

УДК 616-006: 57.085.23

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-188-196>

Для цитирования: Галимова Э.С., Галагудза М.М. Двухмерные и трехмерные модели культур клеток опухолей *in vitro*: преимущества и недостатки. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 188–196.

## Двухмерные и трехмерные модели культур клеток опухолей *in vitro*: преимущества и недостатки

Галимова Э.С., Галагудза М.М.

Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. В.А. Алмазова  
Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

### РЕЗЮМЕ

Синтез и внедрение новых химических соединений, обладающих потенциальной противоопухолевой активностью, требуют надежных предиктивных доклинических моделей для скрининга эффективности *in vitro*. Такие модели включают культуры клеток опухолей человека – двухмерные системы культур клеток 2D (two-dimensional cell culture systems) и трехмерные системы культур клеток 3D (three-dimensional cell culture systems). В этом обзоре обсуждаются особенности молекулярного фенотипа клеток, культивируемых в 2D- and 3D-системах, и их применение в исследованиях эффективности противоопухолевых препаратов с упором на ключевые примеры из научной литературы. В обзоре также проанализированы преимущества, недостатки и перспективы применения описываемых моделей культур опухолевых клеток.

**Ключевые слова:** рак, доклиническая модель, 2D- и 3D-модели культур клеток, культура клеток, скрининг эффективности препаратов *in vitro*.

### ВВЕДЕНИЕ

Первые десятилетия XXI в. ознаменовались бурным развитием геномных и постгеномных технологий, что привело к революционным изменениям в понимании молекулярных основ социально значимых и распространенных заболеваний, в том числе и онкологических. В свою очередь, это способствовало идентификации новых молекулярных мишеней и открытию множества химических и биологических соединений с противоопухолевой активностью, а также развитию систем доклинического скрининга эффективности противоопухолевых веществ *in vitro*.

Традиционным и пока незаменимым инструментом исследований в области биологии рака, создания новых противоопухолевых соединений и таргетных препаратов, а также разработки

персонифицированных подходов диагностики, профилактики и лечения онкологических заболеваний является метод культуры клеток и тканей *in vitro*. Как первичные клетки, так и панели линий клеток опухолей человека и животных представляют собой уникальный объект исследования молекулярных и (или) клеточных механизмов роста опухолей и анализа активности препаратов.

Затраты на успешное внедрение одного нового лекарственного препарата на фармацевтический рынок составляют 800–1,2 млрд долл. США со средней продолжительностью 10–15 лет. Расходы намного увеличиваются в случае неудачных клинических испытаний при раке II–III фазы [1]. Анализ клинических исследований показывает, что около 67% препаратов исключаются на поздних стадиях, что, прежде всего, связано с их низкой эффективностью и безопасностью применения. Таким образом, высокий показатель сокра-

✉ Галимова Эльвира Сафуановна, e-mail: elya-4@yandex.ru.

щения числа лекарственных препаратов указывает на недостатки существующего доклинического скрининга и моделей *in vitro*, которые не обеспечивают получение объективной информации для прогнозирования эффективности и безопасности использования лекарств-кандидатов.

Культуры клеток опухолей выращивают как с использованием монослойной двухмерной модели, так и трехмерной системы [2–4]. В настоящее время считается, что культивирование клеток в двухмерных моделях не может во всех случаях быть физиологически релевантным по отношению к сложным по структуре, гетерогенным по клеточному составу и постоянно изменяющимся во времени опухолям в организме человека [5, 6]. При использовании 2D-модели не представляется возможным воссоздать такие критически значимые в биологии рака явления, как гетерогенность популяций клеток опухоли, взаимодействие опухоли с микроокружением и организмом в целом. Тканеспецифическая архитектура наряду с элементами микроокружения являются существенными компонентами опухоли и могут быть частично воспроизведены с помощью трехмерных (3D) моделей культуры клеток [7]. Таким образом, по современным представлениям, совершен-

ная система скрининга должна максимально воспроизводить свойства и организацию опухоли в организме человека.

