlen és kezelt sejtpopuláció sejtjeit a passzálások során folyamatosan visszaoltottuk a CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> állattörzs újszülött egereibe. Az eredményeket a



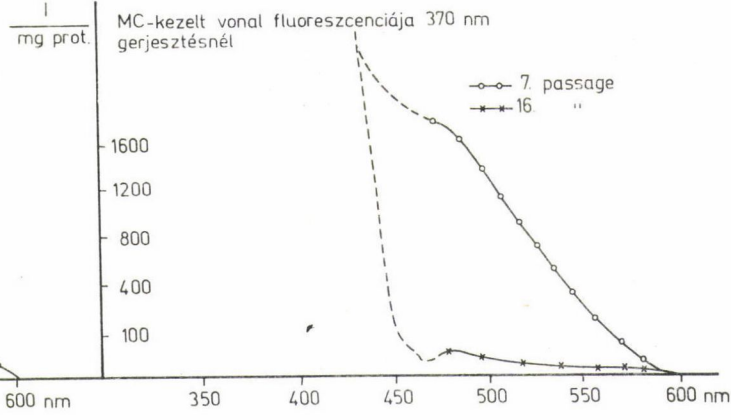
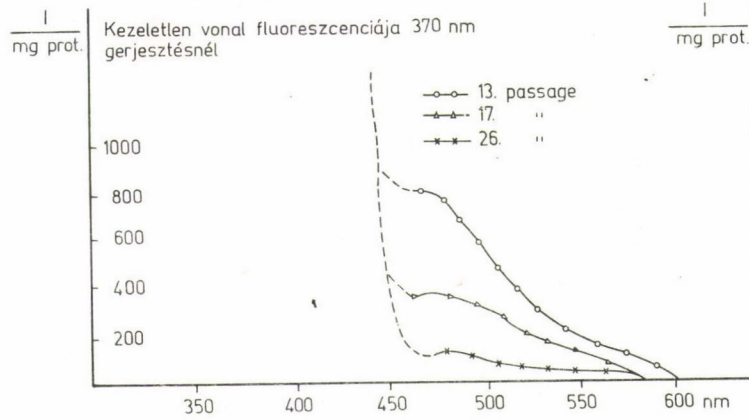
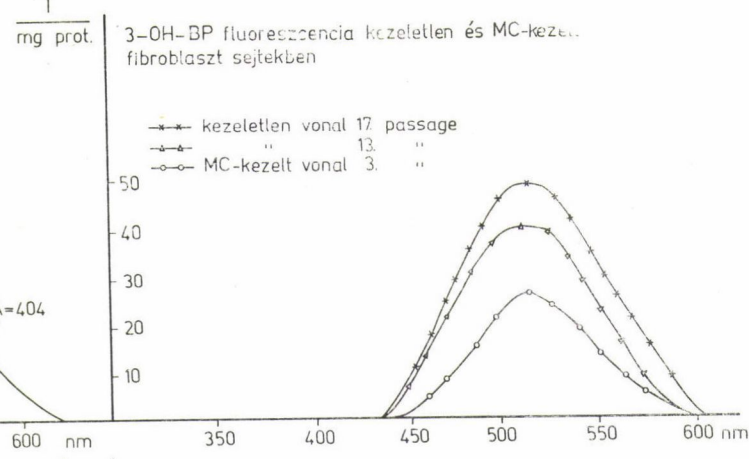
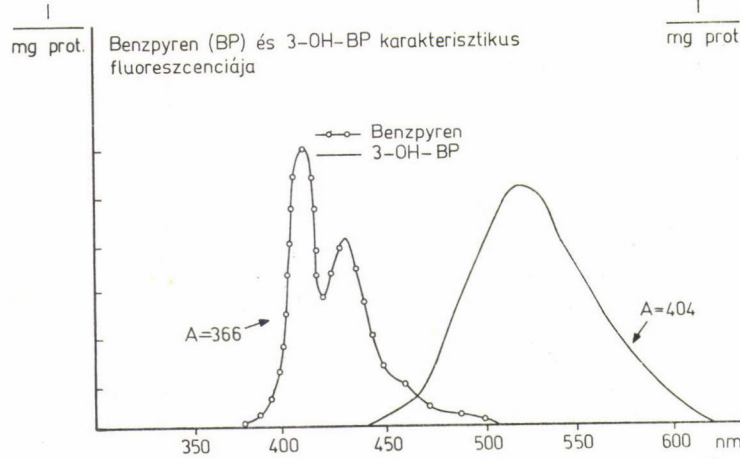
5. ábra: Az MC-kezelt fibroblaszt sejtekkel (6. passzázs a kezelés után) oltott egerek tumorából készített szövettani metszet fénymikroszkópos képe. Orsósejtes sarcoma. (HE, 300x)

