

П. Н. КОСЯКОВ
Н. П. КОСЯКОВА

А **НТИГЕНЫ** **ОПУХОЛЕЙ** **ЧЕЛОВЕКА**

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР

П. Н. КОСЯКОВ
Н. П. КОСЯКОВА

АНТИГЕНЫ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА



МОСКВА
«МЕДИЦИНА»
1985

616.006.0

К 42

ББК 55.6

К 71

УДК 616-006-008-939-624-097 Медицина

Уз. ССР, гос. антиканцер.

БИБЛИОТЕКА

123429 0

КОСЯКОВ П. Н., КОСЯКОВА Н. П. Антигены опухолей человека/АМН СССР. — М.: Медицина, 1985, 272 с.

П. Н. КОСЯКОВ — доктор медицинских наук, академик АМН СССР, заслуженный деятель науки РСФСР, руководитель лаборатории иммунологии Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР, Н. П. КОСЯКОВА — кандидат медицинских наук, сотрудник того же Института.

В книге детально освещено современное состояние знаний об антигенах злокачественных новообразований человека. Многолетний опыт позволил детально изложить фактическое состояние знаний об антигенах, общих у опухолей и нормальных клеток: групповых, трансплантационных, органоспецифических, эмбриональных и др. Эти антигены, не являясь чужеродными для организма, изменяются в процессе канцерогенеза лишь в количественном отношении. Однако в опухолях возникают и новые антигены, отсутствующие в нормальных клетках. Это наиболее важные для иммунитета антигены. Описаны антигены опухолей, экспериментально индуцированных канцерогенами, антигены злокачественных новообразований, индуцированных вирусами, и антигены так называемых спонтанных опухолей, которыми являются большинство опухолей человека. Дано краткое описание клеточных и гуморальных иммунных реакций организма на возникновение и развитие опухолей. Показано значение иммунологических исследований для решения проблемы этиологии злокачественных новообразований, специфической диагностики, профилактики и терапии.

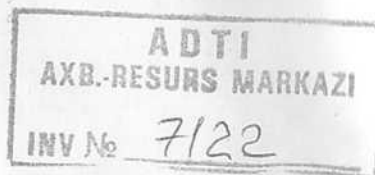
Для иммунологов, онкологов.

В книге 20 рис., 25 табл., библиография — 325 названий.

For summary see page 270.

Рецензент Г. И. Абелев — проф., зав. лабораторией иммунохимии ВОНЦ АМН СССР.

ИЗДАНИЕ ОДОБРЕНО И РЕКОМЕНДОВАНО К ПЕЧАТИ
РЕДАКЦИОННО-ИЗДАТЕЛЬСКИМ СОВЕТОМ ПРЕЗИДИУМА АМН СССР



К 4106000000—175
039(01)—85

Свод. пл. подписных изд. 1985

© Издательство «Медицина» Москва, 1985

ПРЕДИСЛОВИЕ

Первичную основу иммунологии злокачественных новообразований человека составляют антигены. Именно они определяют возможность иммунного ответа на них организма, а также использования иммунных реакций в практических целях. Это обстоятельство и побудило нас уделить главное внимание проблеме специфических антигенов злокачественных новообразований человека. Специфические же антигены опухолей животных затрагиваются в книге лишь в той степени, в какой они могут пролить свет на иммунологию злокачественных новообразований человека. Сюда прежде всего относятся разделы книги, в которых описываются специфические антигены опухолей, индуцированных у животных вирусами и химическими канцерогенами.

Монографий, в которых бы систематически были изложены материалы об антигенах, общих для нормальных и опухолевых клеток, а также антигенах, присущих только опухолям, ни в отечественной, ни в зарубежной литературе нет.

Главы книги: «Эмбриональные антигены», «Антигены опухолей индуцированных химическими канцерогенами» и «Антигены опухолей, индуцированных вирусами» написаны Н. П. Косяковой, IV часть книги написана совместно, а остальные главы — П. Н. Косяковым.

Авторы считают своим приятным долгом отметить большой вклад, который внесли в изучение специфических антигенов опухолей человека старшие научные сотрудники лаборатории иммунологии Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР — Р. П. Павлюченкова, Т. А. Посева и в особенности В. С. Коростелева, посвятившая многие годы своей научной деятельности этой весьма трудной проблеме. Авторы считают также своей обязанностью принести искреннюю благодарность профессору Г. И. Абелеву за рецензирование рукописи этой книги и ценные советы и замечания. Авторы с благодарностью примут предложения и пожелания, направленные на улучшение этой книги, и учтут их в дальнейшей работе.

ВВЕДЕНИЕ

Основными факторами специфического иммунитета, в том числе и иммунитета к опухолям, являются антигены, иммунокомпетентные клетки и антитела. Без их участия специфического иммунитета не существует. Исходным в развитии иммунитета (иммунных реакций) являются антигены, т. е. высокомолекулярные полимерные вещества, обладающие способностью специфически взаимодействовать с иммунокомпетентными клетками, стимулировать их к продукции антител и участвовать в различных клеточных и гуморальных иммунных реакциях.

Понятие «антиген» было введено венгерским исследователем L. Deutsch (1899) и с тех пор стало общепринятым, несмотря на то что по мере развития науки оно приобретало все более богатое содержание. Основная характеристика полноценного антигена — его способность стимулировать продукцию антител и специфически с ними реагировать, в настоящее время дополняется участием его в реакциях клеточного иммунитета. По своей химической природе полноценные антигены являются белками с высокой молекулярной массой 10 000 и больше. Помимо белков, полноценными антигенами являются высокомолекулярные углеводы — полисахариды. Гликолипиды, освобожденные от белков, проявляют свойства неполноценных антигенов, т. е. они могут соединяться с антителами, но не способны вызывать их образование.

Самой существенной особенностью антигенов является их специфичность, в основе которой лежат качественные различия между антигенными веществами. Работами К. Ландштейнера и других исследователей было установлено, что специфичность антигена определяется не всей белковой молекулой, а лишь небольшой ее частью, получившей название антигенной детерминанты. Одна и та же молекула антигена может иметь одну или несколько одинаковых или качественно различных антигенных детерминант. У белковых антигенов функцию антигенных детерминант выполняют различные комбинации аминокислот, у комплексных антигенов — углеводы. Так, в детерминанте группового антигена А важную функцию выполняет N-ацетилгалактозамин, а в детерминанте антигена В — d-галактоза. Антигенные детерминанты могут быть различными по сложности химического состава и структуры. Жесткость их структуры — одно из важных свойств, обеспечивающих постоянство качественной специфики антигена. Для появления новой антигенной специфичности достаточно минимальных изменений в структуре белков.

Неполноценные антигены (гаптены) могут соединяться с антителами, но не вызывают продукции их у первично иммунизированных животных. Присоединение к гаптену белка (в данном

случае он выполняет функцию носителя) сообщает свойства полноценного антигена, специфичность которого определяется детерминантной группой гаптена. Например, специфические гликозаминогликаны, выделяемые из эритроцитов человека с кровью группы А или В, являющиеся гаптенами, могут быть превращены в полноценные антигены путем соединения их с белком. У многих антигенов естественного происхождения все элементы, составляющие полный антиген, — антигенная детерминанта, гаптенная часть (липид) и носитель (белок) — весьма тесно связаны друг с другом. При обработке эритроцитов этиловым спиртом из полного группового антигена удается выделить липидную часть, которая содержит детерминантную группу, по химическому составу относящуюся к углеводам.

Антигенность различных веществ неодинаковая. Она зависит от природы самого антигена, видовых и индивидуальных (генетических) особенностей животного, которому антиген вводится.

В основе иммунной реакции организма лежит принцип чужеродности его по отношению к антигену. Чем более чужеродным является антиген по отношению к иммунизируемому животному, тем быстрее и легче образуются антитела. Виды, наиболее близко стоящие, отвечают более слабой иммунной реакцией. Например, получить антитела к сывороточным белкам человека от человекообразных обезьян трудно, в то время как от кроликов получить их легко. При наличии же в организме иммунизируемого животного антигенной детерминанты, идентичной антигену, взятому для иммунизации, антитела к этой детерминанте вообще не образуются. Например, в организме морской свинки, у которой в тканях содержится антиген Форссмана, антитела к нему не вырабатываются. Напротив, у кролика, у которого гетерогенный антиген Форссмана отсутствует, эти антитела вырабатываются. У кроликов, у которых всегда содержится антиген В₂, не синтезируются гемагглютинины анти-В₂, специфичные к этому антигену, однако вырабатываются гемагглютинины анти-В₁, т. е. антитела к отсутствующей антигенной детерминанте.

В организме не образуются, как правило, антитела к антигенам, которые содержатся в нем самом. Исключением являются антигены некоторых органов (хрусталика, семенников, мозга и др.), в ответ на экспериментальное введение которых, особенно с адъювантом Фрейнда, организм может вырабатывать антитела. Отсутствие иммунологической толерантности к этим антигенам объясняют функцией барьеров, препятствующих проникновению в кровь антигенов из этих органов.

Нормальные иммунологические реакции носят защитный характер и способствуют освобождению организма от проникающих в него различных чужеродных антигенов — бактерий, вирусов, токсинов и других антигенных веществ, не свойственных самому организму. Эти реакции не направлены на свои собственные антигены. Однако при некоторых обстоятельствах, еще недостаточно выясненных, в организме начинают образовываться антитела и

по отношению к собственным неизменным антигенам клеток и тканей, т. е. истинные аутоантитела. С возникновением такого рода аутоантител связывают многие иммунопатологические состояния. Классическим примером такого истинного аутоиммунного заболевания является приобретенная гемолитическая анемия. У лиц, страдающих этим заболеванием, часто находят антитела к локализованным на мембране эритроцитов антигенам (е, с, Е, D — системы резус) или к другим антигенам.

Различные экзогенные агенты (вирусы, бактерии, токсины, ферменты, физико-химические факторы), действуя на клетки и ткани организма, могут сообщать им новую антигенную специфичность, т. е. приводить к возникновению новых, чужеродных антигенов, на которые организм будет отвечать клеточной и гуморальной иммунными реакциями. Антитела к этим новым антигенам не могут быть отнесены к категории истинных аутоантител, поскольку они направлены или к продуктам чужеродной генетической информации, внесенной в клетку вирусом, или к антигенам, возникшим в результате повреждающего действия различных физико-химических агентов на собственные нормальные клетки и ткани.

Антитела к новым антигенам, возникшим в клетках под действием биологических или физико-химических агентов — это защитная иммунная реакция, направленная на освобождение организма от ставших чужеродными измененных клеток и тканей. Истинные же аутоиммунные процессы — это глубокая патология, поскольку иммунные реакции при них направлены против собственных неизменных в антигенном отношении клеток. При истинных аутоиммунных процессах состав антигенов, клеток и тканей, присущих определенному генотипу, не изменен, но изменена иммунологическая функция иммунокомпетентных клеток. Поэтому лечение истинных аутоиммунных заболеваний направлено на подавление иммунологических функций путем применения различных иммунодепрессантов, гормонов и т. д. Иммунопатологические феномены, вызванные экзогенными факторами, например лекарственными препаратами, устраняются после прекращения приема лекарств. Специфическая иммунная реакция на чужеродные антигены осуществляется иммунокомпетентными клетками — Т- и В-лимфоцитами и макрофагами. Участие этих трех видов клеток в ответной иммунной реакции и их тесная функциональная связь сомнений не вызывают. Однако конкретные механизмы взаимоотношений между ними в процессе формирования иммунитета остаются еще недостаточно изученными.

Функция иммунокомпетентных клеток детерминируется индивидуально — доминантными иммунореактивными генами, тесно связанными с локусами генов тканевой совместимости, которые определяют как саму возможность иммунного ответа, так и его интенсивность. Под действием иммунореактивных генов формируются клеточные и гуморальные иммунные реакции организма на любые чужеродные антигены.

Антигены, поступающие в организм извне или образующиеся в нем самом под действием биологических или физико-химических факторов, подвергаются особой переработке макрофагами, после чего продукты этой обработки поступают к Т- и В-лимфоцитам. Взаимодействие между Т- и В-клетками и макрофагами осуществляется молекулами специфических иммуноглобулинов, локализованными на поверхности их наружных мембран, а также другими продуцируемыми ими медиаторами.

Помимо функции распознавания антигенов, Т-лимфоцитам свойствен и другой защитный механизм. Они могут разрушать клетки с локализованными на их поверхности чужеродными антигенами. Цитотоксическую функцию иммунные Т-лимфоциты проявляют и в отношении клеток опухолей, при наличии на их оболочках чужеродных для организма антигенов. Считается общепринятым, что клеточные факторы иммунитета и прежде всего Т-лимфоциты, естественные киллеры и макрофаги выполняют основную функцию защиты организма от развития опухолевого процесса. У лиц с дефектами клеточного иммунитета чаще наблюдаются различные онкологические заболевания. У многих из этих больных отмечается дефицит Т- и В-лимфоцитов, а также пониженная активность макрофагов. Т-лимфоциты, стимулированные антигеном, продуцируют различные растворимые медиаторы, которые существенно меняют поведение макрофагов.

Антитела, т. е. специфические продукты, вырабатываемые плазматическими клетками под действием чужеродных антигенов, являются одним из основных факторов приобретенного иммунитета. Название «антитело» — *antikörper* было введено в иммунологию Эрлихом и Моргенротом в 1899—1900 гг. в статьях о гемолизинах и стало общепринятым; до этого для обозначения антител широко пользовались термином Пфейффера — *immunokörper* — «иммунные тела». Эрлих и Моргенрот (1899) ввели в иммунологию понятия «гетеролизины», «изолизины», «аутолизины» или в обобщенном понятии — гетеро-, изо- и аутоантитела.

Специфичность антител — одно из важнейших их свойств. Антитела к одному виду антигена с другими видами не взаимодействуют, если они не имеют общих для них антигенных детерминант. Наличие общих антигенов, например, гетерогенных антигенов Форсмана, является причиной перекрестных иммунных реакций. Молекулы антител, слабее реагирующие с антигеном, имеют меньшее соответствие структуре антигенной детерминанты, а более avidные молекулы иммуноглобулинов точнее воспроизводят существенные особенности пространственной конфигурации гаптена. Молекулы антител независимо от принадлежности их к тому или другому классу иммуноглобулинов имеют сходную структуру. Мономер молекулы иммуноглобулина состоит из двух идентичных тяжелых (H) цепей с молекулярной массой 50 000 каждая и двух идентичных легких (L) цепей с молекулярной массой по 25 000. Легкие и тяжелые цепи удерживаются в определенной структуре молекулы дисульфидными связями. Каждый

мономер имеет два активных центра, локализованных в вариабельной части молекулы — в Fab-фрагменте. В построении активного центра участвуют как легкие, так и тяжелые цепи полипептидов. Активный центр представляет собой специфически построенную из небольшого числа аминокислот трехмерную структуру, образующую полость, в которую комплементарно ей может входить соответствующая структура детерминанты антигена.

Валентность молекулы иммуноглобулина определяется числом активных центров. Мономер молекулы IgG имеет два активных центра. Молекула IgM — пентамер, имеет 10 активных центров. Молекулы IgA могут существовать в форме ди- и тримеров. Кроме Fab-фрагмента, в структуре иммуноглобулина различают Fc-область, построенную из участков полипептидов H-цепей, не входящих в структуры активных центров. Fc-область молекулы иммуноглобулина выполняет важные специфические функции. Например, после соединения Fab-фрагмента с антигеном клетки Fc-область приобретает способность фиксировать комплемент, активировать его и вызывать цитолиз. Fc-область может фиксироваться соответствующими рецепторами макрофагов и тем способствовать фагоцитозу антигенных комплексов.

Антитела благодаря их уникальному свойству — специфичности нашли широкое применение для анализа антигенных свойств опухолевых и нормальных тканей, выявления антигенного сходства и различия между ними. Изучение клеточных и гуморальных иммунных реакций в процессе развития злокачественных новообразований человека внесло существенный теоретический и практический вклад в эту проблему.

Часть I

АНТИГЕНЫ, ОБЩИЕ ДЛЯ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

В настоящее время едва ли есть основания сомневаться в том, что опухолевые клетки происходят из нормальных клеток, которые под действием различных экзогенных и эндогенных агентов подвергаются глубоким изменениям. Последние затрагивают биологию (генетику) клетки, ее морфологию, физиологию, биохимические и антигенные свойства. Одни из этих свойств характеризуют количественные изменения, наблюдаемые в клетках опухолей при сравнении их с нормальными клетками, другие свидетельствуют об изменениях качественных. Антигенные свойства могут служить одним из объективных показателей качественных особенностей клеток опухолей, отличающих их от клеток нормальных.

Клетки опухолей, происходя из нормальных клеток, содержат в своих структурах многие антигены, присущие нормальным клеткам до превращения их в клетки опухолей. Содержание «нормальных» антигенов в опухолях может увеличиваться, уменьшаться или оставаться без изменения. Однако в опухолях могут появляться и новые, не свойственные нормальным клеткам, антигены.

Глава 1

ВИДОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИГЕНЫ И АНТИГЕНЫ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ СИСТЕМЫ HLA

Каждому виду животного присуща своя особая антигенная специфичность, качественно отличающая его от других видов. Эта специфичность носит название видовой в отличие от межвидовой (гетерогенной), внутривидовой и индивидуальной антигенной специфичности. Основу видовой специфичности составляют белки, кодируемые совокупностью генов, свойственных каждому виду животного. Видовая специфичность у различных белков выражена неодинаково. Одни из них, например, органоспецифические белки, помимо специфичности, присущей виду, несут и специфичность, характерную для аналогичных органов других видов животных. Наиболее выраженной видовой специфичностью у млекопитающих обладают сывороточные белки, поэтому их широко используют в судебно-медицинской практике для идентификации видовой принадлежности крови.

Однако следует иметь в виду, что животные, близко стоящие на филогенетической лестнице, имеют большое антигенное сходство их сывороточных белков. Такое сходство найдено между этими белками человека и человекообразных обезьян, быка и барана, волка и собаки, лошади и осла и т. д. У животных, более

далеко отстоящих, антигенное сходство между сывороточными белками выражено в меньшей степени, а у далеких классов, например млекопитающих и птиц, антигенное сходство этих белков обычно не наблюдается. Показано [Косяков П. Н., Резникова М. Н., 1955], что преципитирующие сыворотки, получаемые от кроликов, по отношению к протеинам кур специфичны и не реагируют с сывороточными белками млекопитающих: быка, барана, свиньи, лошади, человека, кошки и собаки. В свою очередь все преципитирующие сыворотки, получаемые по отношению к белкам этих млекопитающих, не дают неспецифической реакции преципитации с протеинами кур. Помимо белков сыворотки крови, видовую специфичность могут определять и антигены, входящие в структуры клеток и тканей. Таковыми, например, являются трансплантационные антигены системы HLA, обнаруживаемые во всех ядросодержащих клетках и тканях человека и кодируемые генами тканевой совместимости. Именно трансплантационные антигены являются причиной отторжения тканей при перевивке их от одного индивида другому.

Антигены, характеризующие межвидовые отношения в опытах по трансплантации получили название ксеногенных в отличие от аллогенных антигенов (синоним — изоантигенные), характеризующих различия индивидов внутри одного и того же вида. Ткани донора и реципиента, имеющие сходные трансплантационные антигены, получили название сингенных. Пересадка таких тканей иммунной реакции отторжения не вызывает. Закономерности, установленные в отношении реакции организма на перевивку ксеногенных, аллогенных и сингенных нормальных тканей, распространяются и на трансплантацию тканей опухолей.

Видовая специфичность, которой обладают клетки опухолей животных, была установлена и в опытах по трансплантации. Выдающийся русский исследователь М. А. Новинский еще в 1877 г. показал, что перевивки опухолей от одних видов животных другим не удаются. Эти факты, подтвержденные в дальнейшем всей экспериментальной онкологией, свидетельствовали о видовой специфичности опухолей, т. е. о наличии у них антигенов, несущих видовую специфичность. При помощи серологических методов оказалось возможным четко определять видовую принадлежность опухолей и безошибочно отличать опухоли человека от опухолей животных.

Видовая специфичность раковых опухолей определяется, по-видимому, комплексом антигенов, из которых многие характерны и для нормальных клеток. В нормальных клетках печени человека, а также в клетках, выделенных из метастазов рака в этом органе, обнаружены [Косяков П. Н., 1954] антигены, идентичные по своей специфичности сывороточным белкам. Клетки раковых опухолей после многократного (6 раз и более) отмывания их в 10% растворе сахарозы полностью освобождались от примеси сывороточных белков, о чем свидетельствовала отрицательная реакция промывных вод с высокоактивной (титр 1 : 40 000) преципити-

рующей сывороткой. После же разрушения раковых клеток в окружающей солевой среде появлялись в большом количестве видоспецифические антигены и содержание их оставалось почти постоянным вне зависимости от того, отмывались ли предварительно клетки 6 или 30 раз. Это свидетельствовало о том, что сывороточные белки, обнаруживаемые в солевом растворе после разрушения клеток, полученных из метастазов рака печени, переходят в него из содержимого клеток, являясь составной частью их, а не привносятся извне, будучи адсорбированными на их поверхности. Видовую специфичность клеток злокачественных опухолей человека определяют и многие другие содержащиеся в них, как и в нормальных клетках, антигены и прежде всего антигены гистосовместимости.

Экспериментальной онкологией установлено, что межвидовые (ксеногенные) перевивки опухолей, как правило, оканчиваются сравнительно быстрым рассасыванием трансплантата. Более успешны внутривидовые (аллогенные) перевивки и почти всегда удачны перевивки у сингенных (генетически идентичных) животных.

В основе реакции организма на трансплантат лежат антигены гистосовместимости донора, отличающиеся от антигенов реципиента. Чем более выраженными представляются антигенные различия между организмом донора и реципиента, тем более сильным будет иммунный ответ организма на пересаженную ткань. Совместимость или, наоборот, несовместимость донора и реципиента определяют антигены, кодируемые различными генетическими системами. У человека лучше изучены и имеют наибольшее значение в реакциях организма на аллогенный трансплантат изоантигены системы AB0(H) и антигены системы HLA (Human leukocyte antigen), впервые найденные в лейкоцитах. Лейкоциты имеют сложный антигенный состав; в них содержатся антигены системы AB0(H), MN, Rh, т. е. антигены, обнаруживаемые и в эритроцитах. В лейкоцитах, однако, были найдены и антигены, которые присущи только им — так называемые специфические лейкоцитарные антигены. Об этом стало известно еще в 1900 г. благодаря работам И. И. Мечникова.

Позднее было установлено существование и индивидуальных изоантигенных различий между лейкоцитами, взятыми от отдельных лиц. J. Dausset (1958) сообщил, что ему удалось дифференцировать лейкоциты различных индивидов на две равные по частоте встречаемости группы — содержащих антиген Мас и не содержащих его. Для выявления антигена Мас в лейкоцитах были использованы лейкоагглютинирующие сыворотки, полученные от пациентов, которым многократно переливали кровь. Сведения о лейкоцитарных антигенах были расширены J. Rood и соавт. (1959), которые при помощи 60 человеческих сывороток нашли в лейкоцитах разных людей антигены, обозначенные ими цифрами 2, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, а также 6a, 6b. R. Payne и соавт. (1964) сообщили об обнаружении в лейкоцитах антигенов AL1 и AL2.

В дальнейшем в лейкоцитах были открыты и многие другие изо-антигены. Согласно рекомендации ВОЗ, в настоящее время используют буквенно-цифровые обозначения лейкоцитарных антигенов системы HLA. Антигены этой системы кодируются генами пяти локусов: A, B, C, D и DR, из которых каждый объединяет аллельные гены, расположенные на 6-й паре хромосом по одному гену в сублокусе. Набор антигенов системы HLA каждого человека определяется гаплотипом, т. е. сцепленными генами, расположенными на хромосоме, получаемой от каждого из родителей. Отсюда, естественно, следует, что набор антигенов системы HLA наполовину идентичен с каждым из родителей. К настоящему времени открыто около 100 различных антигенов системы HLA. Локус HLA-A кодирует синтез 20 аллельных антигенов, гены локуса HLA-B — 42 антигенов, гены локуса HLA-C — 8 антигенов, гены локуса HLA-D — 12 антигенов, а локус HLA-DR, т. е. локус, близкий к локусу D, кодирует синтез 10 антигенов.

Антигены, кодируемые локусами A, B, C, DR, определяются с помощью лимфоцитотоксической пробы изоиммунными сыворотками, получаемыми от многорожавших женщин. Антигены, кодируемые локусом HLA-D, определяют в смешанной культуре лимфоцитов.

Каждая молекула антигенов системы HLA состоит из тяжелой цепи полипептида с молекулярной массой 39 000—44 000 d и легкой цепи полипептида с молекулярной массой в 12 000 d, являющейся β_2 -микроглобулином. В молекулу антигена HLA-DR этот микроглобулин не входит. Легкие и тяжелые полипептидные цепи антигенов гистосовместимости связаны нековалентными связями и напоминают структуру мономерной молекулы IgG. Один конец молекулы полипептида HLA аналогичен Fc-фрагменту антитела, погружен в липидные структуры клеточной мембраны. Другой конец, состоящий из тяжелой и легкой цепи и аналогичный Fab-фрагменту молекулы иммуноглобулина, обращен наружу. Этот фрагмент молекулы антигена HLA несет, по-видимому, антигенную детерминанту и специфически реагирует с клеточными и гуморальными факторами при поступлении трансплантата в организм.

Гены HLA расположены на хромосоме рядом с генами иммунного ответа (Ir), генами проактиваторов фракций комплемента — C₂, C₃, C₄, непосредственно участвуют в иммунных реакциях организма. Открытию трансплантационных антигенов предшествовали наблюдения того, что в результате первичной перевивки ткани от одного индивида другому у реципиента возникает иммунная реакция, которая ускоряет отторжение и гибель вторичного трансплантата от того же донора.

О значении антигенов лейкоцитов в биологической совместимости тканей было отмечено еще Р. Медавара (1946). Он показал, что введение кролику лейкоцитов донора сопровождается иммунизацией организма реципиента, в результате чего последний быстрее отторгает пересаженную ему ткань животного, от

которого были взяты лейкоциты. Аналогичные результаты были отмечены и у человека. Предварительное введение лейкоцитов донора ведет к ускорению гибели пересаженной ткани у реципиента. Антигены системы HLA обнаружены не только в мембранах лейкоцитов, но и почти во всех других ядродержащих клетках тканей и органов: кожи, печени, почки, селезенки, мышцы и др. Поэтому название антигенов системы HLA «лейкоцитарные» справедливо лишь в историческом аспекте, поскольку они раньше всего были найдены в лейкоцитах, а затем и во многих других клетках и тканях.

У человека антигены системы ABO (H) и HLA имеют решающее значение в реакции организма на трансплантат. Однако они далеко не исчерпывают всех индивидуальных антигенных различий, проявляющихся в трансплантационном иммунитете. При аллотрансплантациях наибольшее значение имеют антигены HLA-A: 1; 2; 3; 9; 10 и 11; HLA-B: 5; 7; 8 и 12; W: 15; 35 и 40. Это значение обусловлено большей частотой их встречаемости в популяции по сравнению с другими антигенами гистосовместимости. В реакции организма на пересаженную ткань принимают участие клеточные и гуморальные факторы, в том числе и антитела анти-HLA [Зотиков Е. А., 1982; Зарецкая Ю. М., 1983].

Обнаружение антигенов гистосовместимости в нормальных клетках и тканях поставило вопрос о наличии их и в клетках злокачественных новообразований. Нельзя было исключить, что трансформация нормальных клеток в злокачественные клетки не сопровождается и изменениями их антигенных свойств, в частности антигенов системы HLA.

Однако вопрос о содержании антигенов системы HLA в клетках злокачественных новообразований по сравнению с таковым в нормальных клетках еще недостаточно изучен. Нельзя было исключить, что утрата дифференцировки нормальными клетками и превращение их в опухолевые клетки будут сопровождаться и утратой нормальных дифференцировочных антигенов. Известно, что опухолевые аллотрансплантаты в отличие от аллотрансплантатов нормальных тканей более легко преодолевают иммунные барьеры реципиента. Не исключено, что одна из причин этого явления заключается в частичной утрате опухолевыми клетками трансплантационных антигенов, в том числе и антигенов системы HLA. Ответ на эти вопросы мог быть дан только экспериментальным путем. F. Kourilsky и соавт. (1970) изучали лейкобласты от 28 больных острым лейкозом при помощи изоагглютинирующих сывороток по отношению к 12 различным по своей специфичности антигенам системы HLA. Опыты показали, что ни один из антигенов, присущих нормальным клеткам, не был утрачен лейкозными клетками. В опытах по адсорбции антител не было отмечено также и значительного количественного понижения активности трех исследованных антигенов гистосовместимости системы HLA на мембранах злокачественных клеток. В противоположность этому H. Seigler и соавт. (1971) наблюдали у одного пациента с лим-

фомой постепенную утрату чувствительности его лейкозных клеток к сывороткам анти-HLA, специфичным в отношении 4 различных антигенов. Изменения были связаны со злокачественностью лейкозного процесса. Во время ремиссии, когда периферические лимфоциты становились морфологически нормальными, их серологическая активность также приближалась к нормальной.