В настоящем обзоре анализируются современные данные о 2D- и 3D-моделях культур клеток злокачественных опухолей человека, применяемых для тестирования противоопухолевой активности химических соединений и препаратов *in vitro*.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК В 2D- И 3D-СИСТЕМАХ

В традиционной двухмерной монослойной культуре клетки прикрепляются и растут на плоской поверхности стекла или чаще всего в культуральных пластиковых флаконах (рис. 1). Монослой позволяет всем клеткам получать одинаковое количество питательных веществ и факторов роста из среды во время роста и состоит преимущественно из пролиферирующих клеток, так как некротические клетки отделяются от поверхности и легко удаляются при смене среды. Клетки, культивируемые в 2D-модели, обычно более плоские и растянутые в сравнении с клетками *in vivo*.



Рис. 1. 2D-модель культур клеток опухолей  
Fig. 1. 2D-model of tumor cell culture

Аномальная клеточная морфология в 2D-культуре влияет на многие клеточные процессы, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку, апоптоз, экспрессию генов и белков [8]. В результате поведение клеток с двухмерным культивированием отличается от такового в организме. Эта модель, таким образом, недостаточно адекватно имитирует микроокружение *in vivo* и процесс роста опухоли в организме, где существенное значение в прогрессии опухоли имеет взаимодействие между клетками и окружающим ее внеклеточным матриксом. Моделирование культур клеток в 2D-формате характеризуется рядом важных аспектов: селекцией специфического, адаптированного к росту на культуральном пластике или стекле фенотипа клеток из первоначально гетероген-

ной популяции опухолевых клеток; нарушенной поляризацией клеток по причине ограниченной экспозиции поверхности клеток в культуральной среде; сокращением межклеточных взаимодействий; отсутствием клеточно-матриксных взаимодействий и метаболических градиентов. Некоторые недостатки 2D-моделей могут быть преодолены при изменении условий культивирования.

Как было продемонстрировано в экспериментах, эффект поляризации клеток в 2D-моделях опухолей можно изменить с помощью метода сэндвич-культуры, добавляя поверх слоя клеток элементы внеклеточного матрикса (ЕСМ, extracellular matrix) [9–13]. Тем не менее традиционная двухмерная клеточная культура по-прежнему является распространенной тестовой платфор-

мой *in vitro* при скрининге противоопухолевых препаратов. На современном этапе развития медицинской биотехнологии требуется разработка наиболее достоверных методов тестирования противоопухолевых соединений. И поскольку двухмерные модели не отвечают многим предъявляемым требованиям, усилия научных групп и компаний сосредоточены на сложных 3D-системах.

Культуры опухолевых клеток 3D-моделей (рис. 2) растут на макропористых микроносителях и гидрогелях, микро- и нановолокнах, агрегатах или сфероидах с использованием скаффолда



Рис. 2. 3D-модель культур клеток опухолей: сфероиды (агрегаты) с использованием скаффолда (а) и без скаффолда (б)

Fig. 2. 3D-model of tumor cell culture: spheroids (aggregates) with scaffolds (a) and scaffold-free (b)

3D-моделирование характеризуется естественным ростом клеток в трехмерной среде, при котором сохраняются межклеточные взаимодействия, контакты с внеклеточным матриксом и микросредой. В свою очередь, эти взаимодействия в такой трехмерной архитектуре влияют на ряд клеточных функций, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку, морфологию, экспрессию генов и (или) белков и клеточные ответы на внешние раздражители. Несмотря на разработку современных систем визуализации, в экспериментах с трехмерными моделями нередко возникают технические сложности в наблюдениях за клетками. Кроме того, для сфероидов в 3D-культуре было продемонстрировано отсутствие ангиогенеза и иммунного ответа [3, 4].

Различия в паттерне экспрессии генов между клетками в 2D- и 3D-культурах играют важную роль в морфологии, пролиферации и чувствительности к лекарственным средствам, наблюдаемым в клетках, культивируемых в 2D- и 3D-системах. Линии клеток опухолей, выращенные в 2D- и 3D-культуре, часто демонстрирует различные профили экспрессии генов, особенно генов, вовлеченных в регуляцию пролиферации, ангиогенеза, миграции, инвазии и химиочувствительности [14, 15]. D. Loessner и соавт. обнаружили

или матрикса и пр. 3D-культуры на основе скаффолда или матрикса могут быть получены путем посева клеток на бесклеточном 3D-матриксе или путем диспергирования клеток в жидком матриксе с последующим затвердеванием или полимеризацией. Конструирование комплексных 3D-моделей на основе скаффолдов, выполняющих роль внеклеточного матрикса, малигнизированных клеток и компонентов микроокружения опухоли является перспективным направлением в тканевой инженерии опухолей. Для моделирования в 3D-культуре обычно используются биологические или синтетические материалы.