6. táblázat mutatja. A visszaoltásokból megállapíthatjuk, hogy a vizsgálatokhoz felhasznált sejtvonal a stabilizálódás után a 21. passzálig nem volt malignusan transzformálódottnak tekinthető. A 21. passzálás után a sejtvonal spon-tán transzformálódott. Ez a folyamat viszonylag gyorsan következett be és az MC-kezelt sejtvonalakhoz hasonlóan daganatot okozott a kísérleti állatokban. A 21. passzálás után különben a kezeletlen sejtpopuláció sejtjei is elvesztették kontakt szenzitivitásukat és egyéb biológiai tulajdonságaikban is a malignus transzformáció jegyeit mutatták.

*Morfológiailag* az 1–1,5 g súlyú, szürkésfehér, tömött daganatok jól körülírtak voltak, a bőr alatti kötőszövetben helyezkedtek el. Kórszövettani vizsgálattal valamennyi daganat orsósejtes sarcomának felelt meg (6. ábra). A keletkezett tumorok sejtjeit tripszines emésztés után ismét in vitro körülmé-nyek közé helyeztük. A tenyésztés minden esetben sikeres volt. Az MC-kezelt sejtekből kialakult tumorokból indított szövettenyészetek fénymikroszkópos morfológiája és in vitro szaporodási tulajdonságai megegyeztek az MC-kezelt sejtpopulációval.

#### *Az eredmények megbeszélése*

Az általunk kialakított CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egérembrío fibroblaszt sejtvonal vi-szonylag alacsony, 0,1 µg/ml 20-MC dózissal malignusan transzformálható. Kísérleteink során több, az említett egértörzsből származó fibroblaszt tenyészete-t kísértünk figyelemmel. Megfigyeltük, hogy a tenyészetek nem mindig te-



kinthetők egyértelműen malignusan nem-transzformálódtak, vagy transzformálódtak. Előfordult, hogy a malignus transzformációra utaló jelek a passzálások során lassan, fokozatosan, egymástól függetlenül jelentek meg, más esetben a spontán transzformáció hirtelen következett be. A spontán malignus transzformáció vizsgálatára egyelőre csak viszonylag durva módszerek állnak rendelkezésünkre. E vizsgálatok alapján úgy látszik, hogy a leírt kísérlethez használt sejtvonalunkon a spontán transzformáció a 20. passzálás körül viszonylag rövid idő alatt következett be. Ugyanakkor az AHH aktivitásban megfigyelt lassú csökkenés arra figyelmeztet, hogy a malignus transzformáció mérhető jeleinek megjelenése előtt már megindul valamilyen átalakulás a sejtek anyagcseréjében. A megfelelő sejtvonal kiválasztásával elérhető, hogy a karcinogén anyaggal való kezelés után a biológiai tulajdonságok egyszerre, egy lépésben változzanak meg. Vizsgálatainkban az MC-nek egyes sejttelepek morfológiájára kifejtett közvetlen hatását nem tanulmányoztuk, mivel az általunk kiválasztott sejtvonal a 8. passzálás idején még nem képzett jól elkülöníthető telepeket.