Злокачественные клетки утрачивали чувствительность к цитотоксинам, в то время как фибробласты кожи реагировали нормально. Различия между опухолевыми клетками и их нормальными предшественниками в отношении антигенов гистосовместимости являются скорее количественными, чем качественными. Отмечено уменьшение содержания антигенов гистосовместимости системы H-2 и в лейкозных клетках мышей (по сравнению с нормальными клетками). Интересными представляются сообщения Т. Aoki и соавт. (1970) о включении антигенов этой системы вирусом лейкоза мышей. Эти факты свидетельствуют не только о том, что лейкозные клетки мышей содержат антигены гистосовместимости системы H-2, но и об их инкорпорации в структуры наружных оболочек вирусов лейкоза.

Аналогичный феномен наблюдали J. Azocar и M. Essex (1979). Они нашли, что антигены вируса лейкоза кошек ассоциируются с антигенами гистосовместимости системы HLA в мембране человеческих клеток, инфицированных этим вирусом. Данный вирус, культивированный на человеческих лимфоидных Т-клетках, инкорпорировал в структуру наружных оболочек антигены мембраны клеток. Из линии CCRF-HSB-2 культуры человеческих Т-клеток вирус кошачьего лейкоза включал антигены A1, A2, B12, BW17 системы HLA, а из линии RPM1-8402 культуры человеческих лейкозных клеток — антигены A1, A29, B7, B12. Сыворотки к определенным антигенам системы HLA вызывали лизис вирионов, культивируемых на соответствующих человеческих лейкозных клетках. Это свидетельствует о том, что антигены гистосовместимости локусов А или В становятся интегральной частью паружной мембраны вируса при его созревании и сборке на клеточной мембране.

Антигены типа HLA-A инкорпорируются в наружные оболочки вирионов в большей степени, чем антигены типа HLA-B.

Таким образом, из представленных работ следует, что клетки злокачественных новообразований сохраняют в той или иной степени способность синтезировать антигены системы HLA, присущие генотипу хозяина — носителя опухоли. Антигены этой системы лежат, по-видимому, в основе реакции организма на опухолевый аллотрансплантат. Однако в противоопухолевом иммунитете самого больного эти антигены значения не имеют, поскольку опухолевые клетки, как и их предшественники, обладают идентичными антигенами, так как они кодируются теми же генами системы HLA. Они могут отличаться лишь в количественном отношении — их экспрессия может снижаться, выпадать или, как полагают, блокироваться. Для противоопухолевого иммунитета имеют зна-

чение лишь новые для клетки антигены — вирусные, вирусиндуцированные и другие, обладающие большей или меньшей чужеродностью к иммунным системам хозяина — носителя опухоли. Вместе с тем, однако, антигены системы HLA при их выпадении могут иметь значение как показатель дедифференцировки клеток, что связывают с их злокачественностью, т. е. они могут быть использованы с прогностической целью, а также для контроля за эффективностью лечения лейкозов.

Глава 2

АНТИГЕНЫ СИСТЕМЫ ABO (H)

Клетки и ткани человеческого организма, помимо антигенов, характеризующих видовую специфичность, содержат антигены, которые определяют внутривидовые (синоним — группоспецифические, изоантигенные, аллогенные) различия. Наиболее изученными среди этих антигенов являются группоспецифические антигены системы ABO (H).

Благодаря классическим исследованиям К. Ландштейнера (1900, 1901), а также других авторов было установлено, что кровь различных людей неоднородна и может быть разделена на 4 группы. Эритроциты одних лиц не содержат антигенов, условно обозначенных буквами А и В (I группа крови по Янскому), эритроциты других содержат антиген А (II группа), эритроциты третьих лиц содержат антиген В (III группа), эритроциты четвертых — содержат оба антигена А и В (IV группа). Эритроциты группы 0 характеризуются не только отсутствием в них антигенов А и В, но и наличием в них особого специфического антигена H.

В строгом соответствии с групповыми изоантигенами эритроцитов в сыворотках различных индивидуумов содержатся и изоантитела. У лиц группы 0 в сыворотке крови находятся изоагглютинины анти-А и анти-В, группы А — изоагглютинин анти-В, группы В — изоагглютинин анти-А, группы АВ — оба типа изоагглютининов отсутствуют. Способность к продукции изоантител наследуется сопряженно с наследованием изоантигенов. Принадлежность человека к той или другой группе крови является его индивидуальной, кодируемой генами, биологической особенностью. Гены, кодирующие синтез антигенов системы ABO (H), локализованы на 9-й хромосоме. Рано сформировавшись в эритроцитах плода, групповые антигены А и В становятся наиболее активными в реакции с соответствующими антителами к 3-м и 5-ти годам. Достигнув максимума, эта активность держится на постоянном уровне в течение десятков лет, а затем она постепенно снижается. Присущая каждому человеку специфичность индивидуальной групповой дифференцировки сохраняется в течение всей жизни вне зависимости от перенесенных инфекционных и неинфекционных заболеваний, а также от воздействия на организм различных физико-химических факторов. В течение всей жизни происходят лишь количественные, но не качественные изменения в титре групповых антигенов А и В и соответствующих им анти-

тел. Описаны варианты групповых антигенов А и В. Например, эритроциты группы A_1 обладают сильно выраженной агглютинабельностью и адсорбционной способностью. Наоборот, эритроциты группы A_2 агглютинируются слабо и лишь при применении достаточно активных сывороток. Лица группы A_1 встречаются в 88%, а группы A_2 — в 12% случаев. Описаны и еще более слабо выраженные варианты антигена А. Могут отличаться агглютинабельностью и адсорбционной способностью и эритроциты людей группы В. С этим фактом необходимо считаться и при определении групповых антигенов в тканях нормальных органов и в опухолях, поскольку способность специфически связывать групповые антитела у разных тканей и различных людей неодинакова.

Своеобразный антигенно-серологический вариант крови был найден у одного человека из г. Бомбея. Оказалось, что его эритроциты не содержали ни одного из известных антигенов системы АВ0(Н), а в сыворотке крови находились антитела к антигенам А, В и 0(Н). Такого рода редкие варианты крови типа Бомбей были найдены у людей не только в Индии, но и в других частях земного шара. Были выдвинуты две гипотезы, объясняющие появление этих редких групп крови. Согласно одной из них, эритроциты типа Бомбей встречаются у лиц с рецессивными генами Н, т. е. при генотипе hh. Отсутствие доминантного гена Н, кодирующего биосинтез предшественника антигена Н, приводит к отсутствию антигенов А и В, поскольку для синтеза последних необходим тот же биохимический субстрат-предшественник. Наличием рецессивных генов hh объясняют существование эритроцитов фенотипов Ah и Bh, у которых отсутствуют антигены Н и слабо выражены групповые антигены А и В. Согласно другой гипотезе, существование эритроцитов типа Бомбей, а также отклонения от обычного соотношения антигенов и антител в крови являются результатом функции репрессорных генов.

Установление того факта, что в мембранах эритроцитов содержатся изоантигены А и В, открыло возможность поиска их в фиксированных клетках нормальных тканей и органов, а затем и в опухолях человека. Однако решение этой задачи встретило огромные методические трудности. По сравнению с фиксированными клетками тканей эритроциты представляют собой наиболее доступный в методическом отношении объект изучения антигенной структуры клеток. Под воздействием антител эритроциты способны подвергаться различным весьма демонстративным изменениям — агглютинации или лизису, свидетельствуя тем самым о наличии или отсутствии в них соответствующих антигенов. Благодаря этой наглядности феномен агглютинации или лизиса эритроцитов под воздействием сывороток различных животных стал известен еще до того, как были изучены основные реакции иммунитета. Однако метод прямого анализа антигенной структуры, успешно примененный для изучения эритроцитов, не мог быть использован для исследования антигенного состава фиксированных клеток тканей и органов человека. Для решения этой

задачи был использован другой иммунологический метод — реакция специфической адсорбции антител. Этот метод основан на установленном еще П. Эрлихом и Ж. Моргенротом (1899), а затем Ж. Борде факте избирательной фиксации антител соответствующими антигенами. И. Л. Кричевский и Л. А. Шварцман (1927) были первыми исследователями, которые применили для изучения групповых антигенов А и В в фиксированных клетках человека метод специфической адсорбции нормальных изоагглютининов анти-А и анти-В. Определяя, какие изоагглютинины — анти-А или анти-В — специфически были связаны исследуемой тканью, можно судить о наличии или отсутствии в ней антигенов А или В.

Этот метод позволил доказать, что не только эритроциты, но и фиксированные клетки органов (мозга, селезенки, печени, почки) содержат идентичные с эритроцитами антигены А и В. Ткани органов людей группы А, как и их эритроциты, содержат антиген А, органы людей группы В, так же как и их эритроциты, содержат антиген В, ткани органов людей группы АВ содержат два антигена — А и В, т. е. также идентичны в групповом отношении с соответственными эритроцитами. Органы же людей, принадлежащих к группе О, так же как и соответственные им эритроциты, свободны от антигенов А и В.

В дальнейших исследованиях групповые антигены А и В были найдены в ткани яичников, щитовидной железы, трахеи, легкого, зобной железы, лимфатических узлов, желудка, кишки, влагалища, мочевого пузыря, эпителия рта, роговицы глаза, гипофиза, т. е. почти все изученные ткани человеческого организма содержат такие же антигены системы АВ0, как и соответствующие эритроциты этого же индивида. Исключением явился лишь хрусталик глаза, в котором И. Л. Кричевскому и С. Л. Шапиро (1928) не удалось обнаружить антигенов А и В.

Клетки и ткани различных органов содержат групповые антигены в неодинаковом количестве. Больше всего их в эритроцитах и меньше в лейкоцитах и тромбоцитах. Ткани печени, почки, селезенки более богаты групповыми веществами, чем ткани мозга, мышцы и соединительная ткань. Меньше всего групповых антигенов в хрящах, костной ткани, волосах. Однако и эти объекты используются судебно-медицинской экспертизой для установления групповой принадлежности.

У субъектов, выделяющих групповые вещества с секретами (слюной, желудочным соком, желчью и др.), фиксированные клетки тканей содержат больше групповых антигенов, чем ткани невыведителей. По материалам Р. М. Уринсон (1952), 76% людей являются выделителями и 24% — невыведителями групповых антигенов. Доказано существование промежуточных групп между сильными и слабыми секреторами. Способность выделять групповые антигены с секретами передается по наследству по доминантному типу. Лица, обладающие доминантным геном секретции, способны выделять с секретами групповые вещества.

же, имеющие рецессивный ген несекреции, этой способностью не обладают.

Групповые антигены А, В и Н в эритроцитах и секретах связаны с различными молекулярными структурами. Групповые антигены А и В в секретах — гликопротеиды, а групповые антигены эритроцитов и других клеток — гликолипиды. Групповые гликолипиды, выделенные из эритроцитов, содержат жирные кислоты, сфингозин и углеводы (глюкозу, галактозу, глюкозамин, галактозамин, фукозу и сиаловую кислоту). Углеводная часть молекулы связана с жирными кислотами через сфингозин. Гликолипидные препараты групповых антигенов, выделенные из эритроцитов, являются гаптенами; они специфически реагируют с соответствующими антителами, но не способны вызывать продукцию антител у иммунизированных животных. Присоединение к этому гаптену белка (например, лошадиной сыворотки) превращает групповые гликолипиды в полноценные антигены. Это дает основание заключить, что и в эритроцитах, и в фиксированных клетках тканей групповые гликолипиды связаны с белком и благодаря этому они являются полноценными антигенами. Групповая специфичность гликопротеидов и гликолипидов определяется углеводными структурами. Небольшое число сахаров, расположенных на концах углеводной цепи, является важной частью специфической антигенной детерминанты. Как показал химический анализ [Watkins W., 1966], в состав антигенов А, В, Н и Le^a входят одинаковые углеводные компоненты: α-гексоза, D-галактоза, α-метилпентоза, L-фукоза, аминсахара (N-ацетилглюкозамин, N-ацетил-D-галактозамин) и N-ацетилнейраминная кислота. Однако формирующиеся из этих углеводов структуры антигенных детерминант неодинаковы, что и определяет специфику групповых антигенов. L-фукоза играет важную роль в структуре детерминанты антигена Н, N-ацетил-D-галактозамин — в структуре детерминанты антигена А, а D-галактоза — в структуре детерминанты группового антигена В.

Биосинтез групповых антигенов находится под контролем соответствующих генов. Определенный порядок сахаров в цепи групповых полисахаридов возникает в результате строго координированного действия специфических гликозилтрансфераз. Согласно гипотезе W. Watkins (1966), групповые антигены, структурные детерминанты которых являются углеводами, можно рассматривать как вторичные продукты генов. Первичными же продуктами генов являются гликозилтрансферазы, катализирующие перенос сахаров от гликозильного производного нуклеозиддифосфата на углеводные цепи гликопротеина-предшественника. Продуктом гена Н являются фукозилтрансфераза (Н-фермент), продуктом гена А — N-ацетилгалактозаминилтрансфераза (А-фермент), а продуктом гена В — галактозилтрансфераза (В-фермент).

Гликозилтрансферазы, выделенные из женского молока, слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и сыворотки крови, оказались способными синтезировать *in vitro* специфические груп-

повые антигены из веществ-предшественников. Вещество Н, содержащееся в клетках HeLa, при помощи соответствующих гликозилтрансфераз удалось превратить в антигены А и В [Mousseron-Canet M. et al., 1975]. В линии клеток HT29, выделенных из человеческих раковых опухолей толстой кишки, найдены специфические гликозилтрансферазы: А, Н, Le^a и Т. А. Kobata и соавт. (1968) нашли, что А-фермент содержится только в молоке женщин группы А или АВ и отсутствует в молоке женщин группы В и О. Молоко женщин группы В и О не содержало фермент, необходимый для синтеза олигосахарида А. Фермент, катализирующий превращение Н-активной цепи в вещество В путем переноса D-галактозного остатка, имеется только у лиц группы В и АВ [Nakomori S., Kobata A., 1974].

Химическая природа вещества-предшественника в должной мере не определена. Одни исследователи считают, что общим для всех антигенов предшественником является гликопротеидное вещество, идентичное по своей специфичности полисахариду пневмококка XIV типа. На основе этого вещества под влиянием генов А, В, Н и Le строятся соответствующие антигенные детерминанты. Вещество антигена Н является основной структурой, которая входит во все групповые антигены системы АВ0(Н). Другие исследователи [Feizi T. et al., 1971] представили доказательства, что предшественником групповых антигенов является вещество антигена I. Трансферазы А₁ и А₂ качественно отличаются, как и синтезируемые ими групповые антигены А₁ и А₂. Гликозилтрансферазы, осуществляющие синтез групповых антигенов системы АВ0(Н), наследуются посредством независимых друг от друга генов по закону Менделя. При отсутствии у родителей генов, кодирующих синтез той или другой гликозилтрансферазы, у детей этот фермент не образуется.

Положительное решение вопроса о наличии в нормальных клетках органов человека антигенов А и В позволило не только поставить, но и решить вопрос о наличии этих веществ в клетках опухолей. Обладают ли опухоли (в первую очередь злокачественные новообразования) теми же самыми антигенами, что и нормальные ткани, или же они соответственно своим морфофизиологическим и биологическим особенностям дифференцированы иначе — вопрос, решить который можно было только экспериментальным путем.

Первые исследования в этом направлении были проведены Е. Witebsky и К. Okabe (1927), которые изучали раковую ткань кишки человека группы А и желчного пузыря больного группы О. Используя реакцию связывания комплемента антителами, полученными при иммунизации кроликов эритроцитами человека группы А и спиртовыми экстрактами из этих опухолей, они нашли, что раковая ткань кишки человека группы А, так же как и ткани его нормальных органов, содержит липидный групповой антиген А. Напротив, в раковой ткани желчного пузыря человека группы О антиген А не обнаружили. Но значительно

большой интерес, нежели это единичное, а следовательно, и явно недостаточное для заключения о групповой дифференцировке опухолей наблюдение, представляют работы известного польского исследователя L. Hirszfeld и соавт. (1929). С помощью методики Витебского исследователи установили, что как первичные раковые опухоли, так и их метастазы у больных группы А почти постоянно содержат групповой антиген А, а в саркомах он не обнаруживается. Другие данные о групповой дифференцировке сарком получили M. Goldstein и E. Kreisel (1930), которые, применив методику Кричевского и Шварцман, обнаружили, что не только раковые опухоли, но и саркомы дифференцируются в групповом отношении в тех же самых направлениях, как и соответственные им эритроциты и другие нормальные ткани человека. Аналогичные результаты получили O. Thomsen (1930) и A. Zacho (1932), которые для выявления антигенов А и В в опухолях использовали реакцию задержки изогемагглютинации, вызываемую нормальными антителами анти-А и анти-В в присутствии водных экстрактов из опухолей.

Все исследованные O. Thomsen 28 опухолей (раки, саркомы, фибромы и аденомы), а также 22 опухоли (раки, саркомы и доброкачественные новообразования), изученные A. Zacho, имели ту же групповую характеристику, что и эритроциты пациентов, от которых были взяты опухоли. Проведенное нами [Косыков П. Н., 1936] исследование 24 различных по своему строению сарком показало, что они дифференцируются в групповом антигенном отношении так же, как и нормальные клетки тех же больных, от которых были взяты опухоли. Ткани саркомы, полученные от лиц группы 0, не обладали способностью связывать нормальные антитела анти-А и анти-В, т. е. так же как и соответственные им эритроциты и другие нормальные ткани оказались свободными от групповых антигенов А и В. Ткани саркомы, полученные от больных группы А, связывали антитела анти-А, а саркомы людей группы В специфически связывали антитела анти-В. Это свидетельствует о наличии в клетках данных опухолей соответствующих групповых антигенов. Проведенные нами опыты показали, что дифференцирование опухолей в групповом отношении не стоит в связи с тем или другим строением сарком. Групповые антигены А и В обнаруживались как в наиболее злокачественных опухолях, состоящих из малодифференцированных круглых клеток, так и в опухолях зрелых, морфологически более дифференцированных. Однако различные саркомы обладали далеко не одинаковой по своей интенсивности связывающей изоантитела анти-А и анти-В способностью. Наименьшей способностью связывать изоагглютинины обладали саркомы, построенные из хрящевых и костных клеток. В клетках этих тканей, как известно, и в норме групповых антигенов А и В чрезвычайно мало. Клетки саркомы обладают вообще меньшей связывающей изоагглютинины способностью, нежели эритроциты и нередко даже клетки мышечной ткани, что проявляется в неполной адсорбции опухолью

антител. Это обстоятельство может привести к неправильным заключениям о принадлежности опухоли к группе 0 или даже к выводам о полном отсутствии у сарком групповых антигенов А и В. Аналогичные результаты были получены и в отношении групповой дифференцировки раковых опухолей человека, если для их изучения применяли нормальные изоагглютинирующие сыворотки анти-А и анти-В в реакции избирательной адсорбции.

П. Н. Косяков (1936) исследовал 44 раковые опухоли, различные по своей морфологии и локализации, и 21 их метастаз. Оказалось, что ткани злокачественных опухолей по своим групповым признакам не отличаются от нормальных тканей человека: они были дифференцированы в антигенном отношении на те же 4 различные группы, что и эритроциты и другие нормальные ткани того же индивида. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что приобретение нормальными клетками новых для них биологических и морфофизиологических особенностей, характерных для злокачественных blastom, не сопровождается качественными изменениями их групповых антигенных свойств. Групповые антигены опухолей полностью соответствуют групповым антигенам системы АВ0(Н) эритроцитов больного.

Не менее интересным представлялось изучение вопроса о сохранении раковыми клетками при метастазировании в другие ткани групповых антигенных свойств, присущих первичной опухоли. Исходя из хорошо известного факта, что метастазы морфологически не отличаются от исходной опухоли, мы вправе были ожидать сохранения в них и других свойств, в частности, групповых антигенов. Однако первые исследователи этого вопроса (Л. Гиршфельд и соавт.) отметили значительные различия в групповой дифференцировке метастазов по сравнению с таковой у опухолей, из которых они произошли. Иными оказались данные М. Galdstein и Е. Kreisel, которые, правда, на небольшом материале (9 случаев) выявили, что у метастазов сохраняется та же групповая дифференцировка, что и у исходных опухолей.

Как показали наши исследования [Косяков П. Н., 1936], метастазы раковых опухолей в большинстве случаев имели идентичные с исходной опухолью антигенные свойства. Однако в некоторых случаях (табл. 1) в метастазах наблюдалась пониженная способность связывать соответствующие изоагглютинины по сравнению с тканями первичной опухоли. Ткани последней и ее метастазы для исследования брали в опыт в одном и том же количестве и изучали их одновременно с одними и теми же стандартными сыворотками. В двух случаях мы наблюдали почти полную утрату тканями метастазов рака молочной железы способности специфически связывать соответствующие антитела из стандартных сывороток по сравнению с тканями первичной опухоли. Отмеченный феномен утраты групповых антигенов А и В клетками метастазов получил позднее подтверждение в работах других авторов. Доброкачественные опухоли (фибромы, фибромио-

мы, хондромы, остеомы), которые также были нами изучены, принципиально не отличались в отношении групповой антигенной дифференцировки. Как и злокачественные опухоли, доброкачественные blastомы дифференцируются в тех же 4 различных направлениях, что и другие клетки и ткани человека. Однако подобно саркомам и метастазам злокачественных опухолей встречаются доброкачественные опухоли, у которых групповые антигены выражены в меньшей степени, что проявляется в пониженной их способности адсорбировать из стандартных сывороток соответствующие изоантитела анти-А и анти-В.

Таблица 1. Групповые антигены А и В в перечисленных раковых опухолях и их метастазах

Группа крови больного	Стандартные сыворотки	Реакция гемагглютинации после адсорбции клетками			
		эритроциты	селезенка	опухоль	метастазы
А	β 1:8	+++	+++	+++	+++
	α 1:4	—	—	—	+
В	β 1:4	—	—	—	+
	α 1:8	+++	+++	+++	+++
А	β 1:6	+++	+++	+++	+++
	α 1:4	—	—	—	+
А	β 1:4	+++	+++	+++	+++
	α 1:2	—	—	—	+
А	β 1:2	+++	+++	+++	+++
	α 1:8	—	—	—	+
А	β 1:4	+++	+++	+++	+++
	α 1:8	—	—	—	+
В	β 1:2	—	—	—	+++
	α 1:4	+++	+++	+++	+++

В течение многих лет вопрос о полном соответствии групповой специфичности опухолей с таковой эритроцитов и других нормальных клеток того же индивида считался окончательно решенным. Однако начиная с 60-х годов, появились работы, которые вновь диктуют необходимость рассмотрения этой проблемы, учитывая возможность использования новых методических приемов. Для определения групповых антигенов А и В в опухолях широко использовалась разработанная R. Coombs и D. Bedford (1955) реакция смешанной гемадсорбции.

Эпителиальные клетки, тромбоциты и другие клетки обрабатывают специфическими сыворотками анти-А или анти-В, а затем отмывают 3 раза изотоническим раствором хлорида натрия. К отмытым клеткам прибавляют стандартные эритроциты соответствующей группы, после чего учитывают результаты опыта. При положительной реакции испытываемые клетки дают смешанную агглютинацию с эритроцитами, что свидетельствует о наличии у них общих антигенов.

При помощи этой реакции Н. Кау (1957) изучил 25 раковых опухолей мочевого пузыря и почки от больных группы А, В и АВ. Применялись нормальные человеческие сыворотки анти-А и анти-В. Групповые антигены, соответствующие группе крови пациента, легко обнаруживались на нормальных эпителиальных клетках мочеполового тракта. Аналогичные результаты были получены автором с помощью реакции торможения гемагглютинации. Однако в клетках раковых опухолей, возникших из этого эпителия, групповые антигены А выявлялись не всегда, наблюдалась полная или частичная их утрата. Продолжая эти исследования, Н. Кау и D. Wallace (1961) получили дальнейшее подтверждение своим первоначальным выводам. Используя реакцию смешанной гемагглютинации, они сравнили раковые клетки мочеполового тракта, полученные от 60 больных, с 42 образцами клеток, взятых для контроля. Оказалось, что полная или частичная утрата групповых антигенов А и В чаще наблюдалась у более злокачественных, быстро растущих, метастазирующих раковых опухолей мочеочника, ведущих к фатальному исходу. Однако такая зависимость отмечалась далеко не всегда. Встречались хорошо дифференцированные опухоли, в которых групповые антигены с помощью реакции смешанной гемагглютинации не обнаруживались, в то время как малодифференцированные опухоли давали хорошо выраженную реакцию (как и нормальные ткани).

Аналогичные результаты получил и W. Cowan (1962), который изучил 32 раковые опухоли желудка и толстой кишки, а также прилегающие к опухоли ткани. Автор использовал реакцию смешанной гемадсорбции. В 50% случаев опухоли содержали меньше групповых антигенов, чем прилегающие нормальные ткани. В 4 случаях опухоли дали более сильную реакцию, чем нормальные ткани. S. Kovarik (1968) использовал реакцию смешанной гемагглютинации для определения групповых антигенов системы АВ0 (Н) в фиксированных формалином парафиновых срезах из нормальных тканей, доброкачественных и злокачественных опухолей (рак кожи, носоглотки и мочевого пузыря). Для обнаружения антигенов А и В использовались сыворотки анти-А и анти-В от доноров, иммунизированных групповыми субстанциями (титр сывороток 1:160), а для обнаружения антигена Н применялись лектины из семян *Ulex europaeus*. Из 56 образцов раковых клеток 42 образца дали отрицательную реакцию, т. е. в них групповые антигены системы АВ0 (Н) обнаружены не были. У 9 образцов опухолей реакция была выражена слабее, чем в незлокачественных тканях, и только 5 раковых опухолей дали такую же сильную реакцию, как и нормальные ткани. В отличие от раковых опухолей групповые антигены легко обнаруживались в тканях нормальных и доброкачественных опухолей. Автор также пришел к выводу о том, что серологическая активность антигенов (АВН) снижается в процессе злокачественной трансформации. Утрату групповых антигенов А, В и Н клетками раковых опухолей автор объяснял их функциональной дедифференцировкой.

Подобные результаты получили I. Davidsohn и S. Kovarik (1969) при изучении доброкачественных и злокачественных опухолей шейки матки. Изоантигены АВ0(Н) определяли в фиксированных формалином срезах тканей реакцией смешанной гем-адсорбции, исследовали ткани от 82 больных. Групповые антигены были найдены в тканях всех 9 исследованных образцов доброкачественных опухолей. Напротив, ни в одном из 17 метастазов рака шейки матки групповые антигены авторы не обнаружили. В большинстве (18 из 21) случаев первичного рака шейки матки групповые антигены при использовании этой методики, как и в метастазах, также не определялись совсем или давали слабовыраженную реакцию. Только в 3 случаях, диагностируемых как инфильтрирующий рак, но без видимых метастазов, была отмечена сильновыраженная положительная реакция, свидетельствующая о наличии в клетках раковых опухолей групповых антигенов. Находки контролировались присутствием изоантигенов в непораженных нормальных тканях. Встречались опухоли, в которых одни раковые клетки давали выраженную реакцию на групповые антигены, другие клетки — не давали. Авторы объяснили этот феномен гетерогенностью клеточной популяции в ранней стадии канцерогенеза. На основании проведенных исследований они пришли к заключению о том, что имеется тесная зависимость между утратой клетками изоантигенов А, В, Н и злокачественной трансформацией. Утрата этих антигенов, по мнению авторов, является ранним показателем тех изменений клеток, которые предшествуют образованию ими метастазов.

Принципиально сходные результаты получили D. Sheahan и соавт. (1971), которые применили реакцию смешанной гем-адсорбции для обнаружения изоантигенов А, В и Н в фиксированных в 10% растворе формалина и залитых парафином срезах опухолей. Использовали человеческие сыворотки крови анти-А и анти-В (титр 1:128) и индикаторные эритроциты группы А, В и 0. Изоантигены А, В и Н были найдены в слизистой оболочке нормального желудка и тонкой кишки. Однако в метастазах раковых опухолей желудка наблюдалось полное отсутствие групповых антигенов. Последние не были обнаружены и у 5 из 9 исследованных первичных раковых опухолей желудка, в 3 образцах отмечено понижение активности и только в одном случае удалось выявить групповой антиген. Утрата групповой специфичности клетками злокачественных опухолей является, по мнению авторов, результатом изменений биосинтеза в них специфических олигосахаридов или незавершенности этого процесса. Полное отсутствие групповых антигенов в метастазах свидетельствует о больших повреждениях их клеток. Необходимо, однако, отметить, что использованная авторами методика была малочувствительной, поскольку она позволяла им открывать групповые антигены только в эндотелии сосудов и в эритроцитах, весьма богатых групповыми веществами. В эксперименте с лимфоидной и нервной тканями, мышцей и некоторыми другими тканями, в которых,

как известно, групповые антигены содержатся в меньшей концентрации, эта методика дала отрицательные результаты. Не исключено, что и обработка тканей 10% раствором формалина и последующая заливка парафином для получения срезов снижали активность групповых антигенов.