ли в трехмерной культуре клеток рака яичника повышенную экспрессию мРНК интегринов  $\alpha 5/\beta 1$  и матриксной металлопротеазы MMP9 (Matrix metalloproteinase 9) по сравнению с клетками в 2D-культуре [16]. А.С. Лука и соавт. в своей работе продемонстрировали влияние внеклеточного матрикса ЕСМ в трехмерных культурах на фенотипические и генотипические свойства клеточных линий колоректального рака, включая CACO-2, DLD-1, HT-29, SW480, LOVO и COLO-206F [17]. Таблица суммирует некоторые ключевые клеточные характеристики 2D- и 3D-систем культур клеток.

## 2D-И 3D-МОДЕЛИ КУЛЬТУР КЛЕТОК В СКРИНИНГЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Культуры опухолевых клеток являются ключевым инструментом, используемым для оценки потенциальной эффективности нового соединения и в исследовании лекарственного препарата. Для получения наиболее достоверных и реалистичных результатов модель культуры клеток, применяемая в качестве платформы тестирования различных соединений, должна быть максимально приближена по организации и свойствам к

клеткам в естественных условиях организма, т. е. *in vivo*.

Чувствительность клетки к противоопухолевым препаратам в трехмерных культурах, как отмечали некоторые исследователи, аналогична таковой у опухоли в организме, что отличает эту модель от 2D-культур [17–19]. В ряде исследований установлено, что клетки,

культивируемые в 3D-моделях, более устойчивы к противоопухолевым препаратам, чем в 2D-культурах [16, 20]. Например, выживаемость и пролиферация клеток рака яичников в трехмерных культурах после лечения паклитакселом была снижена на 40 или 60%, в то время как в монослое жизнеспособность клеток – на 80% [20].

Т а б л и ц а  
T a b l e

Основные преимущества и недостатки 2D- и 3D-моделей Major advantages and disadvantages of 2D and 3D models		
Показатель Characteristic	Двухмерные 2D models	Трехмерные 3D models
Морфология Morphology	Плоские и растянутые в монослое Flat and stretched in the monolayer	Естественная форма в сфероидных или агрегатных структурах Natural shape in the spheroid and aggregate structures
Пролиферация Proliferation	Пролиферируют быстрее, чем <i>in vivo</i> Prolifirate faster than <i>in vivo</i>	Могут пролиферировать быстрее или медленнее в сравнении с 2D-моделями в зависимости от типа клеток или типа 3D-модели Able to proliferate faster or slower as compared to 2D models depending on the cell type or 3D model type
Воздействие среды или препарата Exposure to the environment or drug	Клетки в монослое одинаково подвержены воздействию питательных веществ или факторов роста или препаратов, которые распределены в среде роста Cells in the monolayer are equally exposed to nutrients or growth-stimulating factor or drugs which are distributed in the growth medium	Питательные вещества и факторы роста или препараты не могут полностью проникать в сфероид Nutrients and growth-stimulating factors or drugs may not be able to fully penetrate the spheroid
Стадия клеточного цикла Stage of the cell cycle	Наиболее вероятно, что клетки будут находиться на одной и той же стадии клеточного цикла из-за того, что в равной степени подвергаются воздействию среды Most likely, the cells will be at the same stage of the cell cycle because of the fact that they are equally exposed to the environment	Сфероиды содержат пролиферирующие, покоящиеся, гипоксические и некротические клетки Spheroids include proliferating, resting, hypoxic, and necrotic cells
Ген или белок экспрессии Gene or protein of expression	Проявляют различные уровни экспрессии по сравнению с моделями <i>in vivo</i> Show different levels of expression as compared to <i>in vivo</i> models	Демонстрируют профили, аналогичные в тканях <i>in vivo</i> Show expression profiles similar to <i>in vivo</i> tissues
Устойчивость к препарату Resistance to the drug	Чувствительны Sensetive	Более устойчивы More resistant