Eredményeinkből megállapítható, hogy rendszerünkben a malignus transzformáció során a sejtpopuláció osztódási üteme nem változik, ugyanakkor a sejtek életképessége, ellenállóképessége növekszik. Erre utal a növekedési képesség megtartása megváltozott körülmények között (alacsony szérumkoncentráció, lágyagar). A kontakt gátlás megszűnésére viszont a mediumcseré után megfigyelt nagyobb sejtdenzitás alapján következtethetünk. A mikroszomális vegyes funkciójú oxidase vizsgálata során nyert adatok arra utalnak, hogy a BP metabolikus átalakulása kvalitatív és kvantitatív különbséget mutat egyfelől a passzálások folyamán, másfelől a normál és az MC transzformált vonalak között. A BP irodalomból ismert és leggyakrabban mért átalakulási termékét a 3-OH-Benzpyren-t, mindkét vonalnak csak a korai passzázsokban (normál 13, 17, transzformált 3) tudtuk észlelni. Ugyanakkor egy eddig ismeretlen átalakulási termékből származó fluoreszcenciát találtunk (A/F 370/480), amely hasonlóképpen a OH-BP-hez a további passzázsok folyamán szintén egyre kisebb mértékben képződik. Az MC kezelés hatására transzformálódott sejtvonalban a 3-OH-BP képződés kisebb fokú volt, majd teljesen megszűnt. Ezzel egyidőben jelent csak meg az új átalakulási termék fluoreszcenciája, mely a további passzázsok során rohamosan csökkent. 10 passzázs elteltével az időegység alatt képződött anyag mennyisége 20-ára csökkent, míg a normál vonal esetén az előző aktivitás egyharmada volt megtalálható. E vizsgálatok valószínűsítik, hogy az enzimaktivitás nemcsak szükséges a malignus transzformáció bekövetkezéséhez, hanem annak bekövetkezése vissza is hat az enzimaktivitásra.

### *Összefoglalás*

Szerzők CBA T<sub>6</sub>T<sub>6</sub> egérembrió — fibroblaszt sejtvonalakat állítottak elő. E sejtvonalak közül a spontán biztosan nem transzformált sejtvonalat 20 metilkolantrén, viszonylag alacsony (0,1 µg/ml) dóziséval malignusan transzformál-

ták. A malignus transzformáció során a kezeletlen, metilkolantrén kezelt sejt-populáció összehasonlításával vizsgálták meg a megváltozott biológiai tulajdonságokat; a kontakt szenzitivitás elvesztését és a malignus transzformáció és az aril hidrokarbon hidroxiláz enzimaktivitás kapcsolatát. Megállapították, hogy a transzformáció után a sejtek szaporodási üteme nem változott, ugyanakkor ellenállóbbá váltak a megváltozott körülményekkel szemben. A kezeletlen vonal aril hidrokarbon hidroxiláz aktivitása fokozatosan csökkent a passzálások során, a metilkolantrén kezelés hatására pedig eltűnt, illetőleg jelentősen alacsonyabbá vált, mint a kontroll esetében.

A munka támogatásáért köszönetet mondunk a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi II. (biológiai) Főosztályának és az International Agency for Research on Cancer (Lyon)-nak. (Grant N° RA 70/003)

#### IRODALOM

- Berwald, Y. és Sachs, L.*: Nature (London) **200**, 1182. (1963).  
*Berwald, Y. és Sachs, L.*: J. Natl. Cancer Inst. **35**, 641. (1965).  
*Chen, T. T. és Heidelberger, C.*: Intern. J. Cancer **4**, 166. (1969).  
*Diamond, L., McFall, R., Miller, J. és Gelboin, H. V.*: Cancer Res. **32**, 731. (1972).  
*Eagle, H., Foley, G. E. és Koprowski, H.*: J. Exp. Med. **131**, 863. (1970).  
*Gelbion, J. A., Donovan, P. J. és Nelson, R. L.*: Proc. Nat. Acad. Sci. USA **68/12**, 2958. (1971).  
*Huberman, E., Kuroki, T., Marguardt, H., Selkirk, J. K., Heidelberger, C., Grover, P. L. és Sims, P.*: Cancer Res. **32**, 1391. (1972).  
*Ketterer, B.*: XI. International Cancer Congress, Firenze **1**, 14. (1974).  
*Kuroki, T.*: XI. International Cancer Congress, Firenze, **1**, 13. (1974).  
*Nerbert, D. W. és Gelboin, H. W.*: J. Biol. Chem. **243**, 6242. (1968).  
*Sanford, K. K.*: Natl. Cancer. Inst. Monogr., **26**, 387. (1968).  
*Sanford, K. K.*: J. Natl. Cancer Inst. **53**, 1481. (1974).