Еще менее определенными оказались результаты, полученные Н. Denk и соавт. (1974), которые также применили реакцию смешанной гемадсорбции для обнаружения групповых антигенов в фиксированных формалином и депарафинированных срезах. Авторы изучили 33 образца рака толстой кишки и 8 метастазов в печень. В 15 из 22 опухолей, полученных от больных группы А, был найден антиген А, и в 5 из 11 случаев, также соответствующих группе крови пациентов, — антиген В. Из восьми 6 метастазов в печень содержали групповые антигены, соответствующие группе крови лиц, от которых были взяты опухоли. Удивительным, однако, оказалось то, что в отличие от других исследователей этим авторам не удалось обнаружить групповые антигены в нормальных тканях толстой кишки, аденоматозных полипах и в клетках печени, где, как известно, групповые антигены хорошо обнаруживаются другими методами. Авторы предположили, что антигены, подобные групповым антигенам А и В, являются раковоэмбриональными, они появляются в опухоли в результате депрессии раковоэмбрионального гена. Однако следует отметить, что истинные групповые антигены А и В не являются раковоэмбриональными и отличаются друг от друга и по своей серологической специфичности.

Об утрате групповых антигенов клетками рака мочевого пузыря сообщили R. Weinstein и соавт. (1979), которые пользовались реакцией смешанной гемагглютинации для выявления антигенов АВ0(Н) в депарафинированных срезах. Для обнаружения антигена А применяли человеческую сыворотку крови анти-А, а антигена Н — лектины из *Ulex europaeus*. В 7 из 8 случаев нормальный биопсийный эпителий мочевого пузыря содержал групповые антигены, в то время как в раковых клетках мочевого пузыря эти антигены отсутствовали в 8 из 9 случаев. Отсутствие групповых антигенов в доброкачественных опухолях мочевого пузыря авторы связывают с «предраковым» состоянием. Этим же они объясняют и отсутствие групповых антигенов в прилежащих к опухоли нормальных тканях.

Другие результаты получили Н. Cooper и W. Haesler (1978), которые изучали аденокарциномы сигмовидной и толстой кишки на наличие в них агентов А, В и Н с помощью реакции смешанной гемадсорбции. Из тканей опухолей, так же как и нормальных тканей, фиксированных формалином, готовили срезы, которые затем обрабатывали сыворотками крови, полученными от людей, иммунизированных антигенами желудка свиньи (сыворотка анти-А) и антигенами желудка лошади (сыворотка анти-В). В эпителиальных клетках аденокарциномы толстой кишки и ректум был найден антиген А в 8 из 12 случаев, в то время как эпи-

телей нормальной слизистой оболочки, взятой из тех же областей, что и опухоль, дал отрицательную реакцию. Антиген В ни в одном из 5 образцов рака толстой кишки, полученных от больных группы В, найден не был. Появление в клетках раковых опухолей толстой кишки антигена А при отсутствии его в нормальных клетках авторы объясняют дерепрессией раковоэмбрионального гена. Утрату групповых антигенов А, В и Н клетками раковых опухолей отметил и I. Davidsohn (1979), применивший реакцию смешанной гемадсорбции для выявления этих антигенов в фиксированных формалином и залитых парафином срезах. Интенсивность реакции в злокачественных опухолях была снижена у одних опухолей и оказалась отрицательной у других, что свидетельствовало, по мнению авторов, о частичном уменьшении количества групповых антигенов или полной утрате их в клетках раковых опухолей. Другие результаты получили Н. Winkelmann и соавт. (1979), которые также использовали реакцию смешанной гемадсорбции для обнаружения изоантигенов А, В и Н в эпителии нормальной кожи и 35 опухолей эпидермального происхождения. Авторы выявили групповые антигены как в нормальной коже, так и во многих опухолях.

Утрату групповых антигенов клетками раковых опухолей связывают с их злокачественностью. Так, С. Limas и соавт. (1979) с помощью реакции смешанной гемадсорбции изучили биопсийные препараты рака мочевого пузыря от 60 больных и у 81% из них нашли в опухолях соответствующие групповые антигены. У этих лиц метастазов не было. У 34 пациентов, у которых при первичной биопсии групповые антигены не обнаруживались, в 62% случаев развились метастазы. Эти результаты показали, что наличие легко обнаруживаемых групповых антигенов системы АВ0(Н) в опухолях коррелирует с благоприятным прогнозом течения заболевания, в то время как отсутствие этих антигенов свидетельствует об агрессивных потенциях опухоли.

Итак, применение метода смешанной гемадсорбции различными авторами для обнаружения антигенов А, В и Н в опухолях дало неодинаковые, а иногда и противоречивые результаты. Однако несмотря на это, многие исследователи отмечали снижение или даже полное исчезновение групповых антигенов в опухолях по сравнению с нормальными клетками.

Для обнаружения групповых антигенов в опухолевых и нормальных клетках был применен и более чувствительный серологический метод — иммунофлюоресценция. При помощи этого метода L. Glynn и соавт. (1957) нашли, что клетки рака желудка и дуоденум, как и неопухолевые клетки, содержат групповые антигены, соответствующие группе крови больных, от которых были взяты опухоли. Методом иммунофлюоресценции А. Eklund и В. Guillbring (1963) изучили 20 образцов аденокарциномы желудка и один доброкачественный полип. Использовали человеческие сыворотки крови анти-А и анти-В. Все опухоли за исключением одной — скирр — от человека группы А дали положитель-

ное свечение, т. е. содержали групповые антигены А и В в полном соответствии с группой крови пациентов. Групповые антигены обнаруживались в срезах как из нормальной слизистой оболочки желудка, так и из раковых опухолей различной степени дифференцировки. Результаты не зависели от типа секреции (Se и se) пациента, опухоль которого использовалась. Аналогичные результаты получили M. Tellem и соавт. (1963), которые сравнили эффективность метода иммунофлюоресценции и реакцию торможения гемагглютинации для определения групповых антигенов в тканях и нашли, что оба эти метода дают почти одинаковые результаты. Групповые антигены А и В, полностью соответствующие группам крови, были найдены в срезах доброкачественных и злокачественных опухолей молочных желез человека. Значительных различий между доброкачественными и злокачественными опухолями по содержанию в них групповых антигенов не отметили. Однако в некоторых образцах доброкачественных и злокачественных опухолей, как и в прилегающих к ним нормальных тканях, обнаружить групповые антигены не удалось. Авторы предположили, что причина этого заключается в быстром появлении в опухоли новых генераций клеток, не достигающих функциональной и биохимической дифференцировки. Авторы предполагали и о возможности специфических генетических изменений, что приводило к уменьшению или даже утрате клетками групповых антигенов.

Аналогичный феномен описали R. Prendergast и соавт. (1968), которые изучили гистологические срезы 15 биопсийных материалов нормальной слизистой оболочки и 8 образцов ракового эпителия полости рта на наличие в клетках групповых антигенов. Испытуемые образцы обрабатывали человеческими сыворотками крови анти-А или анти-В, а затем меченным флюоресцентным античеловеческим глобулином, полученным от козы. Оказалось, что нормальные эпителиальные клетки флюоресцировали интенсивно, а флюоресценция злокачественных клеток была снижена или отсутствовала. В одном и том же препарате одни клетки давали положительную реакцию, другие — отрицательную.

Причины уменьшения группоспецифической активности некоторых раковых опухолей человека остаются еще недостаточно изученными. K. Stellner и S. Nakomori (1973) установили, что в злокачественных опухолях по сравнению с нормальными тканями содержится в 5—6 раз меньше гликозилтрансфераз, синтезирующих групповые антигенные детерминанты. Не исключено также, что в раковых клетках снижается и продукция веществ-предшественников, необходимых для синтеза групповых антигенов. Можно также предполагать, что не все предшественники в раковых клетках превращаются в полные антигенные структуры, т. е. происходит неполный синтез. Уменьшение содержания групповых антигенов в клетках связывают и с быстротой деления этих клеток. С. Hogman (1960) установил, что нормальные клетки легкого и почки человеческого эмбриона в культуре постепенно утрачи-

вают первоначальную способность реагировать с соответствующими изоантителами анти-А и анти-В. Клетки в первых трех пассажах давали сильноположительную реакцию, а к 5—6-му пассажу становились слабоположительными и к 9—10-му пассажу — давали отрицательную реакцию, свидетельствующую об утрате групповых антигенов А и В клетками культуры. Можно предполагать, что быстрее делящиеся клетки скорее утрачивают способность синтезировать групповые антигены, чем клетки, медленно делящиеся. Не исключено, что снижение содержания групповых антигенов в раковых клетках и особенно в клетках метастазов связано со скоростью их деления.

Об утрате клетками групповых антигенов в процессе культивирования *in vitro* сообщили также L. Chessin и соавт. (1965). Первичные клетки человеческого амниона, а также клетки через 10 дней их культивирования давали хорошо выраженную реакцию смешанной гемагглютинации, свидетельствующую о наличии в них антигенов А, В и Н. Однако через 30 дней культивирования отмечалась утрата специфической активности. Прибавление к культуре амниотических клеток вещества-предшественника восстанавливало синтез группового антигена (был изучен антиген В). Авторы считают, что утрата групповой специфичности клеточными линиями культуры связана с дефицитом веществ-предшественников, необходимых для синтеза антигенных детерминант. Исчезновение же групповых антигенов в некоторых случаях из клеток злокачественных новообразований авторы связывают с изменением их генома. Аналогичные результаты получили Г. П. Трибулев и соавт. (1973). В первичных культурах человеческих клеток наблюдалось быстрое уменьшение содержания поверхностных изоантигенов А и В и уже после 6—7-го пассажа они не выявлялись. Было отмечено снижение количества изоантигенов А и В на поверхности злокачественных клеток.

Групповые антигены системы АВ0 были найдены и в лейкоцитах, полученных как от здоровых лиц, так и от больных лейкозом. Р. Wichels и W. Lamp (1928) сообщили, что лейкоциты, полученные от больных миелоидной лейкемией, агглютинируются человеческой сывороткой крови анти-А так же, как и эритроциты соответствующей группы крови. Отсюда был сделан вывод о наличии в лейкоцитах группового антигена А. В отличие от данных этих авторов О. Thomsen (1930) нашел, что лейкоциты, полученные от больных хроническим лимфолейкозом и миелозом, лишь в исключительных случаях агглютинируются сывороткой крови человека, и таким путем доказать наличие в них групповых антигенов А и В не всегда удается. О методической трудности выявления групповых антигенов А и В в лейкоцитах с помощью прямой агглютинации их нормальными изосыворотками сообщила Р. М. Уринсон (1956). Более эффективным для решения этой задачи оказался метод избирательной адсорбции лейкоцитами изоантител анти-А и анти-В. По сравнению с эритроцитами лейкоциты обладают меньшей адсорбционной способностью. Причи-

ны этого еще не ясны. Это может зависеть как от меньшего количества групповых антигенных детерминант на мембранах лейкоцитов по сравнению с эритроцитами, так и от неодинакового их расположения.

Исследования J. Tullis (1953), S. Moeschlin и соавт. (1954), G. Dausset (1954) подтвердили возможность доказательства групповой дифференцировки лейкоцитов методом как прямой агглютинации, так и специфической адсорбции. Согласно Ж. Доссе, прямую агглютинацию лейкоцитов при взаимодействии их с нормальными изосыворотками наблюдать можно, однако для этого необходимо пользоваться сыворотками с достаточно высоким титром агглютининов. Адсорбированные на поверхности лейкоцитов изоагглютинины могут быть затем элюированы.

Таким образом, в настоящее время не возникает сомнения в том, что лейкоциты содержат групповые антигены системы АВ0 такой же специфичности, как и эритроциты тех же индивидов. Важным также представляется факт сохранения лейкоцитами при лейкозах той же групповой специфичности, какая свойственна и нормальным лейкоцитам.

Начиная с 1957 г., появилось много сообщений о том, что у больных, страдающих различными формами лейкозов, может снижаться активность групповых антигенов А и В в эритроцитах. J. van Loghem и H. Dorfmeier (1957) выявили, что эритроциты больного группы А через год после заболевания миелобластическим лейкозом стали весьма слабо агглютинироваться сывороткой анти-А. Сходные изменения отметили F. Stratton и соавт. (1958): эритроциты пациента группы A_1 , больного гипопластической анемией, утратили способность агглютинироваться сывороткой анти-А, но сохранили свойство адсорбировать эти антитела. У пациента группы A_1 , страдавшего острым монобластическим лейкозом, E. Gold и соавт. (1959) обнаружили, что только 2% эритроцитов сохраняли способность агглютинироваться сывороткой анти-А, а остальные эритроциты оставались неагглютинбельными, хотя и адсорбировали антитела анти-А, но как и эритроциты группы A_2 , т. е. слабее, чем эритроциты группы A_1 . Во время ремиссии количество агглютинированных эритроцитов повышалось и достигало 35%. Объяснения этому феномену авторы не дают. У 2 больных группы А с острым лейкозом C. Salmon (1959) выявил смешанную популяцию эритроцитов — нормально реагирующих с сывороткой анти-А и слабо реагирующих или даже совсем не реагирующих, т. е. сходных с эритроцитами группы 0. Через 2 года после лечения в эритроцитах был выявлен антиген А.

Интересный случай описали P. Renton и F. Stratton (1962). Они изучали группу крови эритроцитов больного эозинофильным лейкозом. Эритроциты этого человека до болезни содержали антигены A_1B , однако в результате заболевания в крови стали определяться эритроциты, которые имели различную групповую характеристику: A_2B , A_2 , В и 0, но не A_1B или A_1 . Такие измене-

ния в антигенном составе эритроцитов могли, как полагают авторы, возникнуть только в результате хромосомных изменений в клетках — предшественниках эритроцитов, поскольку эти изменения затрагивали антиген А, но не В. Описанные выше изменения в групповой характеристике эритроцитов при лейкозах касались антигена А. А. Richards (1962) описал случай хронического лимфолейкоза, когда в эритроцитах больного группы АВ стал обнаруживаться только антиген А. Имела ли место полная утрата эритроцитами антигена В или только подавление одной из его функций — агглютинабельности, осталось невыясненным. Было бы чрезвычайно важным изучить адсорбционные свойства эритроцитов, утративших способность агглютинироваться сывороткой анти-В и проследить дальнейшую судьбу этих эритроцитов. Автор предположил, что лейкозный процесс или применение химических препаратов для лечения привело к выпадению функции гена В при сохранении функции гена А. О снижении активности групповых антигенов А и В в эритроцитах больных лейкозом сообщали также А. Majsky и J. Jakoubkova (1967). Из 182 обследованных ими у 17 больных (9,3%) эритроциты не агглютинировались соответствующей сывороткой. У больных раком в отличие от больных лейкозом снижение агглютинабельности эритроцитов наблюдалось значительно реже.

Большое снижение активности групповых антигенов системы АВ0 (Н) в эритроцитах больных лейкозом отметили S. Saichua и P. Chiewsilp (1978), которые сравнили кровь 114 пациентов с 509 образцами крови здоровых доноров. Однако при лимфомах различия в агглютинабельности эритроцитов по сравнению с контролем были незначительными. Утрату групповых антигенов А и В эритроцитами больных лейкозом часто отмечали еще в предлейкемической стадии [Salmon Ch., 1976].

Таким образом, накопилось много фактов, свидетельствующих о том, что количество групповых антигенов А, В и Н в эритроцитах больных злокачественными гемопатиями может снижаться или они могут полностью временно утрачиваться. Менее часто отмечалось уменьшение содержания антигенов Rh и Lu.

Наблюдающийся иногда в эритроцитах избыток антигенов H, Ii, T и Tn при злокачественных гемопатиях объясняют замедлением процесса превращения веществ-предшественников в антигены А, В и MN. В этой связи большой интерес представляет изучение при лейкозах активности гликозилтрансфераз, осуществляющих синтез групповых веществ. Ch. Salmon (1976) наблюдал при остром лейкозе утрату групповых антигенов эритроцитами, снижение их агглютинабельности. Эти изменения сопровождались уменьшением уровня специфических групповых гликозилтрансфераз. W. Kuhns и соавт. (1980) изучили активность H- и A-гликозилтрансфераз в сыворотке крови у 54 больных острым миелоидным лейкозом, а также у здоровых доноров. Было отмечено, что содержание H-гликозилтрансферазы в сыворотке крови больных снижалось до 1—3%, в то время как в норме количе-

ство группового фермента составляло 3—15%. Во время клинической ремиссии уровень гликозилтрансферазы доходил до нормы. Аналогичный феномен — снижение концентрации фермента в сыворотке крови во время приступа и повышение ее при ремиссии — наблюдался и в отношении А-гликозилтрансферазы. Экстракты из лейкоцитов больных острым лейкозом содержали меньше Н-фермента, чем нормальные лейкоциты. Причина дефицита этого фермента при остром миелоидном лейкозе остается неизвестной. Предполагают, что это связано с супрессией лейкогенными агентами генов, кодирующих синтез групповых гликозилтрансфераз, это приводит к снижению или даже утрате эритроцитами групповых антигенов А, В, Н при остром миелоидном лейкозе. Интересно, что у лиц фенотипа пара-Бомбей, в эритроцитах которых отсутствует вещество Н, Н-фермента в сыворотке нет. У больных хроническим лейкозом, ретикулярно-клеточной саркомой и раком в большинстве случаев уровень специфической гликозилтрансферазы находится в пределах нормы. Депрессия биосинтеза Н- и А-ферментов при остром лейкозе отражает, возможно, изменения в лейкозных клетках.

Выявление этих изменений, т. е. снижение активности Н- и А-гликозилтрансфераз, можно использовать в прогностических целях. Однако имеющиеся сообщения о необычно высоком уровне групповых гликозилтрансфераз в сыворотке крови некоторых больных лейкозом снижают практическую ценность этого теста.

Утрата эритроцитами больных лейкозом групповых антигенов А и В не всегда коррелирует со снижением содержания групповых антигенов в плазме крови. С. С. Харамоненко (1966) отметил повышение уровня антигенов А и В в сыворотке крови у таких больных, что связано, по мнению автора, с увеличением активности ферментных систем, способствующих высвобождению групповых антигенов в клетках и тканях и поступлению их в кровь. Аналогичный феномен — увеличение уровня групповых субстанций А, В и Н в плазме крови у больных раком желудка, кишечника, поджелудочной железы и яичника — был отмечен ранее [Burber M., Dunsford I., 1959; Salmon Ch. et al., 1960]. Повышение содержания групповых гликопротеидов Н и А в плазме крови больных лейкозом было столь значительным, что соответствовало концентрации этих антигенов в слюне, которая наиболее богата ими. Р. Rouger и соавт. (1979) определяли уровень антигенов А, Н и I в плазме крови у 70 больных раком желудка и толстого кишечника и тоже отметили значительное повышение активности антигена А в плазме крови больных группы А и антигена Н у лиц группы О. У 25% пациентов было отмечено повышение в плазме крови содержания антигена I. Различий в содержании антигена i у больных раком и здоровых людей не наблюдалось. Отмеченный феномен представляется тем более удивительным, что в самих раковых клетках иногда наблюдается снижение концентрации групповых антигенов. Большие колебания в содержании антигенов А, В, Н и I в плазме крови как

больных раком, так и у здоровых людей, не позволяют, однако, использовать этот тест для диагностики.

Помимо групповых гликопротеидов, в сыворотке крови больных раком отмечено существенное повышение уровня сиаловой кислоты [Watkins W. et al., 1974]. A. Hogan-Ruan (1980) обследовал 56 здоровых доноров и 65 больных раком молочной железы на наличие в их сыворотке крови сиаловой кислоты. Оказалось, что у больных концентрация этой кислоты значительно повышена. Авторы отметили корреляцию между уровнем сиаловой кислоты и стадией заболевания. У пациентов с метастазами опухолей этот показатель был более высоким по сравнению с больными, имеющими локализованные опухоли. Однако при растущих опухолях и опухолях без метастазов также отмечалось увеличение концентрации сиаловой кислоты в сыворотке крови больных. На основании этих фактов авторы предположили, что определение уровня этой кислоты может служить дополнительным тестом для констатации стадии развития опухоли. Однако следует иметь в виду, что повышенная концентрация сиаловой кислоты в сыворотке крови онкологических больных не является специфическим маркером злокачественности процесса, поскольку этот феномен может иметь место и при некоторых инфекциях, воспалении, травме, ревматизме, артрите и др. Строгой зависимости между содержанием сиаловой кислоты в сыворотке крови больных раком молочной железы и концентрацией у них раково-эмбрионального антигена не наблюдалось. Гликопротеиды вирус-трансформированных клеток содержат больше сиаловой кислоты, чем гликопротеиды нетрансформированных клеток. Высокоонкогенные и метастазирующие меланомы мышей содержат «высоко-сиализированные» гликопротеиды. Большая степень «сиализации» поверхностных антигенов опухолевых клеток, как полагают, способствует повышенной инвазивности и образованию метастазов.

Таким образом, из представленного обзора литературы следует, что клетки злокачественных новообразований человека содержат такие же групповые антигены системы АВ0 (Н), как и нормальные клетки, от которых происходят опухоли. Это было доказано многими авторами при использовании различных методов: реакций избирательной адсорбции нормальных изоантител анти-А и анти-В, смешанной гемагглютинации по Кумбсу, иммунофлюоресценции. Вместе с тем было отмечено, что клетки злокачественных опухолей в некоторых случаях могут в большей или меньшей степени утрачивать способность реагировать с соответствующими специфическими сыворотками анти-А и анти-В. На основании этого был сделан вывод об утрате раковыми клетками групповых антигенов или снижения содержания этих антигенов. Особенно убедительно это доказано в отношении метастазов злокачественных опухолей при сравнении их в условиях одного опыта с исходными опухолями и нормальными тканями, взятыми для контроля. Феномен утраты групповых антигенов проявляется, однако, не у всех опухолей, а лишь у некоторых из

них, т. е. не является закономерностью, присущей всем злокачественным опухолям человека. При этом следует иметь в виду, что и нормальные ткани, взятые от различных лиц, как и эритроциты, неодинаково серологически активны, они могут отличаться большей или меньшей агглютинабельностью и адсорбционной способностью. Группоспецифическая активность зависит и от морфологического состава ткани. Например, опухоли соединительно-тканного происхождения (саркомы, фибромы и др.) менее богаты групповыми веществами. Это, по-видимому, относится и к фиброзным ракам.

Итак, большинство работ, посвященных изучению групповой дифференцировки опухолей, свидетельствует о полном соответствии групповой специфичности доброкачественных и злокачественных новообразований группе крови носителя опухоли. Отмечалось лишь снижение содержания групповых антигенов А и В в опухолях по сравнению с нормальными тканями, т. е. количественные, но не качественные различия между ними.

Однако с 70-х годов начинают появляться (правда, единичные) сообщения о том, что раковые клетки могут не только утрачивать в большей или меньшей степени присущие нормальным клеткам групповые антигены, но и приобретать новые антигены, несовместимые с группой крови больного. I. Häkkinen и S. Virtanen (1967) выделяли сульфогликопротеиды из желудочного сока больных раком, лиц с атрофическим гастритом и здоровых людей и исследовали их на наличие групповых антигенов. Последние определялись реакцией торможения гемагглютининов сыворотки, полученных от людей группы А и В, которые были иммунизированы соответственно антигенами желудка свиньи (сыворотка анти-А) и антигенами желудка лошади (сыворотка анти-В). Сульфогликопротеиды, выделенные из желудочного сока от 18 здоровых лиц и 9 больных атрофическим гастритом, обладали специфической активностью, соответствующей группе крови лиц, от которых они были получены. Не отличались по своей специфичности от группы крови хозяина и сульфогликопротеиды, выделенные из желудочного сока 11 больных раком группы А. Они реагировали с сывороткой анти-А и только в одном случае наблюдалась весьма слабая реакция с сывороткой анти-В, которую можно считать не специфической. Напротив, сульфогликопротеиды, выделенные из желудочного сока больных раком группы В и 0, помимо специфичности, соответствующей группе крови носителя опухоли, проявляли еще серологическую активность, несовместимую с их группой крови. Так, сульфогликопротеиды, выделенные из желудочного сока 5 больных группы В, реагировали не только с сывороткой анти-В (что естественно), но и с сывороткой анти-А. Это свидетельствовало, по мнению авторов, о появлении в полученных препаратах нового антигена А. Следует, однако, отметить, что в нативном желудочном соке одного больного группы В несовместимый антиген А не выявлялся, но обнаруживался только в полученном из препарата сульфогликопротеиде.

В другом случае этот антиген определялся в весьма низком (1:4) титре, что могло быть результатом неспецифичности реакции. Несовместимые с группой крови антигены были найдены и в сульфогликопротеидах, выделенных из желудочного сока онкологических больных группы 0: 6 из 7 исследованных образцов реагировали с сывороткой анти-А, а 2 — и с сывороткой анти-В. По мнению авторов, это свидетельствовало о появлении у больных группы 0 несовместимых групповых антигенов А и В.

Аналогичные результаты получили I. Häkkinen и V. Raunio (1969) при изучении активности групповых антигенов в водорастворимых гликопротеидах и микросомных фракциях, выделенных из слизистой оболочки желудка при злокачественной опухоли и пептической язве этого органа. Оказалось, что водорастворимые гликопротеиды, выделенные из 7 образцов слизистой оболочки желудка при раке от больных группы 0 и В, в 4 случаях реагировали с сывороткой анти-А. Это свидетельствовало о появлении в раковой опухоли несоответствующего группе крови пациента антигена А. Несовместимый в групповом отношении антиген А был найден в желудочном соке не только у онкологических больных, но и у 2 из 10 лиц с пептической язвой желудка. Не соответствующее группе крови пациентов вещество А обнаруживалось и в микросомных фракциях слизистой оболочки желудка.

«А-подобный» (по терминологии автора) антиген был найден I. Häkkinen (1970) и непосредственно в клетках слизистой оболочки желудка при раке этого органа у больных группы 0 и В с помощью метода иммунофлюоресценции. Автор использовал сыворотки крови кроликов, иммунизированных очищенной жидкостью кисты яичника женщин группы А и В. Сыворотки крови предварительно очищались от неспецифических антител адсорбцией их человеческими эритроцитами соответствующих групп крови, а также слизистой оболочки и высушенным соком желудка. Сыворотка анти-А имела титр 1:512, а сыворотка анти-В — 1:128. Клетки слизистой оболочки желудка при раке от 3 больных группы В реагировали не только с сывороткой анти-В, что и естественно, но и с сывороткой анти-А. Это свидетельствует о наличии в опухолевой ткани «А-подобного» антигена. Последний был обнаружен также в одном из 4 случаев и в раковых клетках желудка больного группы 0. При пептической язве желудка клетки слизистой оболочки этого органа у больных группы В и 0 несовместимого группового антигена А не содержали. Появление в раковых клетках больных группы 0 и В «А-подобного» антигена автор объяснял соматической мутацией, наступившей в результате злокачественного процесса. Примечательным, однако, является то, что подобные изменения касались лишь антигена А, сложного по своему составу и близкого к антигену Форсмана, но не антигена В, который находился как в слизистой оболочке желудка при пептической язве, так и в раковой ткани желудка в строгом соответствии с групповой характеристикой крови пациента. По данным I. Häkkinen (1970), «А-подобный» антиген, появ-

ляющийся в раковых клетках пациентов группы 0 и В, серологически не отличался от нормального антигена. Однако следует отметить, что это положение нельзя признать экспериментально обоснованным, так как автор не использовал нормальные изоантитела анти-А, которые более специфичны, чем гетероиммунные кроличьи сыворотки крови.

О появлении в опухолях человека антигенов, несовместимых с его группой крови, сообщили Н. Denk и соавт. (1974). Они изучили 39 злокачественных опухолей желудка и 23 раковые опухоли толстой кишки с помощью реакции смешанной гемадсорбции по Кумбсу и непрямой реакции иммунофлюоресценции. Применяли так называемые коммерческие сыворотки, получаемые от людей после иммунизации их антигенами желудка свиньи (сыворотка анти-А) и антигенами желудка лошади (сыворотка анти-В). Титр сывороток составлял 1:1000. Антигены А и В определяли в свежемороженых фиксированных формалином и спиртом срезах опухолей. Групповые антигены А и В, соответствующие группе крови больного, были найдены в большинстве опухолей. Однако в некоторых срезах опухолей они отсутствовали или выявлялись несовместимые с группой крови пациента групповые антигены (9 случаев). Такие антигены обнаруживались только в свежемороженых срезах, но не в фиксированных препаратах. Ткани раковых опухолей 3 больных группы А крови реагировали не только с сывороткой анти-А, как и следовало ожидать, но и с сывороткой анти-В. Срезы злокачественных опухолей 2 лиц группы В реагировали и с сывороткой анти-А, а срезы опухолей 4 больных группы 0 — с сыворотками анти-А и анти-В. Авторы пришли к выводу, что в клетках злокачественных опухолей человека появляются групповые антигены А и В, несовместимые с его группой крови.