Н. Karlsson и соавт. оценили чувствительность клеток рака толстой кишки HCT-116 в 3D-сфероиде и монослойной культуре к четырем стандартным противоопухолевым препаратам (мелфалан, 5-фторурацил (5-FU), оксалиплатин и иринотекан) и двум новым соединениям (акрифлавин и малая молекула VLX50) [21]. Согласно результатам исследования, все препараты проявили высокую активность в 2D-модели. Активность в сфероиде была ниже и постепенно утрачивалась (6-дневные сфероиды были более устойчивыми, чем 3-дневные). Возможно, генети-

ческие и фенотипические изменения, вызванные образованием трехмерных сфероидов, влияют на повышенную устойчивость к противоопухолевой терапии.

Кроме того, можно предположить, что в основе устойчивости к соединениям и противоопухолевым препаратам лежит механизм усиления межклеточных взаимодействий, обусловленный клеточной адгезией, растворимыми факторами и микроокружением (низкое значение pH и гипоксия) [22, 23]. Показано, что ограниченная диффузия питательных веществ и кислорода в

центральные участки сфероидов приводят к активации генов, которые кодируют белки, контролирующие апоптоз (онкосупрессор p53 и семейство bcl-2) и выживаемость клеток, а также чувствительность к лекарственным средствам (MRP, multidrug resistance associated protein) [24]. Подобная опосредованная белками семейства MRP резистентность опухолевых клеток к химиопрепаратам в 3D-сфероидах наблюдалась и в экспериментах *in vivo* [25]. Исследование с использованием 3D-культуры опухолевых клеток печени в качестве модели *in vitro* продемонстрировало роль стромальных клеток в формировании резистентности к противоопухолевым препаратам [26].

Различия в чувствительности к противоопухолевой терапии между 2D- и 3D-культурами, возможно, обусловлены, но не ограничиваются следующими аспектами. Во-первых, существует различие в физических и физиологических свойствах между трехмерными и двухмерными культурами. В то время как клетки в 2D-моделях растягиваются в неестественном состоянии на плоской подложке, клетки, культивируемые в 3D-системах на биологическом или синтетическом материале, сохраняют свою обычную морфологию. L. Gurski и соавт. установили влияние морфологии клеток на устойчивость к воздействию противоопухолевых соединений как в 2D-, так и в 3D-моделях [27].

Во-вторых, наблюдается различие в экспрессии и пространственной организации поверхностных рецепторов. Многие таргетные противоопухолевые препараты нацелены на конкретные мембранные рецепторы клеток. Уровень экспрессии рецепторов и эффективность связывания противоопухолевого соединения с этими рецепторами могут существенно различаться в трехмерных и двумерных культурах из-за различий в структуре, локализации и пространственном расположении рецепторов на поверхности клеток [28].

В-третьих, показано различие в уровне экспрессии генов. Клетки, растущие в монослойной культуре, подвергаются стрессу, влияющему на экспрессию генов и белков, что в свою очередь может снизить эффективность применения противоопухолевых препаратов.

В-четвертых, существует различие в фазах клеточного цикла. Клетки в 2D-моделях являются в подавляющем большинстве пролиферирующими, тогда как в трехмерных культурах клетки обычно представляют собой смесь клеток, находящихся на разных фазах клеточного цикла. Z. Wen и соавт. указывают, что более крупные

сфероиды являются гетерогенными, с пролиферирующими клетками во внешней области и покоящимися клетками во внутренней части, что связано с дефицитом питательных веществ и неэффективным газообменом. В определенных случаях для тестирования некоторых противоопухолевых соединений и препаратов обязательным условием является наличие активно пролиферирующих клеток [28]. К подобным препаратам относятся 5-фторурацил (5-FU) и доксорубицин. Y.C. Tung и соавт. установили, что отсутствие пролиферирующих клеток в 3D-культуре эпителиальной карциномы A431.H9 привело к 100-кратному увеличению резистентности к 5-фторурацилу [29]. K. Chitcholtan и соавт. наблюдали подобную картину с доксорубицином и клетками рака эндометрия линий KLE [31]. В-пятых, наблюдается различие в эффективности проникновения препаратов в клетку и локальном pH. В то время как препараты доступны клеткам в монослое 2D-модели в одинаковой степени, диффузия соединений к клеткам в сфероиде 3D-модели может варьировать в зависимости от локализации клеток.

P. Swietach и соавт. выявили важность внутриклеточного pH при определении эффективности химиотерапевтических препаратов, таких как доксорубицин, показав, что более низкий pH снижает транспорт препарата, способствуя лекарственной устойчивости [31]. При этом именно в сфероидах создаются условия для формирования более низких значений pH, характерных для большинства солидных опухолей *in vivo*.

Прорывной технологией в современной противоопухолевой терапии являются препараты, действующие на целевые или таргетные молекулы, задействованные в механизмах роста опухоли и канцерогенеза. 3D-модели культур клеток обладают бесспорными преимуществами перед 2D-культивированием в развитии таргетной терапии. Так, в своей работе J.M. Nam и соавт. в 3D-модели продемонстрировали гиперэкспрессию клетками рака молочной железы молекулы клеточной адгезии  $\alpha_5\beta_1$ -интегрина, которая может представлять интерес в качестве потенциальной мишени в таргетной терапии [32]. Интегрины участвуют как в межклеточных взаимодействиях, так и во взаимодействиях с компонентами внеклеточного матрикса.

S.Z. Michaylira и соавт. обнаружили, что другая молекула клеточной адгезии – периостин – является важнейшим медиатором повышенной инвазивности рака пищевода с помощью 3D-культуры клеток [33]. Эти исследования подчеркивают, что 3D-модель является ценным ин-

струментом для открытия новых биологических механизмов, участвующих в патогенезе рака.

В большинстве исследований на 3D-моделях традиционно используются перевиваемые линии опухолевых клеток. При этом недавно были предприняты попытки применения первичных опухолевых клеток в трехмерных культурах [33, 34]. Основным преимуществом этой технологии является возможность использования той же самой опухолевой модели *in vitro* и *in vivo*. К. Praveen и соавт. культивировали в 3D-сфероидах первичные опухолевые клетки, полученные из опухолевой ткани пациента, для оценки их чувствительности к антипролиферативным и цитотоксическим соединениям, а также таргетным препаратам [34]. Компания «Онкотест», являющаяся пионером в области создания ксенографтов первичных опухолей (PDX, patient-derived tumor xenografts), разработала более 200 моделей PDX для тестирования в 3D-системах [35]. Исследовательская группа из Японии провела успешный эксперимент с трехмерной культурой первичных клеток колоректального рака для оценки химиочувствительности и активации сигнального пути в раковых клетках у индивидуальных пациентов. Эти исследования показали потенциал 3D-культуры первичных опухолевых клеток, полученных от больных, в изучении биологии рака и развитии персонализированной медицины [36].

Преимущества использования клеток, выращенных в условиях трехмерной культуры, для оценки активности противоопухолевых соединений в значительной степени обусловлены такими свойствами, как наличие градиента кислорода и питательных веществ, увеличение межклеточных взаимодействий, взаимодействие клеток с внеклеточным матриксом, различие скорости клеточной пролиферации по всей трехмерной структуре, воздействие стромальных клеток в опухолевом микроокружении. Исследования последних лет показывают способность 3D-системы культуры клеток поддерживать особенности молекулярного фенотипа опухолевых клеток, которые наблюдаются в условиях *in vivo* в зависимости от типа клеток и условий культивирования. 2D-модели культур опухолевых клеток поддерживают в большинстве случаев ограниченные параметры клеточной дифференциации и подобной функциональности *in vivo*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние несколько десятилетий эксперименты как на 2D-, так и на 3D-культурах клеток

рака человека внесли весомый вклад в открытие и развитие противоопухолевых препаратов. Монослойные культуры по-прежнему остаются незаменимыми аналитическими модельными системами, которые позволяют оценить прямой цитотоксический и цитостатический эффекты, органоспецифическую токсичность тестируемых химических соединений и препаратов, определить их механизм действия, белки и гены-мишени, а также индивидуальную чувствительность опухолевых клеток пациентов. Однако становится все более очевидным, что 3D-модели обладают рядом преимуществ по сравнению с традиционной двухмерной монослойной культурой. Можно констатировать, что конструирование более технологически совершенных 3D-моделей имеет первостепенное значение для всестороннего анализа и изучения биологии рака, а также скрининга нового поколения противоопухолевых препаратов.