В свое время в литературе появлялись работы, в которых сообщалось об изменении группы крови у некоторых лиц в результате перенесения или инфекционных заболеваний, или других воздействий на организм. Более тщательные проверочные испытания это не подтвердили. Причиной расхождения результатов чаще служили методические погрешности и недостаточная выраженность групповых признаков, снижение активности антигенов под влиянием различных экзогенных и эндогенных агентов. Специфическая активность групповых антигенов А и В может снижаться в зависимости от ряда причин. Однако изменений качественных признаков, т. е. превращения одной группы крови в другую, достоверно не было отмечено ни при каких патологических состояниях. Поскольку групповые антигены А и В являются сильными трансплантационными антигенами, то в ответ на их появление должна была бы возникать сильная иммунологическая реакция, ведущая к деструкции раковых клеток, в том числе и метастазов, что благотворно сказалось бы на течении и исходе злокачественного процесса. Но такие наблюдения отсутствуют, как остается еще не доказанным, в какой мере обнаруживаемые

в клетках раковых опухолей «А-» и «В-подобные» антигены идентичны истинным групповым антигенам А и В. Для решения этого вопроса, к сожалению, не были использованы нормальные изоантитела анти-А и анти-В, которые являются идеальными по своей специфичности реагентами для обнаружения истинных групповых антигенов, а также собственные сыворотки крови больного для установления несовместимости их с антигенами опухоли. Авторы применяли сыворотки иммунные, полученные от кроликов, или человеческие сыворотки крови после иммунизации людей антигенами желудка свиньи (сыворотка анти-А) и антигенами желудка лошади (сыворотка анти-В), которые, однако, не идентичны изоантителам нормальных сывороток крови. Иммунная кроличья сыворотка анти-А может содержать антитела не только к групповому антигену А, но и к «А-подобному» антигену, близкому к гетерогенному антигену Форссмана, но не идентичного ему.

Этот антиген был найден различными авторами в спиртовых экстрактах из тканей нормальных и злокачественных опухолей людей групп А, АВ, 0 и В [Кричевский И. Л., Месик Р. Е., 1930; Hirszfeld L., Halber W., 1929; Lehman-Facijs H., 1934]. Содержание «А-подобного» антигена в клетках у людей различных групп крови неодинаковое: его больше у лиц группы А и меньше у лиц группы В и АВ. Об этом свидетельствуют также и опыты S. Nakomori и соавт. (1967), которые показали, что гликолипид, выделенный из человеческой аденокарциномы и свободный от антигенов А и В, стимулировал у кроликов продукцию антител к эритроцитам людей всех групп крови. Однако эритроциты группы А давали более интенсивную реакцию агглютинации, чем эритроциты группы 0, В и АВ. Противоречивые результаты в отношении групповой дифференцировки нормальных тканей и опухолей могут зависеть от методических трудностей и прежде всего от неспецифического связывания антител тканями при отсутствии в них соответствующих антигенов А и В. Неспецифическое связывание тканями антител анти-А и анти-В — явление далеко не редкое, и с ним приходится считаться особенно в судебно-медицинской практике, искать способы преодоления этого феномена, широко использовать контрольные опыты. Только несовершенством примененной методики можно объяснить, что некоторые авторы [Denk H., Tarpeiner G., 1974] не находили групповые антигены А и В в некоторых нормальных тканях, например, в печени, где эти антигены постоянно обнаруживаются, но выявляли их в клетках раковых опухолей.

Таким образом, накопилось много фактов, свидетельствующих о том, что при злокачественных новообразованиях может происходить временное снижение или полное исчезновение групповых антигенов А, В и Н из клеток. Этот феномен часто наблюдается уже в прелейкемической стадии. Утрате групповых антигенов системы АВН соответствует дефицит гликозилтрансфераз. Впервые это было выявлено по их уровню в сыворотке крови [Salmon Ch., 1976; Watkins W., 1978], а также в эритроцитах. Сооб-

щение о появлении в клетках при злокачественных гемопатиях антигенов, несовместимых с группой крови больного [по системе АВ0(Н)], экспериментально не подтвердилось [Salmon Ch., 1976].

Менее ясным представляется вопрос о возможности возникновения в клетках солидных раковых опухолей групповых антигенов А или В, несовместимых с группой крови больного. Антигены, обнаруживаемые в раковых опухолях, не соответствующие генотипу больного, были описаны многими исследователями и получили различные названия («несовместимые», «незаконные», «необычные»). Следует, однако, отметить, что этот феномен еще недостаточно экспериментально обоснован. Отсутствуют данные о появлении в раковых клетках новых, не свойственных определенному генотипу гликозилтрансфераз. Последние, как известно, и осуществляют превращение вещества-предшественника в антигены А или В, что было доказано опытами *in vitro* при помощи специфических ферментов, выделенных из молока, сыворотки крови, слизистой оболочки желудка. Следовательно, имеется возможность экспериментальной проверки этой гипотезы. При решении вопроса о возникновении в клетках раковых опухолей несовместимых с группой крови пациента антигенов не следует забывать и о методических трудностях, а именно о неспецифическом связывании антител анти-А или анти-В, что может привести к неправильному заключению о групповой дифференцировке опухолей. Для проведения таких исследований было бы предпочтительным использование нормальных изоантител анти-А и анти-В, чем применение гетероиммунных сывороток крови или лектинов. Ch. Salmon (1979) полагает, что лектин, полученный из семян *Dolichos biflorus*, открывает «А-подобный» антиген, но не истинный антиген А, возникающий путем ферментативного превращения вещества-предшественника. Следует также считаться с возможностью появления новых антигенных детерминант и в результате обработки препаратов, при которой могут изменяться цепи молекул сахаров, что может создавать впечатление о возникновении «несовместимого» группового антигена. Об этом свидетельствуют опыты J. Picard (1978) по изолированию из муцинов опухоли яичника гликопептидов, обладающих активностью антигенов А, В и Н, несовместимой с группой крови больного. Было бы крайне желательно испытание групповых антител больного с антигенами его собственной опухоли для решения вопроса о появлении в них несовместимого группового антигена.

Глава 3

АНТИГЕНЫ СИСТЕМ MN, T (ТОМСЕНА), Ii, P, Rh

Помимо антигенов АВ0(Н), в клетках злокачественных новообразований человека были найдены и другие изоантителы, относящиеся к различным генетически детерминированным системам. Многие из этих антигенов раньше всего были обнаружены в эрит-

роцитах как наиболее удобном объекте иммунологического исследования. Доступность и простота наблюдений за реакцией гемагглютинации под действием сывороток крови, высокая чувствительность и специфичность этой реакции способствовали обнаружению групповых антигенов в эритроцитах и открыли возможность поиска их и в других свободных и фиксированных клетках организма человека.

Антигены системы MN

Антигены системы MN были открыты К. Landsteiner и Р. Levine (1927) с помощью сывороток крови, полученных путем иммунизации кроликов эритроцитами человека. Гетероиммунные сыворотки после избирательной адсорбции их эритроцитами, полученными от других лиц, сохраняли гемагглютинины, которые реагировали с эритроцитами, взятыми для иммунизации и еще некоторых других лиц. Таким образом, в эритроцитах были открыты антигены, обозначенные буквами М и N. Эти антигены в отличие от антигенов А и В не могут отсутствовать совсем. Вместе (М и N) они встречаются в эритроцитах 50% людей, у 30% лиц находится антиген М и у 20% — только антиген N. Изоагглютинины анти-М и анти-N у людей встречаются исключительно редко, поэтому для определения антигенов чаще приходится пользоваться гетероиммунными сыворотками, хотя специфичность последних значительно уступает таковой аллоиммунных сывороток. В отличие от антигенов А и В, являющихся сильными трансплантационными антигенами, антигены системы MN обладают слабовыраженными изоантигенными свойствами. К антигенам М и N, особенно к антигену N, люди в значительной мере толерантны, и поэтому в практике переливания крови эти антигены обычно не учитываются. Причины иммунологической толерантности организма человека к одному из отсутствующих антигенов выяснены еще недостаточно. Это объясняют сходством между антигенами М и N. Было известно, что эритроциты группы М способны извлекать антитела анти-N из иммунной кроличьей сыворотки, тем самым свидетельствуя о наличии в эритроцитах группы М и рецепторов антигена N. Это положение экспериментально подтвердили G. Springer и F. Desai (1974). Авторы показали, что частичное освобождение антигена М от сиаловой кислоты приводит к превращению его в антиген N. Дальнейшее же ферментативное расщепление антигена N ведет к возникновению антигена Томсена — Фриденрейха (Т) и антигена Тn. Наличием вещества N в эритроцитах группы М в «скрытом виде» можно объяснить частичную иммунологическую толерантность у реципиентов группы М при переливании им крови группы N.

Открытие антигенов М и N в эритроцитах послужило исходным пунктом для поиска их в других клетках, а также в тканях и органах человека. Исходя из аналогии с групповыми антигенами А и В, наличие которых в фиксированных клетках было не-

сомненно установлено, следовало ожидать, что и антигены М и N не представляют исключения и содержатся, кроме эритроцитов, и в других свободных и фиксированных клетках человека. Однако решение этого вопроса встретилось с большими методическими трудностями, связанными с неспецифической адсорбцией, так как гетероиммунных сывороток анти-М и анти-N, что и послужило причиной противоречивости результатов, полученных различными авторами.

Основной трудностью, с которой встретились и мы [Косяков П. Н., Трибулев Г. П., 1937], оказалось свойство как тканей, так и эритроцитов неспецифически связывать антитела анти-М и анти-N. И только благодаря разработанному нами методу блокады неспецифических рецепторов иммунными сыворотками удалось показать, что, если эритроциты человека содержат антиген М, то и клетки его органов специфически связывают агглютинины анти-М. Наоборот, ткани органов людей, эритроциты которых имели антиген N, специфически связывали агглютинины анти-N. Органы же лиц, эритроциты которых содержали оба антигена (MN), связывали агглютинины как анти-М, так и анти-N. Исследования показали, что количество антигенов М и N в различных органах человека неодинаково. Больше всего их содержится в клетках печени и почки и совсем мало — в клетках мышечной ткани и мозга. Невысокое по сравнению с эритроцитами количество антигенов М и N в тканях при наличии резко выраженной интерференции специфических явлений с неспецифическими создает большие трудности для обнаружения в них этих антигенов. Установленные нами факты подтвердили К. Boorman и В. Dodd (1943), которые, используя предложенную нами методику блокады неспецифических рецепторов иммунными сыворотками, установили, что ткани легкого, почки, селезенки, надпочечников, поджелудочной железы, мышцы сердца, слюнных желез и мозга содержат те же самые антигены М и N, которые находятся и в эритроцитах соответствующих лиц. Однако Е. Krah (1952, 1953) сообщил, что ему не удалось найти антигены М и N в клетках ни нормальных тканей (почка, мышца сердца), ни раковых опухолей человека.

Учитывая разноречивость полученных результатов, мы [Косяков П. Н., Кузнецова Н. И., 1961] провели повторные исследования с применением человеческой изоиммунной сыворотки анти-М, которая, как известно, более специфична в реакции адсорбции, чем гетероиммунная кроличья сыворотка анти-М. Оказалось, что ткани печени, почки, селезенки лиц группы М извлекали из изоиммунной сыворотки специфические антитела анти-М. Это свидетельствовало о присутствии в тканях антигена М. Наоборот, ткани лиц группы N антител из этой сыворотки не извлекали. Таким образом, применение изоиммунной сыворотки анти-М позволило получить новое доказательство в пользу дифференцировки нормальных тканей человека в отношении групповых антигенов М и N. О наличии антигенов в тканях почки человека сообщили

и K. Stalder, G. Springer и соавт. (1960), которые использовали изоиммунную человеческую сыворотку анти-М и лектины анти-N, полученные из семян *Vicia graminea*. Экстракция антигенов М и N проводилась 60% этанолом с последующим фракционированием эфиром и водой.

Открытие антигенов М и N в нормальных клетках и тканях послужило основанием для поиска их в клетках раковых опухолей человека. Первые исследования в этом направлении были проведены А. Zacho (1932). Он исследовал 2 злокачественные опухоли яичника, 8 опухолей молочных желез, одну опухоль желудка и один метастаз опухоли в яичник. Кроме того, автор исследовал одну периостальную саркому, 7 доброкачественных (фиброма матки и киста яичника) опухолей и 2 опухоли, диагноз которых установлен не был. Одновременно с опухолями исследовались и нормальные ткани: мышца и слизистая оболочка матки. Из опухолей и нормальных тканей готовили водные экстракты. Последние смешивали с гетероиммунными сыворотками анти-М и анти-N, затем такие смеси проверяли стандартными эритроцитами групп М и N на связывание антител. Автор сообщил, что в водных экстрактах из ткани раковых опухолей ему удалось обнаружить антигены М и N, соответствующие антигенам эритроцитов. Наоборот, в водных экстрактах из доброкачественных опухолей, а также и из нормальных тканей антигены М и N найдены не были.

Используя гетероиммунные кроличьи сыворотки к антигенам М и N, а также аллоиммунную сыворотку анти-М. Косяков П. Н. (1952) изучил 5 злокачественных опухолей пищевода, 3 опухоли желудка, одну опухоль печени (метастаз) и 3 злокачественные опухоли молочных желез. Клетки раковых опухолей, взятые от лиц, эритроциты которых содержали антиген М, специфически связывали агглютинины анти-М, а опухоль от лиц группы N специфически связывала агглютинины анти-N. Злокачественные опухоли от лиц, эритроциты которых имели антигены MN, специфически извлекали из соответствующих сывороток оба типа агглютининов (анти-М и анти-N), т. е. представлялись дифференцированными в том же направлении, как и эритроциты соответствующих лиц. Одновременно с этим мы отметили, что клетки раковых опухолей, как и клетки нормальных тканей, обладают способностью связывать агглютинины анти-М и анти-N менее выраженной, чем эритроциты. Это свидетельствует о значительно меньшем содержании в клетках раковых опухолей антигенов М и N. Последние мы обнаружили и в незлокачественных клетках опухолей (фиброзной мастопатии и полипа желудка). Таким образом, клетки тканей, приобретая новые для них биологические особенности, характерные для злокачественных опухолей, сохраняют способность синтезировать вещества М и N, которыми характеризуются и нормальные клетки того же индивида. Аналогичные результаты получили G. Springer и соавт. (1976). Авторы выявили, что ткани раковых и доброкачественных опухолей мо-

почных желез человека специфически адсорбировали антитела анти-М и анти-Н из человеческих сывороток крови, как и антигены эритроцитов, т. е. опухоли, как и нормальные ткани, содержали антигены М и Н. В отличие от этих антигенов антигены Т и Тn, как показали исследования, обнаруживаются только в клетках злокачественных опухолей.

Антигены Т (Томсена)

Антиген Т впервые обнаружил О. Thomsen (1928) в некоторых образцах человеческих эритроцитов, хранившихся в нестерильных условиях. Как выяснилось, причиной возникновения этого антигена явилась ферментативная активность коринебактерий, выделенных из этих образцов крови [Friedenreich V., 1928]. О. Thomsen предположил, что под действием бактериальных ферментов в эритроцитах выявляется находящийся «в скрытом состоянии» латентный рецептор Т, к которому в сыворотке крови людей имеются агглютинины анти-Т. В дальнейшем оказалось, что таким ферментом является нейраминидаза, которая имеется у многих бактерий и вирусов, например гриппа, парагриппа и др. Под действием нейраминидазы на мукопротеидные рецепторы клетки происходит отщепление N-ацетилнейраминовой кислоты, что ведет к разрушению вирусных рецепторов, а также и групповых антигенов М и N, в структуру которых эта кислота входит, и к возникновению нового для клетки антигена — Т (Томсена). Имелись факты, свидетельствующие о том, что человеческие антигены М и N весьма близки по своей специфичности и отличаются друг от друга лишь содержанием в них N-ацетилнейраминовой кислоты в углеводных структурах их антигенных детерминант. Как показали G. Springer и P. Desai (1974), частичное удаление этой кислоты из молекулы антигена М с помощью нейраминидазы или мягкого кислотного гидролиза ведет к возникновению специфичности антигена N. Дальнейшее удаление N-ацетилнейраминовой кислоты из вещества N приводит к появлению антигена Т, а обработка последнего β -D-галактозидазой, выделенной из *E. coli*, — к появлению антигена Тn. G. Springer и P. Desai (1979) удалось синтезировать *in vitro* N- и M-специфические гаптенные структуры из изолированного антигена Т при помощи соответствующих гликозилтрансфераз. Сиалилтрансферазы из человеческих сывороток М и MN синтезировали вещества, обладавшие M- и N-специфической активностью, в то время как сиалилтрансфераза из сыворотки крови человека группы N синтезировала только гаптен N. Специфичность антигена N, как показали эти исследователи, зависит от наличия терминальной α -N-ацетилнейраминовой кислоты и β -галактозы на «ветвях» одной цепи или двух прилежащих цепей молекулы. M-Структуру отличает от антигена N то, что она имеет добавочную α -N-ацетилнейраминовую кислоту, которая экранирует терминальную β -галактозу.

Таким образом, было установлено, что антигены Т (Томсена) и Тп являются веществами-предшественниками антигенов М и N. Показано [Косяков П. Н. и др., 1967], что антиген может возникать под действием нейраминидазы не только в строме эритроцитов, но и в клетках органов (легких, печени, почки, селезенки), а также в клетках злокачественных новообразований человека. Без обработки клеток и тканей нейраминидазой антиген Т в них не удавалось определить, применяя для этой цели гетероиммунную (кроличью) сыворотку анти-Т. Однако использование сыворотки анти-Т человеческого происхождения позволило G. Springer и P. Desai (1976, 1979) обнаружить антиген Т в раковых опухолях молочной железы, толстой кишки и желудка и без предварительной обработки опухолей нейраминидазой. Ни в одной из 6 исследованных доброкачественных опухолей молочной железы антиген Т найден не был. Этот факт дал основание авторам отнести антигены Т и Тп к канцероассоциированным и высказать гипотезу о том, что их возникновение является результатом неполного потребления этих веществ-предшественников для синтеза антигенов М и N в раковых клетках или результатом ускорения деградации нормальных компонентов клеток.

О способности человеческих сывороток анти-Т открывать антиген Т в клетках раковых опухолей без предварительной обработки их нейраминидазой сообщили М. С. Бердинских и соавт. (1983).

Авторы исследовали образцы злокачественных опухолей: 6 — легких, 4 — желудка, 3 — кишечника и 2 — прямой кишки. Контролем служили нормальные ткани того же органа от того же больного. Кроме этого, были исследованы и доброкачественные опухоли (фиброаденома молочной железы, фиброзно-кистозная мастопатия) от 6 больных. Для реакции адсорбции применяли сыворотки крови здоровых доноров группы АВ0, содержащие агглютинины анти-Т.

Клетки злокачественной опухоли связывали агглютинины анти-Т, что свидетельствовало о наличии в них антигена Т. В противоположность этому нормальные ткани легкого, взятые от того же больного, этой способностью не обладали. Аналогичные результаты были получены и при исследовании опухолей желудка и кишечника. Серологическая активность различных злокачественных опухолей была неодинаковой, однако все они снижали в 4—32 раза титр специфической сыворотки анти-Т после адсорбции. Клетки доброкачественных опухолей, подобно нормальным тканям без предварительной обработки их нейраминидазой, с сывороткой анти-Т не реагировали. Эти опыты подтверждают гипотезу G. Springer и соавт. об ассоциации антигена Т со злокачественными новообразованиями человека. K. Fischer и соавт. (1977) исследовали свежемороженые срезы раковых опухолей молочной железы методом прямой иммунофлюоресценции. Для этого были использованы лектины анти-Т из семян *Arahis hypogaea* и анти-Тп из семян *Dolichos biflorus*. Во всех обследованных образцах опухолей были найдены антигены Т, а в некоторых из них

и антиген Тн. Здоровые ткани, пограничные с опухолью, иммунофлюоресценции не давали. J. Anglin и соавт. (1977) нашли, что клетки злокачественных опухолей молочных желез человека в культуре спонтанно выделяют специфические М-, N-, Т- и Тн-гликопротеины, подобные этим же веществам эритроцитов. У значительного числа онкологических больных обнаруживались антитела анти-Т в низком титре. Однако после хирургического удаления опухоли титр антител повышался.

G. Springer и соавт. (1976, 1977, 1979, 1980) представили большой экспериментально-клинический материал о реакциях организма онкологических больных на антиген Т. Прежде всего они отметили, что титр антител анти-Т у больных снижен по сравнению с контролем. Из 189 сывороток крови от больных аденокарциномой молочных желез 40 (21,1%) имели низкий титр антител анти-Т по сравнению с сыворотками крови от 270 пациентов с фиброаденомой и другими заболеваниями молочных желез, а также сыворотками крови 470 лиц соответствующего возраста, но не больных раком. Было отмечено снижение титра антител анти-Т у больных раком толстой кишки и легких. Это явление авторы объясняют нейтрализацией антител анти-Т Т-антигеном, циркулирующим в крови, или уменьшением продукции антител. Через 1—14 мес после оперативного удаления опухоли у 65% больных раком молочных желез отмечалось повышение титра антител анти-Т.

Снижение титра антител к антигену Т в сыворотке крови онкологических больных наблюдали М. С. Бердинских и соавт. Средняя величина титра у таких больных составляла 1:14,8, у лиц с доброкачественными опухолями — 1:77,3, у здоровых доноров — 1:55,8. Однако следует отметить, что у онкологических больных наблюдается снижение титра антител и к другим антигенам. Х. Е. Маманова (1954) исследовала сыворотки крови 46 больных раком и выявила уменьшение титра изогемагглютининов к эритроцитам человека, а также гетерогемагглютининов к эритроцитам барана, морской свинки, собаки и кролика. Аналогичные результаты были получены и нами [Косяков П. Н., Константинова Т. П., 1959]. Из 49 сывороток крови, полученных от больных раком, в 10 образцах гемагглютинины к эритроцитам барана совсем отсутствовали и в 8 сыворотках они содержались в титре 1:2. Еще более низкий средний титр гемагглютининов был у неоперабельных больных. В сыворотке крови больных раком отмечалось уменьшение титра гемагглютининов и к эритроцитам кролика. У больных изменялись и титры нормальных изоагглютининов анти-А и анти-В, чаще встречались сыворотки крови с низким титром антител — 1:2, 1:4, 1:8 и 1:16.

Таким образом, сравнительное изучение нормальных антител у здоровых людей и больных раком показало, что под влиянием злокачественного процесса происходит достаточно выраженное снижение титра изо- и гетерогемагглютининов. Аналогичное явление было отмечено нами и в экспериментальных условиях у крыс,

привитых подкожно саркомой М-1. По мере развития опухоли у животных уменьшался титр антител к эритроцитам человека, а затем антитела полностью исчезали, после чего крысы погибали. В тех случаях, когда опухоли регрессировали, антитела снова появлялись. Причины, вызывающие понижение титров антител у больных раком, еще не ясны. G. Springer и P. Desai (1979) изучили клеточную реакцию на антиген Т у онкологических больных и здоровых лиц. У всех больных, оперированных по поводу рака молочных желез, выявлена сильная реакция замедленной гиперчувствительности на антиген Т. Ни у одного из 14 здоровых лиц такой реакции отмечено не было. Антиген Т подавлял миграцию лейкоцитов, взятых от больных раком. Из 27 образцов лейкоцитов от здоровых лиц только в одном образце была отмечена ингибция миграции лейкоцитов антигеном Т. Авторы пришли к заключению, что антиген Т и антитела анти-Т могут быть использованы в целях диагностики, прогноза и, возможно, профилактики и терапии некоторых солидных злокачественных опухолей.

Происхождение антител анти-Т у людей G. Springer и соавт. связывают с иммунизацией некоторыми бактериями, например кишечной палочкой, у которой найден антиген Т. Можно, однако, предполагать, что антиген Т возникает в результате десилизации поверхностных структур клетки под действием нейраминидазы некоторых бактерий и вирусов, что и ведет к возникновению чужеродного для организма антигена Т, а в ответ на него образуются соответствующие антитела.

Вопрос о наличии антигенов М и N в лейкоцитах и тромбоцитах здоровых лиц и больных лейкозом был предметом изучения многих авторов. В. Gurner и Н. Coombs (1958) применяли изоиммунные сыворотки анти-М и анти-Н в реакции смешанной эритроцито-лейкозной агглютинации и не могли обнаружить антигены М и N в лейкоцитах. Гетероиммунные сыворотки анти-М и анти-Н, полученные от кроликов, давали неспецифическую реакцию смешанной агглютинации, что не позволило авторам прийти к определенному заключению о дифференцировке лейкоцитов в отношении антигенов М и N. Для решения этого вопроса П. Н. Косяков и Р. М. Уринсон (1959) использовали изоиммунную сыворотку анти-М в реакции избирательной адсорбции. Лейкоциты получали из крови больных лейкозом. Всего было изучено 19 образцов лейкоцитов, из них 17 образцов с изоиммунной сывороткой анти-М и 2 образца — с гетероиммунными сыворотками. Оказалось, что лейкоциты от больных группы М или MN специфически связывали агглютинины анти-М из изоиммунной сыворотки человека. Лейкоциты, не содержащие антиген М, не извлекали в этих условиях опыта специфические антитела, что подтверждало специфичность реакции адсорбции. Аналогичные результаты были получены при изучении 2 образцов лейкоцитов при помощи гетероиммунных кроличьих сывороток анти-М. Способность лейкоцитов адсорбировать из стандартных сывороток специфические антитела анти-М и анти-Н в 3—5 раз была ниже, чем у эритроцитов

соответствующей группы крови. Возможно, это связано с тем, что на мембранах лейкоцитов антигенов М и N содержится меньше, чем на мембранах эритроцитов.

Таким образом, лейкоциты, полученные от больных лейкозом, кроме групповых антигенов А и В, содержат и специфические антигены М и N, т. е. лейкоциты больных, а также лейкоциты здоровых людей, представляются дифференцированными в отношении двух систем групповых антигенов — АВ0 и MN, как и эритроциты.

Антигены ii

Набор групповых антигенов, обнаруживаемых в клетках злокачественных новообразований, не исчерпывается упомянутыми выше групповыми антигенами. В этих клетках найдены изоантигены и системы II. Антигены этой системы имеют непосредственное отношение к патогенезу приобретенной гемолитической анемии, связанной с антителами холодового типа. А. Wiener и соавт. (1956) получили от одного такого больного антитела холодового типа, при помощи которых удалось обнаружить в эритроцитах людей весьма широко распространенный антиген, обозначенный авторами I. Из 22 000 исследованных образцов эритроцитов только 5 образцов этого антигена не содержали или имели его в ничтожно малом количестве. Отсутствие этого антигена обозначили буквой i. Однако дальнейшие исследования показали, что антиген i реально существует. От лиц, страдавших некоторыми формами ретикулеза, авторы получили сыворотки крови к весьма редко встречающемуся антигену i. У лиц, содержащих антиген i, регулярно выявляются антитела анти-I, что свидетельствует о качественных различиях между антигенами I и i. Различия и внутренние связи между этими антигенами не совсем еще ясны. Антиген I обнаруживается преимущественно на клетках взрослых людей, антиген i более характерен для клеток эмбриона. Эритроциты из пуповинной крови вступают в очень слабую реакцию с сывороткой анти-I, но дают сильную реакцию с сывороткой анти-i. Антиген I достигает активности, характерной для взрослых людей, к 18 мес после рождения, а количество антигена i к этому времени падает. Посемейные обследования [Race R., Sanger R., 1970] показали, что продукция антигена I генетически детерминирована. Было высказано предположение [Jenkins W., Marsh W., 1960], что вещество i является предшественником антигена I. Под действием гена Z вещество i превращается в антиген I. Отсутствие в редких случаях антигена I у взрослых лиц связано, как предполагают, с рецессивным геном z. Т. Feizi и E. Kabat (1971) установили, что при мягком кислотном гидролизе человеческой слюны или жидкости кисты яичника, содержащих групповые антигены А или В, в этих секретах происходит повышение содержания вещества I. На основании этого авторы предположили, что вещество I является внутренней составной частью детерминант антигенов А, В, H, Le^a и Le^b, т. е. веществом-предшественником,

из которого под контролем генов Le^a , Le^b , H, A и B осуществляется синтез этих антигенов.

В сыворотке крови взрослых людей группы i постоянно встречаются естественные изоантитела к антигену I. Титр этих антител составляет 1:16—1:32 при постановке реакции при 4°C. Для выявления антител эритроциты необходимо обрабатывать физиологическим раствором или бромелином. Поскольку антиген I характерен для эритроцитов взрослых лиц, а антиген i — для клеток эмбриона, представляло интерес исследовать клетки опухолей на наличие в них антигена i, что послужило бы показателем перехода опухолевой клетки на эмбриональный путь развития. Была отмечена связь между антигенами Ii и раковоэмбриональным антигеном (РЭА). РЭА обладают активностью антигенов Ii. Однако детерминанты РЭА и антигенов Ii локализуются на разных молекулах. Антигены Ii обнаружены K. Shumak и R. Rachkewich (1975) как на нормальных Т- и В-лимфоцитах, так и на лимфоцитах больных хроническим лимфолейкозом. Нормальные Т- и В-клетки характеризовались одинаково высоким содержанием i-антигенных детерминант. Однако у больных наблюдались снижение количества антигена i и повышение содержания антигена I. Авторы объясняют это увеличением числа В-клеток, которые содержат больше антигена I, чем лимфоциты Т. Является ли этот феномен специфическим для лимфоцитов больных лейкозом, еще не изучено.

С помощью ^{125}I -антител J. Moog и G. Logne (1978) так же, как и предыдущие авторы, нашли антигены I и i на поверхности нормальных и лейкозных лимфоцитов, однако количественных различий в содержании их в норме и при лейкозе они не отметили. Исходя из этого, авторы пришли к выводу, что способность связывать антитела анти-I и анти-i не может быть использована для отличий лейкоцитов больных лейкозом от лейкоцитов здоровых доноров. Авторы также подтверждают, что В-лимфоциты периферической крови содержат большее количество антигенных детерминант I и i по сравнению с Т-клетками от больных и здоровых людей. По связыванию антител анти-I и анти-i гранулоциты больных лейкозом не отличались от гранулоцитов доноров, т. е. не удалось отметить сдвига в сторону преимущественного биосинтеза антигена i, характерного для эмбриональных клеток.

В клетках опухолей наблюдается иногда избыток антигенов H, Ii, T и Tn, что свидетельствует, по-видимому, о неиспользовании этих веществ-предшественников в дальнейшем биосинтезе групповых антигенов. Отмечено накопление антигенов I и i в гликопротеиновых экстрактах злокачественной опухоли толстой кишки.

Антигены системы Р

Вопрос о наличии в клетках опухолей человека групповых антигенов системы Р остается еще недостаточно изученным. В эритроцитах этот антиген был впервые открыт К. Landsteiner

и Ph. Levine в 1927 г. при помощи сыворотки крови кроликов, иммунизированных кровью человека. В дальнейшем сыворотки к антигену Р были получены и от людей. Как изо-, так и гетеро-антитела лучше реагируют с антигеном Р при пониженной (4—16 °C) температуре.

К настоящему времени известны три основных варианта антигенов Р: P_1 , P_2 , P^k . Лица, не имеющие этих антигенов, отнесены к генотипу rr . Частота распространения антигенов Р неодинаковая. По данным М. А. Умновой (1959), обследовавшей 1444 взрослых жителей Москвы, антиген P_1 встречается у 73,5%, а антиген P_2 — у 26,5% людей. Антиген P^k встречается очень редко, а фенотип r — в 1—2 случаях на 10^6 . Постоянство изоантигенов системы Р и передача по наследству кодирующих их генов послужили основанием для использования этой системы в судебно-медицинской практике и антропологии. Химическая природа этих антигенов изучена слабо. Вещество со сходной специфичностью, полученное из выделенной из эхинококкового пузыря жидкости овцы, оказалось связанным с гликопротеинами. По-видимому, d-галактоза является наиболее важной составной частью детерминантной группы антигена P_1 .

Изоантигены и изоантитела системы Р имеют определенное клиническое значение. Описаны случаи ранних и поздних выкидышей, причиной которых были антитела анти- P_1 , анти- P_2 и анти- P^k . Отмечено несколько случаев посттрансфузионных осложнений. Большой интерес представляет установленная Ph. Levine и соавт. (1963) связь между системой Р и холодовой пароксизмальной гемоглобинурией Доната — Ландштейнера. Оказалось, что сыворотки крови таких больных вызывали гемолиз только эритроцитов P_1 и P_2 , как своих, так и чужих, но не эритроцитов P^k или r . Все больные пароксизмальной гемоглобинуриейной лихорадкой обладали фенотипом P_1 или P_2 . Имеются, однако, сообщения о том, что не всегда эта лихорадка связана с антителами к антигенам P_1 и P_2 . Антигены P_1 и P_2 , кроме эритроцитов, найдены в лимфоцитах и в фибробластах кожи. М. Fellows и соавт. (1974) обнаружили эти антигены на фибробластах кожи, периферических лимфоцитах и лимфоидных клетках культуры, полученной от индивида группы P_1 или P_2 . Специфический антиген P^k определялся на всех фибробластах кожи, хотя он и не открывался на эритроцитах соответствующих лиц. У индивидов генотипа rr антигены P_1 , P_2 и P^k не находили.

Интересный случай описал Р. Levine (1976). В раковой опухоли желудка больной генотипа rr он нашел антигены P_1 , P_2 и P^k . После гастрэктомии была получена опухоль, ее лиофилизировали и применили в виде порошка для адсорбции сыворотки. Опухоль адсорбировала только ее собственные антитела анти- P_1 , анти- P_2 и анти- P^k . На основании этого автор сделал вывод о появлении в опухоли желудка больной генотипа rr антигенов P_1 , P_2 и P^k . Этот феномен автор трактует как мутацию, наступающую в клетках опухоли в результате злокачественного процесса.

Изоантигены системы Rh

К. Landsteiner и А. Wiener (1940) сообщили, что при помощи сывороток крови кроликов и морских свинок, иммунизированных эритроцитами *Macacus rhesus*, можно дифференцировать эритроциты людей на две группы. Эритроциты 85% обследованных лиц агглютинировались этими сыворотками, т. е. содержали антиген, сходный с антигеном эритроцитов *Macacus rhesus*, у 15% обследованных эритроциты этого антигена не содержали. Найденный антиген был назван авторами агглютинином резус, а соответствующий ему агглютинин — анти-резус. А. Wiener и соавт. (1940) обнаружили антитела такой же специфичности и в сыворотках крови 3 лиц, у которых наблюдались очень тяжелые со смертельным для двух из них исходом, осложнения после повторного переливания совместимой по системе АВ0 крови. Эритроциты больных не агглютинировались сывороткой анти-Rh, т. е. были резусотрицательными (Rh—). В дальнейшем было установлено, что существует не один антиген Rh, а целая серия специфически обособленных антигенов, составляющих систему Rh. Это было доказано с помощью изоиммунных человеческих сывороток, при этом удалось выявить более тонкие различия антигенов между антигенами Rh, чем при использовании гетероиммунных сывороток, которые открывали только антиген D, но не другие антигены системы Rh.

Установлено, что эритроциты человека не являются единственными среди других клеток организма носителями антигена Rh. Этот антиген обнаружен в клетках печени, почки, селезенки, надпочечников, слюнных желез, мышцы сердца и поджелудочной железы [Boogman K., Dodd B., 1943], а также желудка и пищевода [Косяков П. Н., 1952]. В этом отношении не были исключением и клетки доброкачественных и злокачественных опухолей человека. Нами [Косяков П. Н., 1952] изучено 9 злокачественных опухолей желудка, 7 — молочных желез, 2 — пищевода и 2 — печени (метастазы), а также 4 доброкачественные опухоли (полип желудка, 2 — фиброзной мастопатии и папиллома носа). Использовали метод специфической адсорбции антител анти-Rh из гетероиммунных сывороток, полученных от морских свинок, а также из изоиммунной человеческой сыворотки анти-Rh, которая обладала большей специфичностью, чем сыворотки крови животных. Оказалось, что клетки раковых опухолей, взятые от Rh+ лиц, специфически связывали агглютинины анти-Rh. Наоборот, клетки раковых опухолей Rh—больных таковой способностью не обладали. Эти факты свидетельствуют о том, что не только эритроциты и другие нормальные клетки, но и клетки злокачественных опухолей являются носителями антигена Rh. Однако у раковых клеток способность связывать антитела Rh выражена слабее, чем у эритроцитов соответствующей группы, что проявляется в неполном связывании антител опухолью. По сравнению с нормальными фиксированными клетками раковые клетки не отличались

количественным содержанием в них антигенов Rh. Клетки доброкачественных опухолей (папиллома носа, полип желудка, фиброзная мастопатия), взятые от Rh+ лиц, также представлялись дифференцированными в Rh-антигенном отношении.

В настоящее время нет еще фактов, которые бы определенно свидетельствовали о наличии или отсутствии антигенов Rh в лейкоцитах и тромбоцитах. Имеющиеся по этому вопросу данные противоречивы. J. Tullis и соавт. (1953) не нашли антигена Rh в лейкоцитах. Для доказательства наличия антигена D в лейкоцитах B. Gurner и R. Coombs (1958) применяли методику смешанной гемагглютинации при помощи сыворотки анти-Rh. В исследованных ими 6 образцах лейкоцитов от Rh+ лиц антиген D не был обнаружен. В отличие от них B. Jankovic и T. Lincoln (1959) сообщили, что, используя технику иммунофлюоресценции, им удалось выявить антиген D в лейкоцитах Rh+ лиц. Можно предположить, что незначительное по сравнению с эритроцитами содержание антигена D в лейкоцитах является одной из причин этих расхождений.

Таким образом, изоантигены систем MN, Ii, P и Rh обнаруживаются как в нормальных клетках, так и в раковых клетках. Специфичность этих антигенов соответствует генотипу носителя опухоли. Исключение составил случай, описанный P. Levine, который у больного генотипа rr в опухоли обнаружил антигены P_1 , P_2 и P^k , а в сыворотке крови — соответствующие антитела. Имеется сообщение о возможности изменений в некоторых аденокарциномах гаптена Le — появление в них Le^x -подобного антигена. Отмеченные единичные исключения — появление в опухолях групповых антигенов, не соответствующих генотипу эритроцитов и других клеток больного, — нуждаются в дальнейшем экспериментальном подтверждении.

Глава 4

ОРГАНСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИГЕНЫ

Уже давно предпринимались попытки показать, что различные по своей структуре, выполняемой функции и биохимическому составу клетки, ткани и органы отличаются и своими антигенными свойствами. Об этом свидетельствовали опыты по получению специфических антител к эритроцитам, лейкоцитам, сперматозоидам, эпителиальным клеткам респираторного тракта. Были предприняты попытки получения иммунных сывороток к различным органам: почке, селезенке и др.

Высказанная И. И. Мечниковым (1900) идея о возможности регулирования функции органов при помощи цитотоксических сывороток стимулировала проведение большого количества работ и привела к получению антител (цитотоксинов) ко многим клеткам, органам и тканям. Однако широкое изучение свойств этих сывороток методом функциональных проб привело и к некоторо-

му разочарованию в эффективности их действия. Оказалось, что цитотоксические сыворотки, полученные при иммунизации животных различными органами, обладают значительным неспецифическим действием. Это обстоятельство дало основание некоторым исследователям поставить под сомнение вопрос о существовании специфических для органов антигенов и антител. Противоречивыми были и результаты серологического изучения органоспецифических антигенов. Применявшиеся для исследования органоспецифических антигенов методы давали неодинаковые результаты при применении их различными исследователями, что объясняется как несовершенством этих методик, так и сложностью строения антигенов, входящих в структуру различных органов и тканей.

Действительно, экспериментальное обоснование факта органной (тканевой) специфичности встречало большие методические трудности, связанные главным образом с наличием в них многих антигенов, общих для всех клеток и тканей. При иммунизации животных таким полиантигенным материалом из органов получают поливалентные сыворотки, содержащие большое количество самых разнообразных антител, способных реагировать с антигенными веществами из различных органов. Достаточно же эффективных способов, которые бы позволяли удалять побочные антитела из гипериммунных сывороток при сохранении в них органоспецифических антител, несмотря на большое количество попыток в этом направлении, разработано не было. В силу этого исследователи работали с недостаточно специфическими сыворотками, что, разумеется, не могло не проявиться в их действии как при введении в организм животного, так и при постановке иммунологических реакций. Это обстоятельство давало основание критически относиться к работам, утверждавшим антигенную специфичность органов и тканей. Однако в дальнейшем благодаря совершенствованию иммунологического анализа накапливались факты, свидетельствовавшие о существовании антигенов, специфичных для каждого органа, ткани и клеток. Применявшиеся ранее способы удаления из сывороток крови побочных антител при помощи их адсорбции нативными гетерологичными тканями не всегда приводили к положительным результатам. Титр сывороток, обработанных взвесью гетерологичных клеток, как правило, значительно снижался. Сыворотки, кроме того, приобретали антикомплементарные свойства, в результате чего они не могли использоваться в реакции связывания комплемента, которая наиболее широко применялась для изучения органоспецифических антигенов.

Преодолеть эту методическую трудность удалось Н. И. Кузнецовой (1955), предложившей использовать для «источающей» адсорбции иммунных органоспецифических сывороток фиксированные формалином ткани. Полученные таким путем сыворотки крови почти не обладали антикомплементарными свойствами, чего не удавалось сделать при применении для адсорбции натив-

ных тканей. Метод избирательной адсорбции позволил Н. И. Кузнецовой (1955) показать, что ткани печени, почки и селезенки содержат специфические для каждого органа антигены. Специфический для почки антиген обнаружили R. Nairn и соавт. (1962, 1966) с помощью метода иммунофлюоресценции. Иммунные сыворотки к микросомам почки человека после «истощающей» адсорбции их гомогенатом печени и легкого вызывали специфическое свечение срезов почки и не давали реакции со срезами из печени, мышцы сердца, яичка и яичников. О наличии органоспецифического антигена в почке сообщили H. Intorp и F. Milgrom (1968), которые использовали реакции иммунодиффузии в агаре и пассивной гемагглютинации. Гетероиммунные сыворотки адсорбировались экстрактами из печени и селезенки. С помощью реакции преципитации в агаре Р. Ф. Аверкина и О. Е. Вязов (1969) выявили в водно-солевых экстрактах из почки 8—9 антигенов, из которых 2—3 антигена оказались специфичными для этого органа, а остальные характеризовались общими с другими органами антигенными свойствами.

Большое число работ было посвящено изучению антигенов, специфичных для щитовидной железы. Е. Witebsky и соавт. (1955) выявили, что водно-солевые экстракты, полученные из ткани щитовидной железы, специфически реагируют с сывороткой крови, предварительно адсорбированной антигенами из других органов. Активную часть специфического для щитовидной железы антигена составляет тироглобулин. В сыворотке крови больных острым тиреоидитом были найдены аутоантитела, которые специфически реагировали в реакции пассивной гемагглютинации с экстрактами из щитовидной железы. R. Goudie и H. McKallum (1962) также успешно использовали в цитотоксическом тесте и реакции иммунофлюоресценции аутоантитела, полученные от пациента с болезнью Хашимото, для обнаружения в щитовидной железе органоспецифического антигена. Иммунизируя кроликов водно-солевыми экстрактами из щитовидной железы, Г. И. Авдеев (1964, 1965) получил сыворотки, которые после «истощающей» адсорбции их экстрактами из печени и селезенки давали полосу преципитации только с экстрактом из щитовидной железы и не реагировали с антигенами из селезенки, почки, печени, легкого и слизистой оболочки желудка. По данным Г. И. Авдеева, тироглобулин состоит из трех антигенных компонентов. С. И. Крупник и М. И. Потапов (1967) в водно-солевых растворах из семян некоторых бобовых растений (горох, вика, чина) обнаружили фитопреципитины, избирательно реагирующие в реакции Оухтерлони с тироглобулином щитовидной железы.

Представлены убедительные доказательства в пользу того, что и ткани мозга имеют свою антигенную специфику, отличающую их от других тканей. Более того, показано [Кузнецова Н. И., 1958], что серое вещество мозга содержит антигены, отсутствующие в белом веществе, и наоборот. Установить этот факт удалось с помощью как реакции связывания комплемента (РСК), так и

реакции пассивной гемагглютинации по Бойдену. Для этого использовали гетероиммунные кроличьи сыворотки, предварительно освобожденные от общих с антигенами других органов антител адсорбцией соответствующими антигенами. E. Caspari и E. Field (1963) также применили гетероиммунные кроличьи сыворотки в реакции Оухтерлони и нашли в ткани мозга антиген, который отсутствовал в водно-солевых экстрактах из печени, почки и мышцы сердца. О наличии в ткани мозга специфических антигенов сообщали и другие авторы.

Ткани желудочно-кишечного тракта также обладают органоспецифическими антигенами. Иммунизируя кроликов водно-солевыми экстрактами из слизистой оболочки желудка, Г. И. Авдеев и И. С. Башкаев (1963) получили сыворотки крови, которые после истощения их антигенами из селезенки, почки и сывороткой давали 4 четко выраженные линии преципитации с водно-солевым экстрактом из слизистой оболочки желудка. Водно-солевые экстракты из щитовидной железы, легких, селезенки, печени и почки, взятые от того же трупа, давали отрицательную реакцию. Антигены, специфичные для слизистых оболочек желудка, были обнаружены в 26 из 29 исследованных образцов. Использование кроличьих иммунных сывороток в реакции иммуноэлектрофореза позволило Р. Burtin (1963) обнаружить в слизистой оболочке желудка 9 органоспецифических белков, отличавшихся от антигенов других органов. В. Я. Рогальский (1964, 1965) получил гетероиммунные кроличьи сыворотки к водно-солевому экстракту слизистой оболочки толстого кишечника. Сыворотки крови после адсорбции их экстрактами из почки, селезенки, легких, печени давали линию преципитации только с экстрактами из кишечника, но не из других органов. В слизистой оболочке кишечника и желудка R. Nairn и соавт. (1962, 1966) обнаружили общий для этих органов органоспецифический антиген. Однако этот антиген отсутствовал в других органах человека.

Органоспецифический антиген Э. Р. Карамова (1967) обнаружила в тканях молочной железы человека. Гетероиммунная адсорбированная сыворотка давала полосу преципитации в агаре только с водно-солевыми экстрактами из этих тканей и не реагировала с экстрактами из тканей печени, почки, селезенки, легких, желудка, яичников, матки, лимфатических узлов и спинного мозга. Не представила исключения и кожа, в которой были найдены [Aoki T., Fujinami T., 1967] как антигены, общие с антигенами печени, почки, легких, слизистой оболочки желудка, селезенки, сердца и мозга, так и антигены, отличающиеся от них. Водно-солевые экстракты из кожи давали три линии преципитации с адсорбированной гипериммунной сывороткой. Г. К. Трофимов и В. А. Семенова (1970) сообщили о выявлении в нуклеотидной фракции, полученной из ткани легкого, четырех специфических для этого органа антигенов. Последние отсутствовали в аналогичных фракциях, выделенных из печени, почки и селезенки. Имеются сообщения о наличии органоспецифических

антигенов в тканях надпочечников, поджелудочной и предстательной желез, яичек, в сперматозоидах человека. П. Н. Косяков и соавт. (1960) показали, что лейкоциты, полученные как от здоровых лиц, так и от больных лейкозом, содержат сходные специфические для этих клеток антигены.

Таким образом, в настоящее время не возникает сомнений в том, что различные клетки и ткани в соответствии с их морфологическими, функциональными и биохимическими особенностями характеризуются специфическими, присущими каждому виду клеток (тканей) антигенными свойствами. Доказано, что специфичу многих клеток тканей и органов может определять не один, а несколько органоспецифических (тканевоспецифических) антигенов. Так, в тироглобулине найдены 3—4 антигена, в слизистой оболочке желудка — 4—9 антигенов, в эпидермисе кожи и слизистой оболочке респираторного тракта — 3—4 антигена. Органоспецифические антигенные свойства мозга определяются комплексом антигенных веществ, среди которых важную роль играют протеины [Кузнецова Н. И., 1970].

Органоспецифические антигены локализованы на клеточных мембранах и в цитоплазме клеток, о чем свидетельствует свечение перинуклеарной зоны, цитоплазматических гранул или всей цитоплазмы, и отсутствуют в ядрах. Органоспецифические антигены, как полагают, находятся в тесной зависимости от функциональных особенностей органов и тканей, чем можно объяснить наличие сходных антигенов в одноименных органах у различных видов животных. Перекрестно реагирующие антигены обнаружены в почках человека, обезьяны, собаки, свиньи, кролика, морской свинки, крысы и мыши. Наряду со сходством антигенов в одноименных органах различных видов животных отмечены и различия между ними. Например, иммунная сыворотка крови к человеческой почке, хотя и реагировала в реакции иммунофлюоресценции с почкой хомяка, но очень слабо. Антисыворотка к щитовидной железе человека реагировала с водно-солевыми экстрактами из щитовидных желез кролика, свиньи и собаки, но эта реакция была слабее, чем реакция с гомологичным экстрактом. Согласно данным N. Rose и E. Witebsky (1955), существуют два типа органоспецифических антигенов. Один из них несет видовую специфичность, а другой — межвидовую. З. И. Ровнова (1957) показала, что антигены, определяющие специфичность печени и селезенки человека, качественно отличаются от антигенов одноименных органов морской свинки, собаки, свиньи и быка. Н. И. Кузнецова (1966) также выявила видовые различия между органоспецифическими антигенами мозга человека, кролика, крысы, мыши и быка. Т. Aoki и Т. Fujinami (1967) обнаружили в коже человека три тканевоспецифических антигена. Однако последние отсутствовали в коже собаки, кошки, кролика, морской свинки, крысы и мыши.

Вопрос о времени формирования органной специфичности в процессе эмбрионального развития человека изучен еще недо-

статочно. Согласно сообщению А. И. Исхакова (1964), антигены, специфичные для почки и мышцы сердца человека, можно определить начиная с 6—9-й недели внутриутробного развития. По мере развития эмбриона отмечается и увеличение количества этих антигенов в органах. Таким образом, появление органоспецифических антигенов отражает степень дифференцировки клеток, тканей и органов. Полагают, что эти антигены имеют непосредственное отношение к регуляции клеточной пролиферации. В этой связи большой интерес представляют исследования злокачественных новообразований, поскольку последние, как известно, характеризуются более или менее выраженной дедифференцировкой клеток, приобретением ими некоторого сходства с эмбриональными клетками. Сохраняют ли клетки злокачественных опухолей способность синтезировать органоспецифические антигены, как и нормальные клетки, или в соответствии с существенными изменениями их биологических, морфофизиологических и биохимических свойств они утрачивают эту способность? Ответ на этот вопрос можно получить только экспериментальным путем.

Большой вклад в разработку данной проблемы внесли исследования Е. Weiler (1952, 1954, 1959), С. Fischer и Е. Weiler (1962), отметивших значительное снижение содержания органоспецифических антигенов в опухолях, индуцированных канцерогенами (изучали гепатомы крыс и карциномы почек хомяка). Утрата опухолевыми клетками органоспецифических антигенов происходила постепенно и наблюдалась уже в предопухолевом периоде. Такой феномен наблюдается не только в опухолях, но и в культурах перевиваемых клеток. О полной утрате клетками первичного рака печени способности синтезировать органоспецифический печеночный антиген сообщили П. Н. Косяков и Н. И. Кузнецова (1957). Органоспецифические сыворотки, полученные авторами, по отношению к антигенам печени и селезенки, реагировали только с водно-солевыми экстрактами из соответствующих нормальных органов и не реагировали с водно-солевыми экстрактами из тканей раковых опухолей. Органоспецифические антигены, характерные для нормальной печени, не были обнаружены в экстрактах из тканей ни первичного рака печени, ни метастазов в печень рака желудка. Это свидетельствует о том, что клетки первичного рака печени утратили способность продуцировать печеночные органоспецифические антигены. Применяя реакцию иммунофлюоресценции, R. Hiramoto и D. Pressman (1957) не нашли антигенных различий между нормальным эпителием и эпителием опухолей эпидермального происхождения (мукоэпидермоидная карцинома, опухоль околоушной железы, меланома). Однако С. Carruthers и А. Baumler (1966), используя ту же методику, отметили утрату клетками меланомы антигенов, специфичных для нормальной кожи. В клетках плоскоклеточного рака языка, гортани, бронха, полости рта антиген, свойственный нормальной коже, выявлялся.

О частичной утрате органоспецифических антигенов в злокачественных опухолях кожи сообщили R. Nairn и соавт. (1960), пользовавшиеся тремя иммунологическими методами: РСК, иммунофлюоресценции и иммунопреципитации в геле. Гетероиммунная сыворотка к эпидермису кожи с помощью избирательной адсорбции была освобождена от антител к общим антигенам. Доброкачественные опухоли кожи, как и эпителий здоровой кожи, в отличие от раковой опухоли характеризовались нормальным содержанием органоспецифического антигена. Об отсутствии в злокачественных опухолях желудка антигенов, свойственных слизистой оболочке нормального желудка, сообщили Г. И. Авдеев и И. С. Башкаев (1961, 1963). В реакции микропреципитации в геле авторы использовали высокоспецифичные противожелудочные сыворотки. Аналогичные результаты получили R. Nairn и соавт. (1962), которые для обнаружения органоспецифического антигена в раковых опухолях желудка применили реакцию иммунофлюоресценции и иммунопреципитации в геле. Этот антиген не был найден в 45 из 54 исследованных раковых опухолей и 10 метастазах их в лимфатические узлы. В 9 карциномах и 4 предраковых полипах антиген обнаруживался лишь в небольшом числе клеток. Доброкачественные опухоли не отличались от нормальной слизистой оболочки по содержанию и распределению органоспецифического антигена. Разница в свечении нормальных и злокачественных клеток может иметь, по мнению авторов, диагностическое значение. Р. Burtin и соавт. (1963), S. Aronson и соавт. (1965) также отметили утрату или значительное снижение уровня органоспецифического антигена в злокачественных опухолях желудка.

Имеется много работ, свидетельствующих об уменьшении содержания или даже полной утрате органоспецифического антигена (тироглобулина) раковой опухоли щитовидной железы. Этот факт доказан с помощью различных методов исследования. Аутоиммунная сыворотка, полученная от больного тиреоидитом Хашимото, как показали R. Gaudie и H. McCallum (1962), тормозит рост нормальных клеток и не подавляет рост клеток злокачественных опухолей щитовидной железы. По мнению авторов, это свидетельствует об утрате клетками опухолей соответствующего антигена, что было подтверждено ими с помощью реакции иммунофлюоресценции. Снижение концентрации органоспецифического антигена в опухолях щитовидной железы отметила С. И. Крупник (1968), которая использовала фитопресипитин, специфичный к тироглобулину. Содержание тироглобулина в процессе малигнизации уменьшалось вплоть до полного его исчезновения. В нормальной щитовидной железе титр тироглобулина составлял 1:64—1:128, в доброкачественных опухолях — 0—1:32, а в злокачественной опухоли он отсутствовал в 5 из 6 случаев. Согласно данным Г. И. Авдеева (1965), злокачественное перерождение щитовидной железы не ведет к полной остановке продукции тироглобулина. Последний выявлялся с помо-

щью реакции Оухтерлони не только в доброкачественных, но и в раковых опухолях щитовидной железы и ее метастазах (в 6 из 7 случаев). Количество тироглобулина в различных опухолях щитовидной железы значительно колебалось, однако по сравнению с нормальными тканями в опухолях наблюдалось заметное его снижение. Об уменьшении уровня тироглобулина в раковой опухоли щитовидной железы сообщили Б. С. Синяков и соавт. (1976), которые использовали аутоиммунную сыворотку, полученную от больного тиреоидитом Хашимото.

Имеются сообщения [Hillemans H., 1962; Kagabu T., 1967] об утрате раковыми опухолями шейки матки антигенов, свойственных нормальному эпителию. Г. И. Авдеев (1965) наблюдал исчезновение или значительное снижение количества органоспецифического антигена в тканях злокачественной опухоли легкого по сравнению с нормальными тканями (использовалась гетероиммунная противолегочная сыворотка в реакции Оухтерлони). R. Nairn и соавт. (1966) обнаружили утрату одного из нормальных антигенов тканями раковой опухоли почки и почечной лоханки. Отмечено [Парнес В. А., 1960; Seligman M. et al., 1955] упрощение антигенного состава лейкоцитов и селезенки при лейкозах.