Тем не менее предпочтение тому или иному моделированию культур клеток исходит, прежде всего, из конкретной ситуации и задач эксперимента. В определенных случаях 2D-культивирование более осуществимо и может дать наиболее точные результаты. В других случаях 3D-культивирование обеспечивает подобный результат *in vivo* и может быть проведено в комбинации с 2D-моделью.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kola I., Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature Rev. Drug Dis.* 2004; 3 (8): 711–715. DOI: 10.1038/nrd1470.
2. Amelian A., Wasilewska K., Megias D., Winnicka K. Application of standard cell cultures and 3D *in vitro* tissue models as an effective tool in drug design and development. *Pharmacological Reports.* 2017; 69 (5): 861–870. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.03.014.
3. Santo V.E., Rebelo S.P., Estrada M.F., Alves P.M., Boghaert E., & Brito C. Drug screening in 3D *in vitro* tumor models: overcoming current pitfalls of efficacy readouts. *Biotechnology journal.* 2017; 12 (1). DOI: 10.1002/biot.201600505.

4. Fong E.L., Harrington D.A., Farach-Carson M.C., Yu.H. Heralding a new paradigm in 3D tumor modeling. *Biomaterials*. 2016; 108: 197–213. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.08.052.
5. Duval K., Grover H., Han L.H., Mou Y., Pegoraro A.F., Fredberg J., Chen Z. Modeling Physiological Events in 2D vs. 3D Cell Culture. *Physiology*. 2017; 32 (4): 266–277. DOI: 10.1152/physiol.00036.2016.
6. Lovitt C.J., Shelper T.B., Avery V.M. Advanced cell culture techniques for cancer drug discovery. *Biology*. 2014; 3 (2): 345–367. DOI: 10.3390/biology3020345.
7. Edmondson R., Broglie J.J., Adcock A.F., Yang L. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay and drug development technologies*. 2014; 12 (4): 207–218. DOI: 10.1089/adt.2014.573.
8. Tibbitt M.W., Anseth K.S. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnology and bioengineering*. 2009; 103 (4): 655–663. DOI: 10.1002/bit.22361.
9. Bi Y.A., Kazolias D., Duignan D.B. Use of cryopreserved human hepatocytes in sandwich culture to measure hepatobiliary transport. *Drug Metab. Dispos.* 2006; 34: 1658–1665. DOI: 10.1124/dmd.105.009118.
10. Dunn J.C.Y., Tompkins R.G., Yarmush M.L. Hepatocytes in collagen sandwich: evidence for transcriptional and translational regulation. *J. Cell Biol.* 1992; 116 (4): 1043–1053. DOI: 10.1083/jcb.116.4.1043.
12. Ezzell R.M., Toner M., Hendricks K., Dunn J.C., Tompkins R.G., Yarmush M.L.. Effect of collagen gel configuration on the cytoskeleton in cultured rat hepatocytes. *Exp. Cell Res.* 1993; 208: 442–452. DOI: 10.1006/excr.1993.1266.
13. Jones H.M., Barton H.A., Lai Y., Bi Y.A., Kimoto E., Kempshall S., Tate S.C., El-Kattan A., Houston J.B., Galletin A., Fenner K.S.. Mechanistic pharmacokinetic modeling for the prediction of transporter-mediated disposition in humans from sandwich culture human hepatocyte data. *Drug Metab. Dispos.* 2012; 40 (5): 1007–1017. DOI: 10.1124/dmd.111.042994.
14. LeCluyse E.L., Audus K.L., Hochman J.H. Formation of extensive canalicular networks by rat hepatocytes cultured in collagen-sandwich configuration. *Am. J. Physiol.* 1994; 266: C1764–C1774.
15. Price K.J., Tsykin A., Giles K.M., Sladic R.T., Epis M.R., Ganss R., Goodall G.L., Leedman P.J. Matrigel basement membrane matrix influences expression of microRNAs in cancer cell lines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 427 (2): 343–348. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.09.059.