Однако не все исследователи, изучавшие проблему утраты раковыми опухолями антигенов, присущих нормальным клеткам и тканям, из которых, по-видимому, опухоли происходят, получали совпадающие результаты. Имеются сообщения, авторам которых не удалось отметить разницы в содержании органоспецифических антигенов в злокачественных опухолях и нормальных тканях, где опухоль возникла. Так, М. Lord (1962), применяя реакцию иммунопреципитации и иммунофлюоресценции с сыворотками к слизистой оболочке толстого кишечника, не обнаружил различий по этому признаку между раковой и нормальной тканью толстого кишечника. Аналогичные результаты получили В. Я. Рогальский (1964), применивший реакцию Оухтерлони, А. Л. Людоговская и В. Л. Ривкин (1967). С помощью реакции иммунопреципитации не выявлены и различия в содержании органоспецифических антигенов злокачественной опухоли и нормальной ткани предстательной железы [Flocks R. et al., 1960]. Согласно сообщениям Э. Р. Карамовой (1967), большинство исследованных ею раковых опухолей молочных желез человека (31 из 41) содержало органоспецифический антиген, характерный и для нормальной молочной железы. Однако в 10 случаях в опухолях и их метастазах в печень и лимфатические узлы органоспецифический антиген найден не был. Неоднозначные результаты получены и в отношении доброкачественных опухолей. R. Nairn и соавт. (1960, 1962) выявили, что доброкачественные опухоли кожи и желудочно-кишечного тракта по содержанию органоспецифических антигенов не отличаются от соответствующих нормальных тканей.

Противоречивые результаты могут обуславливаться, по-види-

тому, многими причинами. Не у всех опухолей процесс утраты органоспецифических антигенов представляется одинаково хорошо выраженным. Он более четко проявляется при злокачественном перерождении щитовидной железы, печени, менее четко — при раке молочных желез и совсем не отмечен при раке толстого кишечника. Очевидно, это зависит от степени замещения нормальных клеток злокачественными клетками, а также от примененных методик.

Таким образом, к настоящему времени едва ли есть основания сомневаться в том, что клетки некоторых злокачественных опухолей могут полностью или частично утрачивать способность синтезировать органоспецифические вещества, свойственные нормальным клеткам и тканям. Аналогичный процесс, как было отмечено выше, имеет место и в отношении группоспецифических антигенов системы АВ0 (H) и антигенов гистосовместимости системы HLA. Утратой клетками злокачественных опухолей антигенов, свойственных нормальным клеткам, можно объяснить большую устойчивость их к иммунным реакциям организма при аллогенной трансплантации. Снижение биосинтеза опухолевыми клетками одних антигенов может сопровождаться значительным повышением продукции других антигенов (например, РЭА), соответствующим дедифференцировке клеток, а также появлением в них новых антигенов, не свойственных нормальным клеткам.

Глава 5

АНТИГЕН ФОРССМАНА

О существовании гетерогенных (синоним общих, перекрестно реагирующих) антигенов у различных видов животных и растений было известно давно. Так, J. Forssman (1911) нашел антиген с одинаковой иммунологической специфичностью в почке морской свинки и эритроцитах барана. Этот антиген получил название антигена Форссмана. В дальнейшем он был обнаружен у многих, однако далеко не у всех видов животных. В зависимости от наличия или отсутствия этого антигена все животные были разделены на две группы — форссман-негативных и форссман-позитивных. Все форссман-позитивные животные отнесены к типу морской свинки — *Meerschweincentypus*, животные, не содержащие этого антигена, — к типу кролика — *Kaninchentypus*. К группе форссман-позитивных относят морскую свинку, барана, лошадь, собаку, кошку, мышь, форссман-негативных — человека, кролика, обезьяну, крысу, утку.

Кроме антигена Форссмана, который является классическим представителем гетерогенных антигенов, были описаны и многие другие перекрестно реагирующие антигены, общие для различных видов животных и растений. Например, антиген D (Rh), находящийся в эритроцитах определенных групп людей и служащий

для них изоантигенным признаком, встречается у всех макаков резусов, для которых он является видоспецифическим антигеном, может быть назван и гетерогенным (общим) для человека и обезьян. Не имеет отношения к антигену Форссмана и гетерогенный антиген, обнаруживаемый у человека группы крови В и АВ, а также у кроликов и *E. coli* (штамм 086). Описаны также и многие другие гетерогенные антигены у различных видов животных и растений. Помимо гетерогенных антигенов, весьма далеких от антигена Форссмана, найдены и антигены, столь близкие к нему по серологической специфичности, что нередко служило причиной их отождествления. Так, из эритроцитов и тканей людей группы крови А и АВ получали гликолипиды, которые реагировали с сывороткой крови кроликов, иммунизированных эритроцитами барана. Такого рода антигены выявлены и в эритроцитах людей группы В и О.

Вопрос о тождестве антигена Форссмана с антигенами, обнаруживаемыми в эритроцитах и других тканях человека, нельзя считать окончательно решенным. Одни исследователи считают, что в эритроцитах человека, особенно индивидов группы крови А и АВ, содержится антиген Форссмана, другие, наоборот, отрицают это, полагая, что в эритроцитах людей всех групп крови находятся гетерогенные антигены, сходные с антигеном Форссмана, но не идентичные ему. Подтверждением этого положения служат иммунологическая реакция организма человека на антиген Форссмана, способность образовывать антитела к этому антигену. При наличии в организме человека антигена Форссмана антитела к нему не вырабатывались бы, т. е. имела бы место иммунологическая толерантность, как у морской свинки, у которой антитела к этому антигену получить не удается. Однако в отличие от морской свинки, организм которой неспособен вырабатывать антитела к антигену Форссмана, у людей эта функция хорошо выражена. Как показали В. С. Коростелева и соавт. (1980), в сыворотке крови 80% людей находятся антитела к гликолипидному антигену Форссмана, полученному из почки морской свинки (табл. 2).

Таблица 2. Антитела к антигену Форссмана в сыворотке крови людей

Сыворотки крови, число обследованных лиц	Количество сывороток						Средний титр антител
	не содержащих антител	с титром антител в РСК					
		1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	
Здоровые доноры, 60	8	15	19	15	2	1	1:24,2
Больные раком, 26	8	5	3	6	4	0	1:25,8
Больные доброкачественными опухолями, 56	13	12	11	14	4	2	1:27,5

Примечание. За титр сыворотки в РСК принимали разведение, дающее положительную реакцию ++.

Антитела обнаруживались как в сыворотках здоровых доноров, так и у больных раком и лиц с доброкачественными опухолями и примерно в одинаковых титрах.

Специфичность комплементсвязывающих антител этими авторами была установлена в опытах по адсорбции: гетерофильные антитела из человеческих сывороток крови извлекались только эритроцитами барана и не адсорбировались эритроцитами человека, кролика или курицы. Следует отметить, что эритроциты как группы 0, так и группы А не обладали способностью извлекать антитела к антигену Форссмана из человеческих сывороток крови. Иммунизация кроликов антигенами из селезенки человека, как показали исследователи, не приводила к повышению титра гемолитинов в иммунных сыворотках к эритроцитам барана, что также свидетельствует об отсутствии антигена Форссмана в клетках человека. Антитела к этому антигену у человека образуются, по-видимому, в результате поступления в организм данного антигена с веществами животного или растительного происхождения, а также микробов, содержащих этот антиген. Сыворотки к антигену Форссмана, получаемые от кроликов, не идентичны антителам к этому антигену человеческих сывороток. Последние имеют более узкую специфичность, в то время как кроличьи сыворотки реагируют с большим набором антигенных детерминант, локализованных в молекуле антигена Форссмана. Таким образом, проведенные эксперименты подтверждают обоснованность отнесения человека к форссман-негативным видам, несмотря на наличие в его эритроцитах антигенных детерминант, весьма близких по своей серологической специфичности антигену Форссмана, но обнаруживаемых гетероиммунной кроличьей сывороткой.

В организме форссман-негативных животных, а также человека не синтезируется полная углеводная структура, определяющая специфичность антигена Форссмана, но могут продуцироваться его предшественники. Экспрессия антигена Форссмана зависит от функции гена, кодирующего синтез α -N-ацетилгалактозаминилтрансферазы, необходимой для превращения веществ-предшественников в гликофинголипид Форссмана.

Однако теоретически нельзя было исключить возможности появления антигена Форссмана в клетках в результате их злокачественного перерождения. J. Kawanami (1972) сообщил, что он обнаружил этот антиген у человека в одной метастазе аденокарциномы в печени. Реактивность выделенного из опухоли гликолипида испытывалась с сывороткой крови кролика, иммунизированного эритроцитами барана в реакции двойной иммунодиффузии в агаре, в котором гликолипид диспергировался в солевом растворе. Гликолипид, полученный из опухоли человека, был серологически идентичен гликолипидам, выделенным из органов лошади. Серологическая активность гликолипида из нормальных органов человека, к сожалению, не изучалась.

S. Nakomori и соавт. (1977) наблюдали, что гликолипиды, выделенные из слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта

5 лиц, давали положительную реакцию с иммунными кроличьими сыворотками к антигену Форссмана, а гликолипиды от 16 других обследованных — отрицательную реакцию. На основании этого авторы разделили всех людей на форссман-негативных (большинство) и форссман-позитивных (меньшинство). Антиген Форссмана находился только в гликолипидах, полученных из слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, но не из эритроцитов. Кроме гликолипидов нормальной слизистой оболочки, авторы изучали гликолипиды и из раковых опухолей желудочно-кишечного тракта на наличие в них антигена Форссмана. Оказалось, что гликолипиды, выделенные из опухолей форссман-негативных больных, обладали значительной активностью в реакции с сывороткой к антигену Форссмана. Наоборот, гликолипиды, полученные из раковых опухолей форссман-позитивных лиц, с этой сывороткой не реагировали. Однако предшественник антигена Форссмана находился как у форссман-негативных, так и форссман-позитивных индивидов. Авторы не исключают того, что антиген Форссмана, обнаруживаемый в гликолипидах из злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта человека, в действительности является «А-подобным» антигеном, имеющим, как известно, большое серологическое сходство с гетерогенным антигеном.

Способность гликолипидов, выделенных из нормальной слизистой оболочки и раковых опухолей желудочно-кишечного тракта, реагировать с сыворотками крови кроликов, иммунизированных эритроцитами барана, не может еще служить доказательством того, что реакция осуществлялась благодаря наличию в сыворотке антител к антигену Форссмана, а не к другим антигенным детерминантам, общим для человека, барана и морской свинки. Только применение человеческих сывороток, содержащих антитела к детерминантам гликолипидного антигена Форссмана, позволило бы с наибольшей вероятностью дать ответ на вопрос о наличии в слизистой оболочке и раковых опухолях желудочно-кишечного тракта антигена Форссмана, идентичного гликолипидному антигену, полученному из почки морской свинки или эритроцитов барана. Нельзя также исключить и возможного влияния форссман-позитивных бактерий, вегетирующих в желудочно-кишечном тракте, на результат реакций некоторых образцов гликолипидов с сывороткой к антигену Форссмана.

Другие результаты были получены В. С. Коростелевой и соавт. (1980), изучавшими антиген Форссмана в раковых и нормальных тканях человека (табл. 3). Иммунная сыворотка к эритроцитам барана реагировала с экстрактами из почки морской свинки и эритроцитов барана. В то же время нормальные ткани (печень, селезенка) и опухоль (карцинома кишечника) человека в реакции с этой сывороткой дали отрицательные результаты. Адсорбция сыворотки к антигену Форссмана почкой морской свинки или эритроцитами барана приводила к полному исчезновению гетерофильных антител, в то время как этого не наблюда-

Таблица 3. Содержание антигена Форсмана в злокачественных и нормальных тканях

Иммунная сыворотка	Ткань, использованная для адсорбции сыворотки	Антигены				
		из тканей животных		из тканей человека		
		почка морской свинки	эритроциты барана	рак кишечника	селезенка	печень
К антигену Форсмана	До адсорбции	320	320	0	0	0
	Почка морской свинки	0	0	0	0	0
К эритроцитам барана	Эритроциты барана	0	0	0	0	0
	Рак кишечника	320	320	0	0	0

Примечание. Приведены обратные величины титра антител в РСК. Исходное разведение сыворотки 1 : 40. 0 — отсутствие связывания комплемента.

лось при истощении этой сыворотки карциномой кишечника. Аналогичные результаты были получены и при изучении опухолей другой локализации: рака прямой кишки (1 случай), легкого (1 случай), сигмы (3 случая), поджелудочной железы (1 случай), желудка (5 случаев). М. С. Бердинских и соавт. (1981) исследовали 80 опухолей молочной железы человека (62 — рак различной степени злокачественности, 13 — фиброаденома и 5 — фиброзно-кистозная мастопатия) на наличие в них антигена Форсмана. В РСК использовали кроличью специфическую иммунную сыворотку к антигену Форсмана. Антигенами для реакции служили водно-солевые и липидные экстракты опухолей, а также липидный экстракт из почки морской свинки. Все испытуемые образцы, за исключением липидного экстракта из почки морской свинки, дали отрицательные результаты в РСК и в реакции избирательной адсорбции.

Таким образом, эти исследования показали, что ткани различных злокачественных и доброкачественных опухолей, как и нормальные ткани людей, не содержат антигена Форсмана. Это подтверждается и отсутствием у людей иммунологической толерантности к данному антигену, что проявляется в продукции специфических гетерофильных антител. Следовательно, трансформация нормальных человеческих клеток в злокачественные клетки не сопровождается появлением в них гетерогенного антигена Форсмана. Последний отсутствует как в нормальных клетках и тканях человека, так и в опухолях.

Глава 6

ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ АНТИГЕНЫ

При неопластической трансформации в клетках появляются антигены, активно синтезирующиеся на ранних стадиях развития организма, поэтому они и названы эмбриональными, или опухо-

левоэмбриональными. Появление таких антигенов в опухолевых клетках является одним из целого ряда признаков, сопровождающих злокачественную трансформацию. В отношении происхождения эмбриональных антигенов распространена точка зрения о том, что они, очевидно, кодируются клеточными так называемыми дремлющими (dormant) генами, которые активизируются преимущественно в эмбриональном периоде и при канцерогенезе. Вероятно, вскоре после рождения происходит репрессия эмбриональных генов и синтез соответствующих антигенов снижается, тогда как при некоторых неопластических процессах наступает дерепрессия этих генов, приводящая к появлению эмбриональных антигенов в клетках опухолей. Эмбриональные антигены различных экспериментальных систем могут быть индуцированы онкогенными ДНК- и РНК-содержащими вирусами, химическими и физическими факторами, они также встречаются в некоторых спонтанных опухолях [Stonehill E., Bendich A., 1970; Baldwin R. et al., 1972; Coggin J. et al., 1974; Bauer H. et al., 1977]. Антигенная общность гистологически родственных опухолей отчасти обуславливается этими тканевоспецифическими, ассоциированными с опухолями антигенами эмбрионального типа. Существует даже крайняя точка зрения, согласно которой все вновь экспрессирующиеся опухолевые антигены представляют собой не что иное, как продукты дерепрессированных клеточных генов. Однако, если одни антигены опухолей животных, а возможно, и человека связаны с экспрессией клеточных генов, то специфичность других антигенов определяется вирусом. Это опухолеспецифические вирусассоциированные антигены, которые либо кодируются вирусными генами, либо находятся под их контролем. В этом случае наблюдаются перекрестные реакции между антигенами независимо от видовой принадлежности клеток и гистологического типа опухоли.

Некоторые исследователи рассматривают онкогенез как прерванный онтогенез. Экзогенные причинные факторы блокируют процесс нормальной клеточной дифференцировки и стабилизируют недифференцированное состояние. Эмбриональные антигены отражают как бы возврат опухолевых клеток к эмбриональному (более примитивному) типу синтеза, что обозначается термином «дедифференцировка». Полагают, что появление эмбриональных антигенов в опухолях происходит в соответствии с процессами дерепрессии и дедифференцировки. На связь между эмбриогенезом и канцерогенезом указывалось еще в 1889 г., когда J. F. Conheim выдвинул свою «концепцию эмбрионального происхождения рака».

L. Hirschfeld и соавт. (1930, 1932) внесли существенный вклад в изучение иммунологической связи между эмбриональными и опухолевыми тканями. Авторы установили, что сыворотки беременных могут реагировать в РСК с экстрактами из тканей раковых опухолей человека. Далее было показано, что сыворотка, полученная иммунизацией кроликов эмбриональной тканью кры-

сы, взаимодействует с антигенами злокачественных опухолей, но не нормальных тканей человека. В свою очередь кроличья сыворотка против антигенов раковой опухоли человека давала реакцию с эмбриональными тканями. «Истощающая» адсорбция сыворотки опухолевыми тканями понижала ее реактивность в отношении эмбриональной ткани и наоборот. Позднее Е. Maculla (1948), занимаясь сравнительным изучением антигенов эмбриональных и опухолевых тканей мышей, получил результаты, хорошо согласующиеся с предыдущими находками. Антисыворотки против различных мышинных опухолей реагировали с эмбриональными тканями и гораздо слабее или совсем не реагировали с нормальными тканями взрослых мышей, что могло свидетельствовать о наличии в опухолевых и эмбриональных клетках сходных антигенов, отсутствующих во взрослом организме. J. Jacquet и L. Steeg (1954) сообщили об антигенном сходстве между тканями, характеризующимися интенсивным клеточным ростом, — эмбриональными, опухолевыми и регенерирующими.

Исследования в этом направлении были продолжены советскими авторами [Вязов О. Е., 1951, 1953, 1956, 1962]. Усилия их были сконцентрированы на установлении антигенных связей между эмбриональными и малигнизированными тканями на основании реакции между кроличьей антисывороткой к тканям раковой опухоли молочной железы человека и антигенами эмбриональных тканей. Некоторые из эмбриональных тканей, взятые от различных видов животных, содержали антигены, родственные компонентам опухоли молочной железы человека, тогда как в тканях взрослых животных они отсутствовали. Изучавшиеся антигены были названы стадиоспецифическими (эмбриоспецифическими) на том основании, что они появлялись только на определенных стадиях эмбрионального развития и затем исчезали. Антигены, которые описаны в цитированных выше работах, впоследствии были идентифицированы как эмбриональные или опухолевоэмбриональные антигены. Экспрессия в клетках опухолей тканеспецифических и стадиоспецифических антигенов была подтверждена в последующие годы. В частности, Н. Вауер и соавт. (1979) сообщили о присутствии в химически- и вирусиндуцированных опухолях птиц антигенов эмбрионального типа, оказавшихся специфическими для определенной стадии дифференцировки тканей эмбрионов кур и перепелок.

В опухолях животных были найдены общие опухолеассоциированные антигены, которые, как считают, могли быть представлены или эмбриональными, или вирусассоциированными антигенами. В отличие от эмбриональных вирусассоциированные антигены встречаются в опухолях, индуцированных одним общим вирусом, независимо от гистогенеза. I. Hellström и соавт. (1971) установили, что опухоли человека содержат специфические, перекрестно реагирующие опухолевые антигены, общие для опухолей одного гистологического происхождения. Однако вся сложность проблемы заключается в том, что неизвестен источник общих

антигенов, появляющихся в гистологически родственных опухолях человека, как не доказана и сама природа этих опухолей. Не известно, заключен ли генетический потенциал для кодирования этих белков в геноме клетки или в вирусном геноме. Возможно, не все антигены, найденные в родственных по гистологической картине опухолях человека, имеют эмбриональное происхождение. К. Hellström также объясняет природу найденных им перекрестно реагирующих антигенов в опухолях человека либо возникновением РЭА, либо присутствием общего вируса или органоспецифического антигена.

Обнаружено большое число различных эмбриональных антигенов, сходных для гистологически родственных опухолей. Такие антигены были открыты на многих типах опухолевых клеток экспериментальных животных и человека. Так, были найдены α -фетопротейн (АФП), раково-эмбриональный антиген (РЭА), легочный эмбриональный антиген, эмбриональный сульфогликопротеиновый антиген и др. [Oettgen H., 1974]. Наибольшую известность и значение у человека приобрели два антигена: АФП и РЭА.

АФП был идентифицирован Г. И. Абелевым (1963) в сыворотке крови эмбриона мыши и в мышечных гепатомах, индуцированных химическими канцерогенами. Показано, что АФП синтезируется в цитоплазме клеток гепатомы мышей [Абелев Г. И., 1963], выходит в культуральную жидкость перевиваемых *in vitro* опухолей [Абелев Г. И. и др., 1963а] и циркулирует в крови при развитии гепатом у мышей и крыс [Абелев Г. И. и др., 1968а]. Г. И. Абелев и соавт. (1963) установили, что тот же антиген синтезируется зрелыми гепатоцитами и в нормально регенерирующих тканях печени у взрослых мышей и крыс, например, после гепатэктомии и при повреждении печени CCl_4 . Ю. С. Татаринов (1963, 1964) обнаружил АФП при первичном раке печени человека. АФП находится в цитоплазме синтезирующих его опухолевых печеночных клеток и секретируется в кровь у 70% больных первичным раком печени. Это создавало предпосылки для использования АФП в клинике в качестве специфического диагностического маркера гепатомы. Иммунодиагностический АФП-тест на первичный рак печени у человека был разработан Г. И. Абелевым и Ю. С. Татариновым (1968, 1971, 1978).

Синтез АФП начинается одновременно с процессом гемопоэза в желточном мешке у эмбрионов млекопитающих. АФП синтезируется в большом количестве в печени эмбрионов клетками печеночной паренхимы (гепатоцитами), клетками желудочно-кишечного тракта. При последующем угасании островков кроветворения в печени и дифференцировке гепатоцитов скорость продукции АФП во много раз снижается. АФП является основным сывороточным белком в ранний период эмбриогенеза. К концу 2-й недели постнатальной жизни он практически исчезает из сыворотки крови и лишь в следовых количествах остается в сы-

воротке крови взрослых здоровых людей. Так, если уровень АФП в сыворотке крови плода на ранних стадиях внутриутробной жизни достигает 400 мг на 100 мл, а при рождении 30 000 нг/мл, то у взрослых лиц концентрация его обычно низкая и составляет 3 мкг на 100 мл (30 нг/мл) и ниже. Исключение составляет количество АФП у больных гепатомами и некоторыми злокачественными опухолями эмбрионального происхождения — тератокарциномами яичка и яичника [Abelev G. et al., 1967; Masopust J. et al., 1968; Alpert E. et al., 1971; Smith J., O'Neill R., 1971]. Однако радиоиммунологический метод увеличил частоту определения АФП и при многих других опухолях, таких, например, как рак желудка и предстательной железы [Thomson D. et al., 1973]. Повышенное содержание АФП в сыворотке крови взрослых людей, ассоциируемое с первичным раком печени и тератокарциномами яичка и яичника, может служить показателем прогрессирования опухолевого процесса, а также возникновения рецидивов. С помощью АФП осуществляется наблюдение за эффективностью лечения онкологических больных.

АФП человека достаточно хорошо изучен. Для его очистки наиболее эффективен метод аффинной хроматографии с использованием CNBr-сефарозы в качестве иммуносорбента [Ruoslahti E. et al., 1974]. Сыворотку к АФП получают от кроликов при иммунизации их эмбриональной сывороткой крови человека или сывороткой от больных первичным раком печени. АФП является α -глобулином с молекулярной массой 70 000 и константой седиментации 4,5S, его молекула состоит из одной полипептидной цепи. Он относится к классу гликопротеидов и содержит до 4% углеводов. АФП по своей первичной структуре и физико-химическим свойствам сходен с сывороточным альбумином [Ruoslahti E. et al., 1974]. Так, молекулы АФП и сывороточного альбумина на 37—45% гомологичны по первичной структуре [Ruoslahti E., Terry W., 1976], поэтому можно предположить, что их гены произошли из общего гена-предшественника. Нативные формы этих белков не дают перекрестных реакций, однако в результате денатурации они приобретают новые химические свойства, отличающиеся от таковых у нативных белков, и новую иммунологическую специфичность. Такие модифицированные белки перекрестно реагируют в иммунофлюоресцентном и радиоиммунологическом тестах за счет приобретенных общих антигенных детерминант. E. Ruoslahti и E. Engvall (1976) полагают, что антитела к нативным белкам направлены главным образом к различным конформационным детерминантам, а не к сходной для этих белков последовательности аминокислот, тогда как развернутые при денатурации полипептидные цепи вызывают образование антител близкой специфичности.

АФП, очевидно, заменяет альбумин в период эмбрионального развития. Кроме того, показано, что он связывает эстрогены и обладает способностью подавлять активность лимфоцитов, с чем связывают его участие в онтогенезе.

Применение в клинике получил также РЭА. РЭА был открыт В. Я. Рогальским в 1964 г. при помощи реакции иммунопреципитации в агаре в тканях раковой опухоли толстой кишки человека. Независимо от В. Я. Рогальского Р. F. Gold и S. Freedman в 1965 г. сообщили об обнаружении ими в клетках аденокарциномы толстой кишки человека антигена, названного ими канцероэмбриональным (СЕА), который присутствовал в тканях толстой кишки, поджелудочной железы и печени эмбриона и плода человека до 6-го месяца внутриутробной жизни и исчезал к моменту рождения. В 1972 г. В. Я. Рогальский показал идентичность этих двух антигенов. РЭА был идентифицирован с помощью гетерологических антител, которые получили от кроликов при иммунизации их экстрактом злокачественной опухоли толстой кишки и адсорбции нормальной тканью от больного с опухолью.

РЭА представляет собой гликопротеидный комплекс [Gold P., Freedman S., 1965; Coligan J., 1973] с молекулярной массой 200 000—250 000 и константой седиментации 6,9—8,5S. Он обладает иммуноэлектрофоретической подвижностью β -глобулина [Krupey J. et al., 1968], устойчив к нагреванию [Abeyounis C., 1927]. Молекула РЭА состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 800 аминокислотных остатков. Углеводный компонент молекулы составляет до 50% ее массы и содержит N-ацетилглюкозамин, который частично обуславливает антигенную специфичность, а также галактозу, фукозу, маннозу и сиаловую кислоту. Полагают, что антигенные свойства этого белка детерминированы в основном не углеводной, а белковой частью молекулы [Coligan J. et al., 1975]. РЭА, очевидно, неоднороден. Существуют по крайней мере 6 различающихся по молекулярной массе разновидностей этого антигена [Everleigh J., 1972]. Установлено, что РЭА может как располагаться внутри клеток раковых опухолей толстой кишки, так и выделяться во внеклеточное пространство. По мнению В. Я. Рогальского, он локализован не на поверхностной мембране опухолевых клеток, как считают многие исследователи, а в цитоплазме, будучи связанным с мембранами эндоплазматического ретикулума. При сравнительном изучении малигнизированных и предраковых (полипы) тканей наблюдали внутриклеточное накопление антигена и тенденцию к интенсивной секреции его клетками опухолей, тогда как клетки полипов секретировали РЭА в значительно меньших количествах [Рогальский В. Я., 1978].

Было установлено, что концентрация РЭА повышается в сыворотке крови больных раком толстой кишки [Thomson D. et al., 1969]. Как полагают, это связано с активизацией синтеза и секреции антигена малигнизированными клетками и усилением процессов деструкции клеток. Установленный факт открывал возможность использования РЭА в качестве антигенного маркера при аденокарциноме толстого кишечника. Для ранней иммунодиагностики стали применяться высокочувствительные тесты, например радиоиммунологический. Однако именно использование

этих методов способствовало обнаружению антигена в тканях и сыворотке крови при раке других органов желудочно-кишечного тракта, злокачественных опухолях урогенитальной локализации, молочной железы, легкого. Кроме того, РЭА обнаруживался при многих незлокачественных патологических состояниях, а также в небольших количествах в крови здоровых людей. Все эти находки в значительной мере снизили диагностическую ценность этого белка [Lo Gerfo P., 1971; Reynoso G. et al., 1972].

Повышенный уровень РЭА в крови встречается при хронических заболеваниях печени, поджелудочной железы, воспалительных процессах в кишечнике (алкогольный цирроз печени, панкреатиты, язвенные колиты, энтериты и др.), хотя в этих случаях его титры обычно более низкие, чем при опухолевых процессах [Martin F., Martin M., 1970; Moore T. et al., 1971; Abeyounis C., 1972]. При неопухолевых заболеваниях различных органов в патологически измененных клетках может начаться синтез антигена, который в норме не продуцировался. В этой ситуации так же, как и при малигнизации, могут быть усилены процессы деструкции и экскреции, что повлечет за собой увеличение концентрации антигена в крови [Рогальский В. Я., 1976]. Полагают, что повышенный уровень РЭА при многих воспалительных и регенеративных состояниях свидетельствует об участии этого белка в процессах роста и репарации.

РЭА обнаружен в нормальной слизистой оболочке толстого кишечника примерно у 10% взрослого населения. С помощью непрямого метода иммунофлюоресценции он был найден в бокаловидных клетках нормальной слизистой оболочки органов пищеварительного тракта, а также в клетках трахеи и бронхов. Реакцией преципитации в агаре РЭА обнаружили в секретах, выделяемых клетками различных органов [Рогальский В. Я., 1976]. Кроме того, он содержится в нормальной слюне, моче и других биологических жидкостях. Подобные наблюдения позволили В. Я. Рогальскому (1966) сделать вывод о том, что РЭА связан со слизепroduцирующей функцией ряда клеток, находящихся в разных органах. Автор предположил, что РЭА не является специфическим антигеном опухолевых и эмбриональных тканей, а представляет собой нормальный тканевый антиген.