16. Loessner D., Stok K.S., Lutolf M.P., Hutmacher D.W., Clements J.A., Rizzi S.C. Bioengineered 3D platform to explore cell–ECM interactions and drug resistance of epithelial ovarian cancer cells. *Biomaterials*. 2010; 31 (32): 8494–8506. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.07.064.
17. Luca A.C., Mersch S., Deenen R., Schmidt S., Messner I., Schafer K.L., Baldus S.E., Huckenbeck W., Piekorz R.P., Wolfram T., Knoefel W.T., Krieg A., Stoecklein N.H. Impact of the 3D microenvironment on phenotype, gene expression, and EGFR inhibition of colorectal cancer cell lines. *PLoS One*. 2013; 8 (3): e59689. DOI: 10.1371/journal.pone.0059689
18. Shield K., Ackland M.L., Ahmed N., Rice G.E. Multicellular spheroids in ovarian cancer metastases: biology and pathology. *Gynecol. Oncol.* 2009; 113 (1): 143–148. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.11.032.
19. Zietarska M., Maugard C.M., Filali-Mouhim A., Alam-Fahmy M., Tonin P.N., Provencher D.M., Mes-Masson A.M. Molecular description of a 3D *in vitro* model for the study of epithelial ovarian cancer (EOC). *Mol. Carcinog.* 2007; 46 (10): 872–885. DOI: 10.1002/mc.20315.
20. Lee J., Cuddihy M.J., Kotov N.A. Three-dimensional cell culture matrices: state of the art. *Tissue Eng. Part B Rev.* 2008; 14 (1): 61–86. DOI: 10.1089/teb.2007.0150.
21. Karlsson H., Fryknäs M., Larsson R., Nygren P. Loss of cancer drug activity in colon cancer HCT-116 cells during spheroid formation in a new 3-D spheroid cell culture system. *Exper. Cell Res.* 2012; 318 (13): 1577–1585. DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.03.026.
22. Elliott N.T., Yuan F. A review of three-dimensional *in vitro* tissue models for drug discovery and transport studies. *J. Pharm. Sci.* 2010; 100 (1): 59–74. DOI: 10.1002/jps.22257.
23. Walker D.M., Boey G., McDonald L.A. The pathology of oral cancer. *Pathology*. 2003; 35 (5): 376–383.
24. Trédan O., Galmarini C.M., Patel K., Tannock I.F. Drug resistance and the solid tumor microenvironment. *J. Nat. Cancer Inst.* 2007; 99 (19): 1441–1454. DOI: 10.1093/jnci/djm135.
25. Sodek K.L., Ringuette M.J., Brown T.J. Compact spheroid formation by ovarian cancer cells is associated with contractile behavior and an invasive phenotype. *Int. J. Cancer.* 2009; 124 (9): 2060–2070. DOI: 10.1002/ijc.24188.
26. Yip D., Cho C.H. A multicellular 3D heterospheroid model of liver tumor and stromal cells in collagen gel for anti-cancer drug testing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013; 433 (3): 327–332. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.03.008.
27. Gurski L., Petrelli N., Jia X., Farach-Carson M. 3D matrices for anti-cancer drug testing and development. *Oncol. Issues*. 2010; 25 (1): 20–25.
28. Wen Z., Liao Q., Hu Y., You L., Zhou L., Zhao Y. A spheroid-based 3-D culture model for pancreatic cancer drug testing, using the acid phosphatase assay. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2013; 46 (7): 634–642. DOI: 10.1590/1414-431X20132647.
29. Tung Y.C., Hsiao A.Y., Allen S.G., Torisawa Y., Ho M., Takayama S. High-throughput 3D spheroid culture and drug testing using a 384 hanging drop array. *Analyst*. 2011; 136 (3): 473–478. DOI: 10.1039/c0an00609b.
30. Chitcholtan K., Sykes P., Evans J. The resistance of intracellular mediators to doxorubicin and cisplatin are