По сравнению с истинными новыми антигенами, индуцируемыми вирусами и химическими канцерогенами, РЭА — это неспецифический опухолевый маркер и поэтому он не может быть широко использован в диагностике новообразований. Разница в содержании РЭА и подобных ему антигенов в опухолевой и неопухолевой ткани носит скорее количественный, а не абсолютный характер. РЭА целесообразно применять в качестве показателя эффективности лечения больных с аденокарциномой толстой кишки. Прогностически неблагоприятным моментом считается повышение содержания этого антигена в крови у больных после хирургического вмешательства по поводу аденокарциномы кишечника, что свидетельствует о нерадикальном удалении опухоли и

появлении метастазов. Напротив, снижение уровня или исчезновение РЭА после лечения служит благоприятным признаком. В. И. Кныш и соавт. (1979) предлагают использовать радиоиммунодиффузионный тест (РИД) для ранней диагностики рецидивов рака толстой кишки с помощью РЭА. Тест оценивали как положительный, если уровень РЭА превышал 10 нг/мл. Положительные результаты получили у 32 из 70 больных раком толстой кишки (46%) и у 6 больных из 24 со злокачественными опухолями другой локализации (25%). При обострении злокачественного процесса реакция была положительна в 80% случаев.

Как уже отмечалось, РЭА обнаружен во многих опухолях человека. Полагают, что различные опухоли содержат не все, но некоторые общие антигенные детерминанты РЭА. Это открывает перспективы для использования РЭА в качестве опухолевого маркера, присутствующего в тканях и сыворотке крови больных с рядом злокачественных новообразований. В. Wahren и соавт. (1978) с помощью не прямой реакции иммунофлюоресценции и специфической кроличьей сыворотки анти-РЭА выявили этот антиген в 42% клеток первичной карциномы молочных желез, тогда как нормальные клетки железы и клетки фиброаденомы, за единичными исключениями, не содержали РЭА. Авторы отметили интересную особенность: если в случае аденокарциномы толстой кишки содержание РЭА было выше в клетках более высокодифференцированных опухолей, то для аденокарциномы молочных желез эта зависимость была не столь очевидной. F. Searle и соавт. (1977) отметили значительное повышение концентрации РЭА в сыворотке крови больных при метастазировании раковой опухоли молочной железы. Н. Falkson и соавт. (1978) радиоиммунологическим методом обнаружили повышение содержания РЭА в крови у 234 больных с гистологически доказанным диагнозом рака молочных желез. Авторы отметили увеличенный уровень РЭА у 70% лиц с метастазами опухоли. При этом концентрация антигена выше 2,5 нг/мл уже не считалась нормальной. Таким образом, существует, очевидно, корреляция между уровнем РЭА в циркулирующей крови и степенью диссеминации раковой опухоли молочной железы. Кроме того, РЭА встречается у больных раком яичников [Malkin A. et al., 1978]. При этом его концентрация отражает тяжесть заболевания, так как РЭА чаще обнаруживается у пациенток в IV стадии болезни. Повышенное содержание РЭА у больных раком легких также свидетельствует об ухудшении прогноза.

Подводя итог, следует отметить, что определение РЭА — одного из опухолеассоциированных маркеров — может дать полезную информацию об опухолевом процессе и обеспечить возможность контроля за его развитием.

Вызывают интерес сообщения, указывающие на сходство между РЭА и веществами группы крови АВ0. J. Gold и P. Gold (1973), А. Соорег и соавт. (1974) установили, что РЭА содержит детерминанту, подобную таковой антигена группы крови А, которая и

обуславливает иммунологическую перекрестную реактивность между этими веществами. Эти исследования показали, что групповое вещество А не является контаминантом в препаратах РЭА, а присутствует в них как неперменная составная часть молекулы РЭА. РЭА хорошо реагирует с сывороткой анти-А, хотя гаптенная часть молекулы этого антигена отличается от гаптенной структуры антигена группы крови А. Имеются сообщения о том, что РЭА несет опухолеспецифическую детерминанту (РЭА I) и детерминанты нормальных групповых антигенов (РЭА II и РЭА III). Из этого следует, что в неопухолевых тканях повышенный уровень РЭА может быть связан с нормальными веществами группы крови, которые секретируются в больших количествах при некоторых патологических процессах и дают перекрестную реакцию с антисывороткой к РЭА.

В дальнейшем А. Simmons и Р. Perlmann (1973) с помощью иммунохимических методов подтвердили родственную связь РЭА с групповыми антигенами. РЭА практически не отличается от них ни по физико-химическим свойствам (что было показано при сравнительном изучении их методами электрофореза и гель-фильтрации), ни по аминокислотному составу. Авторы выявили, что экстракты из опухолей пищеварительного тракта человека содержат «дефицитные» групповые вещества, напоминающие РЭА. Таким образом, опухолеассоциированный РЭА может рассматриваться как неполный (дефицитный) антиген системы группы крови АВ0, не содержащий некоторых аминокислотных последовательностей группоспецифических антигенов. А. Simmons и Р. Perlmann (1973) пришли к заключению о том, что при канцерогенезе возникают генетические изменения локусов, контролирующих образование регуляторных трансфераз, которые необходимы для нормального синтеза классических антигенов системы АВ0.

Однако наряду со сходством между РЭА и групповыми веществами существуют, по-видимому, и различия. Так, интересное наблюдение сделали Н. Denk и соавт. (1974). С помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции, двойной иммунодиффузии и смешанной гемадсорбции были исследованы 39 аденокарцином желудка и 23 раковые опухоли толстой кишки. В большинстве случаев в них одновременно присутствовали РЭА и групповые антигены, но отмечались различия в их локализации. Далее авторы установили, что в отличие от уровня групповых веществ содержание РЭА зависит от степени дифференцировки опухолевых клеток: этот антиген находится в клетках высокодифференцированных аденокарцином и не содержится или присутствует в очень незначительном количестве в малодифференцированных новообразованиях. В то же время Н. Denk и соавт. не наблюдали перекрестной реакции между групповым антигеном А и РЭА, как это отмечалось другими исследователями, работы которых цитировались выше. Сами авторы объясняют это либо недостаточной чувствительностью использовавшихся ими методов, либо тем обстоя-

тельством, что общие антигенные детерминанты могли быть недоступны для исследования, так как находились в глубине (скрытые, или крипт-детерминанты).

В последующем в препаратах РЭА были обнаружены антигены А, В, Н, а также Le^a и Le^b в полном соответствии с группой крови пациента [Andreu G. et al., 1975; Bali J. et al., 1976]. J. Bali и соавт. (1976) нашли антиген группы крови Н на молекуле антигена РЭА-М, полученного из ткани метастазов в печень рака прямой кишки от больного группы крови О. Аффинная хроматография РЭА-М на иммуносорбенте с антителами анти-Н показала, что порция молекул РЭА-М может содержать антигенные детерминанты и антигена Н и РЭА. РЭА-М обрабатывали гликозилтрансферазами для изменения групповой специфичности Н на А или В. Групповая специфичность определялась на основании связывания ^{125}I -РЭА-М с сыворотками к групповым антигенам (анти-А, анти-В и анти-Н). В результате обработки РЭА-М N-ацетилгалактозаминилтрансферазой или галактозилтрансферазой в присутствии соответствующих предшественников сахаров РЭА-М утрачивал Н-специфичность и приобретал А- или В-специфичность.

Авторы полагают, что достоинство примененного ими метода заключается в том, что он дает возможность индуцировать в опухолевых клетках синтез несовместимых антигенов.

РЭА и эмбриональный сульфогликопротеиновый антиген, ассоциированный с раком желудка у человека [Hakkinen I. et al., 1972], по-видимому, сходны в иммунологическом отношении. Так, J. Вага и соавт. (1978) сообщили, что из клеток злокачественной опухоли желудка человека ими был выделен и очищен сульфогликопротеиновый антиген. Полученная к нему кроличья анти-сыворотка реагировала только с тканью высокодифференцированных аденокарцином желудка и кишечника. Кроме того, авторы отмечали зависимость между содержанием этого сульфогликопротеина и секреторной активностью клеток слизистой оболочки. На основании полученных результатов антиген характеризовали как маркер определенных стадий созревания клеток желудочно-кишечного тракта. Было также показано, что антисыворотка к этому белку взаимодействует с антигеном группы крови А. Все это свидетельствует о сходстве данного антигена с РЭА и, возможно, о наличии у них общих детерминант.

Экспрессирующиеся на опухолевых клетках эмбриональные антигены определяют в реакциях иммунодиффузии, иммунофлюоресценции, с помощью комплементзависимых цитологических антител, опосредованного лимфоцитами цитотоксического теста *in vitro*. Кроме того, некоторые из этих антигенов обнаруживаются в реакции отторжения опухолевого трансплантата у животных, иммунизированных эмбриональными клетками *in vivo*.

Неоднозначные результаты получены в отношении иммуногенных свойств эмбриональных антигенов. Значительная доля информации по этому вопросу получена на экспериментальных

системах; кроме того, довольно большое число работ было посвящено изучению реакций иммунитета, направленных на антигенные мишени опухолей человека, возможно эмбрионального происхождения. Остановимся сначала на экспериментальных моделях.

Если одни исследователи не считают эмбриональные антигены эффективными иммуногенами в связи с отсутствием необходимых биохимических или биофизических свойств или по причине естественной толерантности к ним, то другие авторы не исключают возможности участия подобных антигенов в противоопухолевом иммунитете. Сторонники второй точки зрения полагают, что иммунитет к эмбриональным антигенам, экспрессирующимся на опухолевых клетках, может существенно влиять на ход развития взаимоотношений хозяина с опухолью. J. Coggin и соавт. (1974) сообщили, что эмбриональные антигены присутствуют во многих опухолях грызунов и могут стимулировать иммунный ответ у опухоленосителя, опосредованный как клеточными (лимфоцитами), так и гуморальными (комплементзависимые цитолитические антитела) факторами. Более того, авторы считают, что эмбриональные антигены некоторых экспериментально вызванных опухолей могут функционировать в качестве трансплантационных и распознаваться организмом хозяина как чужеродные, вызывая реакцию отторжения опухолевого трансплантата. J. Coggin и соавт. (1971) в экспериментах на сингенных животных при иммунизации их эмбриональными тканями продемонстрировали, что иммунитет к эмбриональным антигенам способствует изменению судьбы опухолевого трансплантата в сторону торможения опухолевого роста. Предварительная иммунизация таких животных эмбриональными тканями создавала резистентность к прививке химически- и вирусиндуцированных опухолевых клеток. Например, G. Della Porta и M. Colnaghi (1974) иммунизацией эмбриональными тканями в некоторых случаях индуцировали резистентность у животных к последующему введению им клеток химически индуцированных опухолей. В частности, оказалось, что мыши, иммунизированные эмбриональными клетками, становятся невосприимчивыми к прививке им клеток индуцированной уретаном сингенной лимфомы, содержащей эмбриональный антиген. Эмбриональные клетки вызывали иммунитет у мышей против индуцированных метилхолантеном сарком.

Иммунизация эмбриональными клетками мышей и хомяков создавала у сингенных животных протективный иммунитет против опухолей, индуцированных SV40, аденовирусами (7 и 31) и вирусом лейкоза [Coggin J. et al., 1970; Ambrose E. et al., 1971; Hanna M. et al., 1971]. J. Coggin наблюдал защитное действие иммунизаций мышными эмбриональными тканями на рост клеток, инфицированных вирусом лейкоза Раушера. Введение хомякам эмбриональных тканей от различных видов животных и человека предохраняло их от развития SV40-индуцированных опухолей. Кроме того, получена иммунная защита против SV40-индуцированного опухолевого трансплантата у сингенных хомяков

путем подкожного введения им клеток лимфатических узлов от беременных самок-доноров [Girardi A. et al., 1973]. Однако эти эксперименты вызывают серьезные возражения, поскольку нельзя исключить возможности того, что реакция отторжения трансплантата у реципиента могла быть обусловлена не продуктами эмбриональных генов, а более чужеродными для организма вирусиндуцированными антигенами. Новые вирусиндуцированные антигены могут появляться в результате экспрессии генетической информации эндогенных вирусов, в частности вирусов лейкозов мышей, присутствующих в мышечных тканях. Тем не менее, если подобные наблюдения и указывают на возможную позитивную роль экспрессии эмбриональных антигенов в клетках опухолей, выражающуюся в защите организма от опухоли, то в других случаях иммунизация эмбриональными тканями не стимулировала противоопухолевый иммунитет, а при определенных условиях, напротив, вызвала прогрессирование опухолевого роста (феномен усиления — enhancement). Так, опухоли, индуцированные вирусом полиомы или SV40, и многие химически индуцированные опухоли хорошо приживались у животных, несмотря на иммунизацию их эмбриональными тканями [Ting C., 1968; Ting C. et al., 1973].

Эмбриональные антигены, экспрессирующиеся на клетках многих химически индуцированных опухолей, по-видимому, отличаются от опухолеспецифических антигенов TSTA и S. Установлено, что в этих случаях наряду с уникальными для каждой опухоли индивидуально специфическими TSTA в них также присутствуют перекрестно реагирующие тканеспецифические опухолеассоциированные эмбриональные антигены, которые в противоположность TSTA, не индуцируют эффективного трансплантационного иммунитета. Эмбриональные антигены и TSTA могут быть дифференцированы на основании различий в их антигенных и биохимических свойствах, как это было показано на модели химически индуцированных опухолей, в частности на индуцированных метилхолантеном (МХА) саркомах у крыс. Установлено, что антигенные детерминанты этих белков присутствуют на различающихся по молекулярной массе и электрофоретической подвижности молекулах-носителях.

R. Baldwin (1974) придерживается мнения о том, что эмбриональные антигены, ассоциированные с некоторыми опухолями, не функционируют как истинные TSTA. Как и многим другим авторам, ему не удалось создать хорошо выраженный трансплантационный иммунитет против ряда спонтанных и химически индуцированных опухолей, несущих эти антигены, путем иммунизации сингенных животных эмбриональными тканями. Но тем не менее R. Baldwin полагает, что даже те опухоли, которые неиммуногенны по критерию иммунного отторжения, содержат эмбриональные антигены, не лишенные потенциальной иммуногенной активности для хозяина-опухоленосителя. В качестве доказательства автор приводит данные определения лимфоцитов и (или) антител, цитотоксичных для клеток опухолей, у реципиентов сингенных эм-

бриональных вакцин и у опухоленосителей. Н. Вауер и соавт. (1979) пришли к заключению, что изучавшиеся ими на протяжении ряда лет TSSA-поверхностные опухолеспецифические антигены, индуцируемые вирусом саркомы Рауса (RSV), представляют собой эмбриональные тканеспецифические компоненты, иммуногенные для хозяина-опухоленосителя. Была показана цитотоксическая активность клеток селезенки взрослых перепелов, иммунизированных тканями 3—13-дневных перепелиных эмбрионов, в отношении трансформированных как RSV, так и метилхолантреном клеток-мишеней.

У животных-опухоленосителей обнаружены цитотоксические лимфоциты *in vitro*, направленные к перекрестно реагирующим органоспецифическим антигенам опухолевых клеток предположительно эмбриональной природы [Hellström I. et al., 1970]. Антигены на клетках спонтанно возникшей карциномы молочной железы крысы индуцировали появление сенсибилизированных клеток лимфатических узлов у животного-опухоленосителя. Лимфоциты оказались цитотоксичными *in vitro* как для клеток своей собственной карциномы, так и других карцином молочных желез, но не для опухолей иного гистологического типа. R. Baldwin (1975) относит найденные им антигены к органоспецифическим эмбриональным антигенам. D. Thomson и соавт. (1973) продемонстрировали наличие антител у крысы к эмбриональным антигенам крысиных сарком, индуцированных метилхолантреном.

Доказательством иммуногенности эмбриональной ткани может служить тот факт, что сенсибилизированные клетки лимфатических узлов от беременных мышей оказывают цитотоксическое действие *in vitro* на клетки некоторых химически индуцированных сингенных опухолей [Brown J., 1970]. Однако отнюдь не всегда удается получить адаптивный иммунитет в отношении некоторых опухолей у сингенных животных (например, против гепатомы у крыс) путем переноса клеток лимфатических узлов и перитонеального экссудата от многоплодных животных. Обнаружение *in vitro* цитотоксичности к эмбриональным антигенам не всегда совпадает с реакцией отторжения опухолевого трансплантата *in vivo* [Baldwin R. et al., 1974; Hellström I. et al., 1975]. Тем не менее положительный цитотоксический тест свидетельствует о наличии иммунного ответа на антигенную мишень, хотя по тем или иным причинам он не смог вызвать реакцию отторжения *in vivo* [Castro J. et al., 1973; Parmiani G., Lembo H., 1974].

Эмбриональные антигены иногда играют и неблагоприятную роль, способствуя прогрессированию опухолей. Так, в некоторых случаях отмечалось усиление опухолевого роста у животных, иммунизированных эмбриональными тканями. Полагают, что конечный результат взаимоотношений хозяина с опухолью зависит от нескольких причин и, в частности, от типа клетки-мишени и формы предъявления антигена иммунной системе организма.

Высказывается предположение, что экспрессия эмбриональных антигенов в клетках опухолей изменяет результирующей иммун-

ный ответ организма. При этом ведущая роль отводится «сывороточным «блокирующим факторам», которые конкурируют с защитными реакциями клеточного характера, индуцированными опухолеассоциированными антигенами трансплантационного типа. Кроме того, неэффективность иммунной защиты в элиминации опухоли может объясняться естественной толерантностью к эмбриональным антигенам.

Биологическая роль эмбриональных антигенов еще не известна, но не исключено, что она окажется сходной как при нормальном развитии эмбриона, так и при канцерогенезе. Считают, что в эмбриогенезе эти антигены защищают развивающийся плод либо в силу своих толерогенных свойств, либо за счет «сывороточных факторов», ограничивающих потенциально повреждающее действие на плод цитотоксических лимфоцитов матери. Заметим, что роль «блокирующих факторов» могут выполнять свободные эмбриональные антигены, циркулирующие в крови, комплексы эмбриональных антигенов и материнских антител или нецитотоксические антитела, экранирующие антигенсодержащие клетки. Не исключено, что этот же механизм, возникший с целью защиты плода от иммунных реакций со стороны матери, защищает клетки опухоли от реакций, опосредованных лимфоцитами. Остается открытым вопрос о том, являются ли РЭА и АФП иммуногенными для собственного хозяина.

К косвенным доказательствам возможной роли иммунитета к эмбриональным антигенам в противоопухолевой защите у человека относят наблюдения, согласно которым отмечается улучшенный прогноз для рожавших женщин. Это объясняют индуцированным беременностью иммунитетом к эмбриональным антигенам, общим для эмбриональных и опухолевых тканей. Так, зарегистрирована более низкая частота возникновения раковых опухолей молочных желез у многорожавших женщин. Предыдущие беременности у больных меланомами коррелируют с более продолжительной выживаемостью и низкой частотой метастазирования [Hersey P. et al., 1977a]. Кроме того, у беременных женщин обнаружены антитела, реагирующие, очевидно, с эмбриональными антигенами на клетках злокачественной меланомы [Hersey P. et al., 1977b]. Впоследствии у больных меланомами были найдены специфические антитела [Irie R. et al., 1976, 1980], направленные к эмбриональному антигену OFA-1, общему для эмбриональных клеток и клеток меланомы [Irie R. et al., 1976].

Показано, что выживаемость больных и продолжительность ремиссий после хирургического вмешательства коррелируют с повышенным уровнем IgM у больных меланомами [Jones P. et al., 1981]. На этом основании был сделан вывод о возможной роли IgM-антител к OFA-1 в элиминации опухоли; это связывают с участием обнаруженной реактивности в комплементзависимой цитотоксичности. Несмотря на то что не получено каких-либо доказательств в пользу вирусной этиологии меланомы, по нашему мнению, не исключено, что иммунная реактивность у больных

обусловлена не эмбриональным, а вирусиндуцированным антигеном.

I. Hellström и соавт. (1970, 1974, 1974) изучали опосредованный клеточными факторами иммунитет к различным опухолям человека (злокачественные опухоли толстой кишки, молочной железы, яичника, меланома) с помощью микроцитотоксического теста. Они выявили, что периферические лимфоциты крови от больных с опухолями обладают цитотоксическим действием на аутохтонные и аллогенные опухолевые клетки культур тканей. У больных аденокарциномами толстой кишки были обнаружены клеточные иммунные реакции, возможно, к РЭА, поскольку цитотоксическая активность лимфоцитов *in vitro* была направлена на антигены, общие для аденокарциномы кишечника и для культивированных эпителиальных клеток кишечника и печени эмбрионов [Hellström I. et al., 1970]. Лимфоциты от больных аденокарциномой толстой кишки оказывали цитотоксическое действие на клетки своих собственных опухолей и на аллогенные опухолевые клетки того же гистологического типа, но не на нормальные клетки от тех же пациентов или клетки гистологически отличающихся опухолей. В то же время было отмечено, что лимфоциты от здоровых лиц не обладали противоопухолевой цитотоксической активностью.

R. Herberman и R. Oldham (1975) критически подошли к оценке достоинств микроцитотоксического теста при использовании его для изучения опухолевого материала, взятого от человека. Они нашли, что и у здоровых лиц часто наблюдается цитотоксическая реактивность лимфоцитов (НК-клетки), а кроме того, не всегда прослеживается гистологическая специфичность изучавшихся антигенов.

Что же касается присутствия антител к РЭА в сыворотке крови больных с опухолями желудочно-кишечного тракта, то по этому вопросу сведения весьма противоречивы. В сыворотке крови беременных и у некоторых больных с локализованными первичными карциномами желудочно-кишечного тракта (без метастазов) были найдены антитела анти-РЭА [Gold P., 1967, 1969; Gold J. et al., 1972]. Напротив, другие исследователи не смогли подтвердить существования иммунного ответа на эти антигены у больных аденокарциномами кишечника [Abeyounis C., 1970; Lo Gerfo P. et al., 1972]. Н. Wigzell (1977) склонен считать, что АФП и РЭА неиммуногенны для своего хозяина, а антитела к ним могут быть получены при иммунизации от других видов животных. Однако автор пришел к выводу о том, что в организме опухоленосителя при наличии собственных антител эти белки могли бы служить в качестве антигенной мишени для иммунологических реакций.

Используя гетерологичные или химически измененные собственные АФП и РЭА в качестве иммуногена, Е. Ruoslahti и Н. Wigzell (1973) получили у обезьян антитела анти-АФП и анти-РЭА, специфичные и к аутологичным белкам. Животных иммунизировали кроличьим АФП, который структурно очень сходен с АФП человека и обезьяны, при этом наблюдали появление

антител, специфически реагировавших с АФП человека или обезьяны. У обезьян, иммунизированных РЭА человека, вырабатывались антитела к этому антигену, вызывавшие цитоллиз *in vitro* РЭА-положительных опухолевых клеток в присутствии нормальных лимфоцитов человека в качестве эффекторных клеток. А. И. Гусев и А. К. Язова (1974) получили данные, свидетельствующие о возможности создания иммунитета против гепатомы у крыс при иммунизации их АФП.

Вопросы, касающиеся необходимости и универсальности появления эмбриональных антигенов в опухолевых клетках, их разнообразия, а также пусковых механизмов экспрессии эмбриональных генов при злокачественной трансформации, остаются еще нерешенными. Предполагается существование связи между эмбриональными антигенами и продуктами экспрессии некоторых клеточных онкогенов. Возможно, что те и другие вещества активно функционируют в эмбриональном периоде развития, участвуя в процессах роста и дифференцировки клеток, и аномально экспрессируются при злокачественной трансформации.

Часть II

АНТИГЕНЫ, СПЕЦИФИЧНЫЕ ДЛЯ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

В предыдущем разделе было показано, что клетки злокачественных новообразований содержат антигены, идентичные антигенам нормальных клеток. Это хорошо доказано в отношении аллоантигенов системы АВ0(Н), HLA, MN и др. Отмечены лишь различия в количестве этих антигенов в нормальных и опухолевых клетках. Например, выявлены снижение активности групповых антигенов системы АВ0(Н) в некоторых раковых опухолях и особенно в метастазах и, наоборот, увеличение по сравнению с контролем содержания антигенов Т и эмбриональных антигенов. Вместе с тем установлено, что в клетках злокачественных новообразований появляются и новые, не свойственные нормальным клеткам специфические антигены.

В этом разделе мы считаем целесообразным рассмотреть антигены, специфичные для злокачественных новообразований в зависимости от факторов, вызвавших их появление в клетках, а именно антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, вирусами, и опухолей «спонтанного» происхождения, к которым относится подавляющее большинство опухолей человека.

Глава 7

АНТИГЕНЫ ОПУХОЛЕЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ХИМИЧЕСКИМИ КАНЦЕРОГЕНАМИ

В настоящее время не возникает сомнений в том, что химические, физические и биологические агенты могут стать причиной возникновения злокачественных новообразований. Это хорошо доказано как в экспериментальных условиях в опытах на животных, так и в клинике. Считают [Harris J., Sincovics J., 1976], что около 60—90% случаев рака человека связаны с экзогенными агентами, среди которых химические вещества занимают первое место.

Вещества, обладающие канцерогенными свойствами, разнообразны. Это полициклические углеводороды [3-метилхолантрен, дибензантрацен, бензопирен], азотные красители, ароматические амины, алкилнитрозоамины и др. Онкогенные потенции канцерогенов широки, они могут индуцировать различные по своей морфологии и локализации злокачественные новообразования у многих видов животных. Один и тот же канцероген, например, метилхолантрен, может вызывать у грызунов злокачественные опухоли молочных желез и мочевого пузыря, а также саркомы. Механизм превращения нормальной клетки в опухолевую остается

еще недостаточно изученным. Предполагают [Miller R., Miller J., 1972], что химические канцерогены взаимодействуют с клеткой в силу того, что, имея в своих структурах электрондефицитные атомы, они притягиваются к богатым электронами центрам клеточных полинуклеотидов, что и приводит к изменению генетических функций клеток. Химические канцерогены могут и препятствовать репарации ДНК, ингибировать или активировать микросомные ферменты. Таким образом, химические канцерогены, реагируя с клеточными структурами, особенно с их ДНК, приводят к соматической мутации клеток.

Канцерогенезу способствуют и генетические дефекты клеток. Отмечено [Fraumendi J., Miller R., 1967], что у больных с синдромами Дауна, Фанкони и другими наблюдается повышенная частота неоплазм. В культуре фибробластов с генетическими дефектами индуцировать трансформацию клеток значительно легче, чем в культуре нормальных клеток [Todaro G., 1968].

Химические вещества могут выступать в роли как инициаторов канцерогенеза, так и промоторов. Инициаторы химического канцерогенеза могут вызывать в клетках глубокие генетические изменения, которые передаются дочерним клеткам в процессе их деления [Ryser H., 1971]. Инициация злокачественного процесса зависит от дозы канцерогена и частоты его воздействия на клетку. Одна низкая доза или ограниченное число аппликаций обычно не приводят к трансформации клеток. Канцерогенам, однако, свойственна и аддитивная функция, когда низкие дозы их при длительном воздействии способны превращать нормальные клетки в опухолевые. Для инициации процесса, кроме канцерогена, необходимо участие и промоторов, т. е. веществ (факторов), способствующих трансформации клетки. Под действием промотора субканцерогенная доза вещества становится способной вызывать мутацию клеток и индуцировать возникновение опухоли. Наиболее важная функция промотора — усиление пролиферации клеток, что ведет к увеличению числа генетических нарушений, создающих более оптимальные условия для действия канцерогенов. Комбинированное воздействие на клетку промотора и инициатора (в одном и том же препарате могут содержаться оба фактора) повышает частоту возникновения опухолей и способствует более раннему их появлению [Ducen B., 1969]. Один промотор обычно не канцерогенен, если он применяется до введения канцерогена. Промотор способствует превращению субканцерогенной дозы иницирующего вещества в канцерогенную. Клетки, мутировавшие под действием канцерогенов, значительно отличаются от исходных клеток. Они утрачивают присущее нормальным клеткам свойство контактной ингибции, начинают беспорядочно и ускоренно размножаться, метастазировать, выходят из-под контроля регулирующих механизмов, и, что особенно примечательно, в них появляются новые антигены, отличающиеся от антигенов исходных (нормальных) клеток.