- distinct in 3D and 2D endometrial cancer. *J. Transl. Med.* 2012; 10: 1–16. DOI: 10.1186/1479-5876-10-38.
31. Swietach P., Hulikova A., Patiar S., Vaughan-Jones R.D., Harris A.L. Importance of intracellular pH in determining the uptake and efficacy of the weakly basic chemotherapeutic drug, doxorubicin. *PLoS One.* 2012; 7: e35949.
  32. Nam J.M., Onodera Y., Bissell M.J., Park C.C. Breast cancer cells in three-dimensional culture display an enhanced radioresponse after coordinate targeting of integrin  $\alpha 5 \beta 1$  and fibronectin. *Cancer Res.* 2010; 70 (13): 5238–5248. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2319.
  33. Michaylira C.Z., Wong G.S., Miller C.G., Gutierrez C.M., Nakagawa H., Hammond R., Klein-Szanto A.J., Lee J.S., Kim S.B., Herlyn M., Diehl J.A., Gimotty P, Rustgi A.K. Periostin, a cell adhesion molecule, facilitates invasion in the tumor microenvironment and annotates a novel tumor-invasive signature in esophageal cancer. *Cancer Res.* 2010; 70 (13): 5281–5292. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0704.
  34. Kondo J., Endo H., Okuyama H., Ishikawa O., Iishid H., Tsujii M., Ohuec M., Inoue M. Retaining cell–cell contact enables preparation and culture of spheroids composed of pure primary cancer cells from colorectal cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108 (15): 6235–6240. DOI: 10.1073/pnas.1015938108/.
  35. Praveen K., Streiner N., Vo M., Anderes K., Yokota K., Ikeya T. Evaluation of Cell-able spheroid culture system for culturing patient derived primary tumor cells. Proceedings of the 103rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research. *Cancer Res.* 2012; 72 (8 Suppl): 5270 [Abstract].
  36. Fiebig H: Oncotest. [www.oncotest.com/id-3d-assays.html](http://www.oncotest.com/id-3d-assays.html) (last accessed on April 11, 2014).

Поступила в редакцию 29.11.2017

Подписана в печать 15.05.2018

Галимова Эльвира Сафуановна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, отдел биохимических исследований, Центр доклинических и трансляционных исследований, Институт экспериментальной медицины, НИМЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург.

Галагудза Михаил Михайлович, д-р мед. наук, член-корр. РАН, директор Института экспериментальной медицины, НИМЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург.

(✉) Галимова Эльвира Сафуановна, e-mail: elya-4@yandex.ru.

УДК 616-006: 57.085.23

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-188-196>

For citation: Galimova E.S., Galagudza M.M. two-dimensional and three-dimensional cell culture models *in vitro*: pros and cons. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2018; 17 (3): 188–196.

## Two-dimensional and three-dimensional cell culture models *in vitro*: pros and cons

Galimova E.S., Galagudza M.M.

*Almazov National Medical Research Center  
2, Accurатов Str., Saint Petersburg, 197341, Russian Federation*

### ABSTRACT

Discovery and development of new chemical compounds with putative anti-cancer properties requires reliable predictive preclinical models for *in vitro* screening of efficacy. Such models mainly include cultures of human cancer cells: two-dimensional (2D) and three-dimensional (3D) cell culture systems. In this review, we discuss the molecular aspects of cells cultured in 2D and 3D, and their relevance to cancer study, focusing on key examples from the recent literature. Advantages, disadvantages and perspectives of described models are also analyzed.

**Key words:** cancer, preclinical model, 2D and 3D cell culture, screening of drug efficacy *in vitro*.



#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

#### SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

Received 29.11.2017

Accepted 15.05.2018

**Galimova Elvira S.**, PhD, Senior Researcher, Almazov National Medical Research Center, Saint Petersburg, Russian Federation.

**Galagudza Michael M.**, DM., Professor, Head of Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Center, Saint Petersburg, Russian Federation.

(✉) **Galimova Elvira S.**, e-mail: elya-4@yandex.ru.