Появление новых антигенов в клетках опухолей, индуциро-

наных химическими канцерогенами, было доказано различными биологическими и серологическими методами, радиоиммунологическим анализом, иммунодиффузией, РСК, иммуофлюоресценцией, цитотоксическим тестом в присутствии антител и комплемента, освобождением лимфоцитами фактора, ингибирующего макрофаги, реакцией замедленной чувствительности и главным образом трансплантационным тестом [Prehn R., 1962; Baldwin R., 1967]. Однако следует отметить, что методы, применяемые для выявления новых антигенов, индуцированных в клетках химическими канцерогенами, дают не всегда совпадающие результаты. По-видимому, это объясняется как неодинаковым совершенством использованных методов, так и свойствами антигенов, индуцированных разными канцерогенами у различных животных. Встречаются опухоли, антигенные свойства которых представляются хорошо выраженными. Например, гепатомы крыс, обработанных 4-диметиламиноазобензолом, обладают высокоактивными индивидуально-специфическими трансплантационными антигенами [Baldwin R., Embleton M., 1971]. Имеются, однако, злокачественные новообразования, обладающие слабо выраженными антигенными свойствами, например, индуцированные ароматическими аминами опухоли молочной железы или печени у крыс. Один и тот же канцероген — диэтилнитрозоамин — индуцировал у морских свинок гепатомы с высокой антигенной активностью, а у мышей в клетках злокачественной опухоли легкого специфического антигена выявить не удалось. При изучении лейкозов, индуцированных у мышей химическими канцерогенами, облучением и гормонами, пока не удалось получить определенных сведений, свидетельствующих о появлении в клетках новых антигенов [Dexter T., 1974].

Результаты трансплантационных тестов и других сложных по своему механизму и трактовке реакций клеточного иммунитета, применяемых для выявления новых антигенов, не всегда совпадают с результатами серологических реакций, основанных на элективной адсорбции антител соответствующими антигенами. Однако применение для этой цели и серологических реакций встретило большие трудности. Новые антигены опухолей, индуцированные химическими канцерогенами, часто не стимулируют продукции специфических антител у носителя опухоли, поэтому приходится пользоваться гетероиммунными сыворотками. Последние же требуют совершенной элиминации всех побочных антител антигенами того же генотипа, что не всегда, к сожалению, полностью удается. Получение моноклональных антител от гетероиммунных животных также требует тщательного отбора клонов спленоцитов, продуцирующих соответствующие иммуноглобулины. Несмотря на все эти трудности, к настоящему времени можно считать установленным с помощью как биологических, так и серологических реакций, что превращение нормальных клеток в опухолевые под воздействием химических канцерогенов ведет к появлению в них новых антигенов, отсутствующих в нормальных клетках.

Важная особенность антигенов опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, заключается в их низкой иммуногенности для организма носителя опухоли. Обнаружить у последнего антитела к антигенам собственной опухоли, как правило, не удается. Наоборот, опухоли, индуцированные вирусами (папова, герпеса, аденовирусами, ретровирусами и др.), обладают хорошо выраженной иммуногенностью. Они стимулируют продукцию антител у носителя опухоли как в отношении антигенов самого вируса, так и новых, индуцированных ими антигенов.

Как показали J. Brown и соавт. (1978), мыши линии Balb/c, иммунизированные сингенной фибросаркомой, индуцированной метилхолантеном, не образовывали антител против уникальных опухоеспецифических трансплантационных антигенов, несмотря на то что последние были способны стимулировать отторжение опухолевых клеток в летальной дозе. В отличие от этих антигенов антигены опухолей, индуцированных эндогенным вирусом мышинного лейкоза, вызывали продукцию антител в высоком титре. Серологические исследования трансплантационного антигена, по данным авторов, были безуспешными, так как сыворотки крови мышей, иммунизированных этим антигеном, были часто неактивны или давали перекрестные реакции со многими опухолями. Причина расхождения между положительной реакцией на трансплантат и отрицательной серологической реакцией осталась неустановленной. Авторы предположили, что основу перекрестных реакций опухолей, индуцированных канцерогенами, составляют латентные эндогенные вирусы мышинного лейкоза, часто открываемые в химически индуцированных опухолях. Опухоли же, свободные от антигенов вируса лейкоза, но содержавшие уникальный трансплантационный антиген, не стимулировали продукции как анти-опухолевых, так и анти-вирусных антител (для обнаружения антител применялся радиоиммунологический анализ). Наличие антител к антигенам вируса, но не к трансплантационным антигенам свидетельствует о том, что последние нелегко вызывают образование антител. Убедительных данных, свидетельствующих об образовании специфических антител по отношению к антигенам собственных опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, нет. Описанные некоторыми авторами случаи обнаружения антител к антигенам собственных индуцированных химическими канцерогенами опухолей могли быть обусловлены их контаминацией латентными вирусами. По этим свойствам опухоли, индуцированные химическими канцерогенами, существенно отличаются от опухолей, индуцированных вирусами, по отношению к новым антигенам которых доказано образование антител у носителей опухолей.

Следует отметить, что опухоли, индуцированные химическими канцерогенами, имеют большое сходство с так называемыми спонтанными злокачественными новообразованиями человека и животных; у которых, как правило, также не удается выявить антитела к антигенам собственной опухоли. Однако не составляет большого

труда получать от гетероиммунных животных достаточно активные как поликлональные, так и моноклональные антитела к антигенам опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, и к антигенам многих опухолей «спонтанного» происхождения. Причины отсутствия специфических антител у носителей опухолей, индуцированных химическими канцерогенами и, наоборот, наличия их к антигенам опухолей, индуцированных вирусами, остаются еще недостаточно выясненными. Можно лишь предполагать, что это зависит от неодинаковой иммуногенной активности этих двух групп антигенов. Слабый иммунный ответ или даже отсутствие такового у носителей опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, едва ли можно объяснить низким уровнем антигена в опухолях, поскольку у ксеногенных животных тот же антиген вызывает выраженный иммунный ответ. По-видимому, это зависит от различной активности антигенов опухолей, индуцированных вирусами и химическими веществами, неодинаковой чужеродности их к иммунокомпетентным системам носителя опухоли. Вирусиндуцированные антигены — чужеродные для организма белки, поскольку они являются продуктом «чужой» (вирусной) генетической информации. Опоногенный вирус вносит в геном клетки новые нуклеотидные последовательности, которые и служат матрицей для транскрипции и трансляции новых белков-антигенов. Химические же канцерогены никакой новой генетической информации в клетку не вносят, они лишь изменяют в большей или меньшей степени существующий клеточный геном. Эти изменения происходят, по-видимому, чаще, чем возникают опухоли. Однако последние не образуются благодаря репарации ДНК клеточными эндонуклеазами [Засухина Г. Д., 1983]. Химические канцерогены, как полагают [Damjanov I. et al., 1973], препятствуют репарации клеточной ДНК, в силу чего возникает соматический мутант — опухолевая клетка, обладающая комплексом новых для нее морфофизиологических, биохимических и антигенных свойств.

Известно, что для гуморального иммунного ответа необходимо участие лимфоидных Т-клеток, распознающих белковый носитель антигена как «чужое», «не свое», и лимфоидных В-клеток, реагирующих на антигенную детерминанту. Только при взаимном функционировании этих двух лимфоидных систем (в этом процессе участвуют и макрофаги) возможен гуморальный иммунный ответ на антигены естественного происхождения. Можно предполагать, что в процессе химического канцерогенеза белковый носитель нового антигена не претерпевает значительных изменений, поскольку он является продуктом собственной генетической информации и не распознается аутохтонными лимфоидными Т-клетками как чужеродный субстрат, в результате чего не происходит запуск продукции антител В-клетками. Вирусиндуцированные антигены в отличие от антигенов опухолей, вызванных химическими канцерогенами, являются продуктом чужеродной генетической информации и поэтому распознаются лимфоидными Т-клет-

ками как чужеродные, «не свои», в результате чего и происходит продукция антител в организме носителя опухоли.

Отсутствие серологической иммунной реакции на антигены опухоли, индуцированной химическими канцерогенами, по-видимому, имеет место и при «спонтанных» новообразованиях животных и человека, у которых в большинстве случаев (за исключением опухолей вирусной этиологии) не удалось с достоверностью обнаружить специфические антитела к антигенам собственной опухоли.

Подтверждением высказанной выше гипотезы о причине недостаточной иммуногенности злокачественных новообразований человека для самого носителя опухоли могут служить результаты исследований П. Н. Косякова и В. С. Коростелевой (1967), Р. П. Павлюченковой и В. С. Коростелевой (1970). Авторы показали, что специфические антигены большинства исследованных раковых опухолей человека состоят из носителя белковой природы и связанного с ним гликолипидного гаптена, определяющего специфичность полного антигена. Можно предполагать, что белковая часть носителя опухолевого антигена не распознается лимфоидными Т-клетками как чужеродный субстрат, поскольку он кодируется геномом клетки носителя опухоли и поэтому не происходит запуска специфического гуморального ответа на антигены собственной опухоли. Введение же такого полного антигена ксеногенным животным (кроликам) дает возможность получать высокоактивные поликлональные гетероиммунные сыворотки, в которых содержатся антитела как к нормальным антигенам клетки, так и к новым, ассоциированным с опухолью антигенам. Выделенный из нативной опухоли человека гликолипидный комплекс утрачивал свои иммуногенные потенции, хотя и оставался высокоактивным специфическим гаптенем. Однако соединение последнего с сывороткой крови лошади приводило к превращению специфического гаптена в полноценный опухолевый антиген. Эти результаты свидетельствуют о большом значении белкового носителя опухолевого антигена для получения полноценного иммунного ответа ксеногенных животных. Таким образом, имеются основания предполагать, что отсутствие антител к антигенам собственной опухоли, «спонтанно» возникшей или химически индуцированной, зависит от недостаточных для распознавания иммунокомпетентными Т-клетками изменений в белковом носителе антигена, ассоциированного с опухолью. Введение же таких опухолей ксеногенным животным ведет к обычному образованию специфических антител.

Другая примечательная особенность антигенов опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, — их весьма узкая и нередко индивидуальная специфичность, отличающая их от опухолей вирусной этиологии. Специфичность антигенов опухолей, индуцированных вирусами, определяется вирусом. Один и тот же вирус (например, вирус полиомы) стимулирует образование в клетках различных видов животных (мышей, крыс, кроликов, хо-

мяков и др.) сходных по своей специфичности новых антигенов. Биосинтез последних кодируется вирусом (см. главу 9). Напротив, специфичность антигенов опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, не определяется природой канцерогена. Один и тот же канцероген (например, метилхолантрен) может индуцировать опухоли различной антигенной специфичности у животных одного и того же вида. Трансплантационные антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, индивидуально специфичны. Иммунизация животных одной опухолью не создает защиты от клеток другой опухоли, гистологически ей идентичной и индуцированной тем же самым канцерогеном. Иммуни-тет возникает лишь по отношению к клеткам аутологичной опухоли. У морских свинок, иммунизированных растворимыми антигенами сарком, индуцированных метилхолантеном или диметилбензантраценом, появляется резистентность только к клеткам, которые были взяты для иммунизации [Holmes E., 1970]. Существование индивидуально отличных антигенов у сарком, индуцированных метилхолантеном, было показано и серологическими методами [Baldwin R., Embleton M., 1971]. Опыты по созданию трансплантационного иммунитета [Pimm M., Baldwin R., 1973] показали, что первичные саркомы, индуцированные у крыс метилхолантеном, отличаются в антигенном отношении от саркомы, развившейся вторично — после хирургического удаления первичной опухоли. Однако наиболее примечательным примером уникальной индивидуальной специфичности опухолей явилось обнаружение у одной крысы двух антигенно различных сарком, индуцированных метилхолантеном. Более того, было найдено [Ishidate M., 1970], что четыре опухолевых узла, выделенные из гепатомы одной крысы, обработанной метиламиноазобензолом, были антигенно различны.

Экстракты антигенов, выделенных из гепатомы, индуцированной диметилнитрозоамином у морских свинок, проявляли индивидуальную специфичность и в реакции замедленной гиперчувствительности [Meltzer M. et al., 1972]. Причина весьма узкой антигенной специфичности опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, изучена недостаточно. Несомненно, однако, что этот феномен зависит не столько от канцерогена, сколько от индивидуальных особенностей клеток, подвергающихся воздействию химического агента. Можно предполагать, что канцероген приводит к нарушению структуры и функции клеточного генома, изменению последовательностей составляющих его нуклеотидов. Результатом экспрессии этих измененных клеточных генов и являются новые антигены, обнаруживаемые в опухолевых клетках. E. Möller и соавт. (1976) предположили, что опухоли, индуцированные химическими канцерогенами, моноклональны по своему происхождению и, следовательно, гомогенны в антигенном отношении. Однако R. Prehn (1970) с помощью трансплантационного теста обнаружил, что саркомы, индуцированные у мышей метилхолантеном, могут содержать антигенно различные клеточные

популяции. Ткани, взятые из одного участка первичной саркомы, оказались антигенно отличны от тканей, полученных из другого участка той же самой саркомы.

Тот факт, что новые антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, обладают индивидуальной специфичностью, подтверждают мнение о том, что эти антигены являются следствием экспрессии различных генов клеток хозяина — носителя опухоли, а не результатом вирусной инфекции. Следует, однако, отметить, что опухоли, индуцированные химическими канцерогенами, могут содержать и общие, перекрестно реагирующие антигены. Многие авторы находили такие антигены в опухолях, индуцированных метилхолантеном (МХА). В саркомах мышей [Reiner J., Southam C., 1969], гепатомах морских свинок [Holmes E., Morton D., 1971], папилломах мочевого пузыря крыс [Hellström I., Hellström K., 1972]. Плазмоцитомы у мышей, вызванные введением минерального масла, содержали перекрестно реагирующие антигены [Lepinats G., 1970]. Лимфомы, индуцированные 7,12-диметилбензантраценом, давали перекрестные иммунные реакции с антигенами «спонтанных» раковых опухолей молочных желез у мышей линий СЗН. Как сообщает E. Lennox (1980), перекрестно реагирующие антигены были найдены у двух опухолей, индуцированных МХА у мышей линии Balb/c. В опухолях, индуцированных МХА, у одних мышей находили индивидуально специфические трансплантационные антигены, в то время как опухоли других мышей имели общие антигены. Причина наличия перекрестно реагирующих антигенов в опухолях, индуцированных химическими канцерогенами, остается еще недостаточно выясненной.

Ортодоксальная точка зрения объясняет этот феномен персистенцией в опухолевых клетках вирусов. Последние же, как известно, могут вызывать продукцию клетками сходных вирусиндуцированных антигенов вне зависимости от индивидуальной и видовой принадлежности. Канцерогены, как и иммунодепрессанты, способствуют репродукции латентных вирусов, в том числе и в опухолевых клетках. Следовательно, определенную роль персистирующих вирусов в возникновении общих антигенов у различных опухолей исключить нельзя. Однако далеко не всегда в опухолях, содержащих перекрестно реагирующие антигены, удается доказать наличие как вирусиндуцированных антигенов, так и самого вируса. Нельзя считать неправомочной и другую гипотезу, согласно которой сами химические канцерогены могут индуцировать и иммунологически сходные антигены. Учитывая огромное число клеток, подвергающихся действию химического канцерогена, нельзя исключить возможность появления у различных индивидов клеток с однотипными не только морфофизиологическими, но и биохимическими и антигенными свойствами.

Попытки получить сыворотки к трансплантационному антигену, как правило, были безуспешными. J. Brown и соавт. (1978) получили от 10 мышей линии Balb/c, которых иммунизировали

саркомой, индуцированной МХА, сингенные сыворотки, которые давали перекрестные реакции со всеми 10 опухолями. Из большого числа сывороток таких мышей удалось найти [Lennox E., 1980] только одну, которая реагировала с опухолью, взятой для иммунизации. Эта сыворотка была специфична после адсорбции. Селенка мыши, от которой получили специфическую сыворотку, была использована для получения моноклональных антител. Из 7 отобранных 5 клонов продуцировали антитела, специфичные к опухоли, а 2 клон — перекрестно реагирующие антитела с тремя другими опухолями, индуцированными МХА. Более интенсивная реакция, однако, была с опухолью, взятой для иммунизации.

Изучение антигенов опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, представляет большой интерес не только для экспериментальной онкологии, получившей несомненное доказательство роли некоторых химических агентов в возникновении злокачественных новообразований. Эти исследования свидетельствуют и о возможной роли химических агентов в происхождении опухолей человека. Антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, и антигены «спонтанных» опухолей человека являются слабо иммуногенными для организма хозяина — носителя опухоли. Как у онкологических больных, так и у животных — носителей опухолей, индуцированных химическими агентами, далеко не всегда удается обнаружить антитела к антигенам собственной опухоли. Однако от гетероиммунных животных обычно получают достаточно активные как поликлональные, так и моноклональные антитела, специфичные к новым антигенам.

Обнаружение в редких случаях антител к антигенам собственных опухолей, индуцированных химическими агентами, некоторые исследователи объясняют персистенцией вирусов в клетках опухолей. Носители опухолей вирусного происхождения содержат антитела как к вирусу, так и к новому, индуцированному им антигену. Наоборот, у носителей опухолей, индуцированных химическими агентами, и носителей опухолей «спонтанного» происхождения антител к новым антигенам, как правило, обнаружить не удастся. Новые антигены в опухолях, индуцированных химическими канцерогенами, и опухолях «спонтанного» происхождения характеризуются сравнительно узкой специфичностью.

Антигены опухолей, вызванных химическими веществами, как правило, индивидуально специфичны. Довольно узкой специфичностью обладают и новые антигены злокачественных новообразований человека (см. главу 9). Как показали П. Н. Косяков и В. С. Коростелева (1959), Р. П. Павлюченкова (1973), единого антигена, специфичного для всех опухолей человека, не существует. Есть опухоли, сходные в антигенном отношении, и опухоли, по этому признаку различающиеся. Сходство и различие антигенов опухолей человека не зависит от гистологической структуры опухолей и их локализации. Н. Корговски и соавт. (1979), применившие моноклональные гетероиммунные антитела, также обнаружили опухоли человека как со сходными, так и с различными анти-

генами. Вместе с тем следует отметить, что исследованные «спонтанные» опухоли человека не обладали столь узкой специфичностью, какая свойственна опухолям, индуцированным химическими канцерогенами. Среди «спонтанных» опухолей человека встречаются чаще новообразования со сходными антигенными свойствами, чем среди опухолей, индуцированных химическими канцерогенами у экспериментальных животных. Не исключено, что причиной этих различий являются вирусы, как онкогенные, так и вторично инфицировавшие человеческие опухолевые клетки.

Таким образом, опухоли, индуцированные химическими канцерогенами, и опухоли «спонтанного» происхождения имеют много общего. Они характеризуются низкой иммуногенностью для носителей опухолей и сравнительно узкой специфичностью ассоциированных с ними антигенов. Эта общность иммунологических свойств дает основание предполагать, что химические агенты играют не последнюю роль в происхождении некоторых злокачественных новообразований у человека.

Глава 8

ВИРУСИНДУЦИРОВАННЫЕ АНТИГЕНЫ

Вирусы, инфицируя клетки, могут изменять их морфологические, физиологические, генетические, а также биохимические и антигенные свойства. Проникая в клетку, вирус вносит в нее целый комплекс антигенов, входящих в различные структуры вириона. Помимо этого, в инфицированных клетках появляются и новые антигены, отличающиеся от антигенов как нормальной клетки, так и самого вируса. Новые антигены являются характерной особенностью опухолевых и трансформированных клеток, возникающих в результате инфицирования их ДНК- и РНК-содержащими онкогенными вирусами. Эти вирусы индуцируют целый ряд изменений в клетке, превращая ее из нормальной в клетку с новыми свойствами, вплоть до приобретения ею онкогенных потенций. Предполагают, что в онкогенезе участвует несколько вирусных функций. Наряду с морфологической конверсией трансформированные клетки обладают многими другими свойствами, обусловленными экспрессией различных вирусных функций. Достаточно хорошо установлено, что в хромосомах, трансформированных онкогенными вирусами клеток, содержится чужеродная для этих клеток генетическая информация данных вирусов, которая может проявляться в виде синтеза вирусспецифических информационно-РНК, новых антигенов в ядрах, цитоплазме или на поверхности клеток.

В отличие от опухолей, вызванных химическими агентами, с присущим им разнообразием индивидуальных антигенов во всех опухолях одной и той же вирусной природы содержатся одинаковые опухолеспецифические антигены. Опухоли, индуцированные вирусами, характеризуются наличием сильных антигенных специ-

«фичностей, которые «расцениваются» как чужеродные иммунной системой организма хозяина. В зависимости от локализации и других свойств различают следующие вирусиндуцированные антигены, появляющиеся в клетках в результате вирусного воздействия: трансплантационные, поверхностные, ядерные, околоядерные, цитоплазматические, ранние, неструктурные и др. Характеризуют ли эти названия один и тот же антиген, специфически детерминируемый вирусом, или один и тот же вирус индуцирует в клетках различные по своим свойствам антигены, — эти вопросы в настоящее время остаются еще недостаточно изученными. Вне зависимости от их решения все антигены, индуцируемые онкогенными вирусами, можно отнести к категории новых, поскольку они образуются в клетках *de novo*.

Вопрос о происхождении индуцированных онкогенными вирусами антигенов также еще не решен. По-видимому, доказана не-вирионная природа этих антигенов. Спорным является вопрос о том, чей геном, вируса или клетки, кодирует эти белки. К настоящему времени ряд исследователей высказываются в пользу вирус-кодируемого синтеза ранних белков, индуцируемых ДНК-содержащими онкогенными вирусами. Полагают, что генетическая информация о многих белках содержится в вирусном геноме, а сами эти белки представляют собой функциональные продукты онкогенов, например, гена А вирусов группы папова (SV40 и человеческих вирусов), гена *src* RSV и других трансформирующих генов ретровирусов. Для некоторых антигенов, например, для антигена Т SV40, pp60^{src} RSV и других, в опытах транскрипции — трансляции *in vitro* доказано, что они кодируются вирусными нуклеотидными последовательностями. Не исключено также, что новые антигены могут кодироваться геномом клетки-хозяина при наличии контроля за их экспрессией со стороны вирусного генома. Предполагают, что эти антигены могут представлять собой эмбриональные белки, появляющиеся в результате специфической вирусиндуцированной дерепрессии так называемых дремлющих эмбриональных клеточных генов [Comoglio P. et al., 1978; Bauer H. et al., 1979]. Так, R. Flügel и соавт. (1975) была высказана гипотеза, предполагавшая, что антиген Т SV40 является протеином клетки хозяина, модифицированным вирусспецифическим фактором R. Однако надо учесть, что сами понятия «белок, кодируемый клеткой», или «кодируемый вирусом» относительны, поскольку белок клетки хозяина в действительности может оказаться продуктом эндогенных вирусных последовательностей и, напротив, вирусный белок может иметь клеточное происхождение. Последнее утверждение основывается на открытии клеточных аналогов вирусных онкогенов и трансформационно-специфических белков некоторых ретровирусов.

Клеточные онкогены — это, как полагают, нормальные клеточные гены, играющие определенную роль в процессах роста и дифференцировки, которые, очевидно, могут включаться в состав вирусного генома. Существование клеточных аналогов онкогенов

и кодируемых ими белков, по-видимому, не ограничивается системой ретровирусов. Было высказано предположение, что участок ДНК, программирующий средний антиген Т вируса полиомы, возникает из района ДНК мышечной клетки, который кодирует клеточный средний антиген Т. Возможно предположить также существование клеточного эквивалента большого антигена Т SV40, поскольку было установлено, что моноклональные антитела к этому вирусспецифическому антигену перекрестно реагируют с белком размером в 68 000 дальтон из неинфицированных клеток [Lane D., 1980; Crawford L. et al., 1982].

Большой интерес к изучению вирусспецифических неструктурных или новых, антигенов, индуцированных вирусами, вызван тем, что они отражают такие изменения в опухолевых и трансформированных клетках, которые, по-видимому, тесно связаны с малигнизацией клеток. Эти антигены могут рассматриваться в качестве специфических генетических маркеров присутствия вирусного генома в опухолевых и трансформированных клетках, индуцированных определенными вирусами, и иметь, следовательно, важное диагностическое значение. Использование таких маркеров важно для выяснения роли вирусов в происхождении новообразований у человека. Новые антигены, локализованные на поверхности клетки, становятся мишенью, стимулирующей иммунный ответ организма на опухоль и, таким образом, участвуют в противоопухолевом иммунитете.

При трансформации вирусная ДНК (или ДНК-транскрипт у ретровирусов) интегрирует (т. е. встраивается) с ДНК клетки хозяина и, очевидно, отвечает за обусловленную вирусами трансформацию. Однако не весь вирусный геном необходим для трансформации. Для ДНК-содержащих онкогенных вирусов предполагают, что вызываемые ими неопластические изменения обуславливаются либо интеграцией минимального набора вирусных последовательностей, необходимых для трансформации (онкогенные последовательности), либо транскрипцией ранних вирусных генов при репрессии остальной части генома. У некоторых вирусов (SV40, вирус полиомы, ретровирусы, вирусы герпеса) идентифицированы онкогенные последовательности и кодируемые ими белковые продукты, отвечающие за канцерогенез. К числу наиболее вероятных «кандидатов» в трансформирующие белки следует отнести продукты онкогенов ретровирусов (в частности, pp60^{src} RSV, p120 Ab-MULV и др.), средний антиген Т вируса полиомы, большой антиген Т SV40.

Большой антиген Т SV40 относится к белкам, имеющим сродство к ДНК. Он стимулирует синтез клеточной ДНК в непермиссивных и трансформированных клетках [Butel J., Soule H., 1978]. Не исключено, что это свойство антигена является решающим для установления состояния трансформации. Кроме того, большой антиген Т SV40 наряду со средним антигеном Т вируса полиомы, а также pp60^{src} RSV являются фосфорилированными белками. А процессам фосфорилирования, по мнению многих исследовате-

лей, принадлежит решающая роль в патогенезе злокачественной трансформации. При этом, очевидно, имеет значение фосфорилирование самих трансформационно-специфических белков (за счет ассоциированной с ними протеинкиназной активности — аутофосфорилирования или с помощью других белков) и клеточных белков-мишеней. Фосфорилирование может быть одним из механизмов, регулирующих биологическую активность антигена Т. Выявлена прямая зависимость между степенью фосфорилирования антигена Т SV40 и прочностью его связывания с ДНК клетки хозяина, а также между степенью фосфорилирования среднего антигена Т вируса полиомы и скоростью опухолевого роста. Средний антиген Т вируса полиомы и pp60^{src} RSV, а также другие трансформирующие белки многих ретровирусов ассоциированы с тирозинспецифической протеинкиназной активностью. В качестве предполагаемого субстрата для ассоциированной с pp60^{src} протеинкиназы называют белок цитоскелета — винкулин, белки 36 К (К — килодальтон) и 50 К, образующий комплекс с pp60^{src} RSV L. Lipsich и соавт. (1982) показали ассоциацию трансформирующих белков ретровирусов птиц RSV, FSV и Y73 с белками 50 К и 90 К клетки хозяина, которые, возможно, участвуют в развитии трансформации. В нормальных клетках белок 50 К обнаруживается в малых количествах и представлен формой pp50B, тогда как в трансформированных этими вирусами клетках появляется дополнительная форма pp50A.

Белок 50 К клетки хозяина вызывает особый интерес, поскольку он сходен или идентичен клеточному белку 53-54 К, который ассоциирован с ДНК-связывающими вирусиндуцированными белками: антигеном Т SV40, ядерным антигеном EBNA вируса Эпштейна—Барр (ВЭБ). Небольшое количество этого белка содержится в нормальных клетках, однако SV40 увеличивает его синтез во много раз [Linzer D. et al., 1979]. Е. Harlow и соавт. (1981) установили, что белок 53 К образует комплекс с большим антигеном Т не только в непермиссивных и трансформированных SV40 клетках, но и при литической инфекции SV40 в клетках обезьян. Инфицирование SV40 ведет к повышению синтеза клеточного белка 53 К и степени его фосфорилирования. М. Santos и J. Butel (1982) обнаружили комплекс антигена Т SV40 с белком 53 К на поверхности трансформированных вирусом клеток, что может оказаться немаловажным фактором для трансформации клеточной мембраны.

Участие трансформационно-специфических белков в иммунном надзоре не бесспорно. Например, для трансформирующих белков вируса полиомы и SV40 такая возможность не исключается. Полагают, что они могут функционировать в качестве трансплантационных антигенов.

Сведения об иммуногенных свойствах трансформирующих белков ретровирусов довольно противоречивы. Поскольку pp60^{src} RSV локализован, по-видимому, не только в цитоплазме и на внутренней стороне мембраны, как полагали ранее, но и на наружной

поверхности клетки то, следовательно, он потенциально иммуногенен. Имеются данные о том, что некоторые фракции р120 (трансформирующего белка вируса лейкоза мышей Абельсона) находятся на поверхности трансформированных этим вирусом клеток. Была получена сыворотка, реагирующая с уникальной частью этого белка; она вызывала регрессию сингенных опухолей у мышей.

В отличие от внутриклеточных трансформационно-специфических белков поверхностные вирусиндуцированные опухолеспецифические антигены (антигены S или TSSA и трансплантационные антигены TSTA), бесспорно, делают клетку чужеродной для организма, превращая ее в мишень, на которую направлена система иммунной защиты хозяина (иммунный надзор). Примерами таких антигенов могут служить LYDMA ВЭБ и FOCMA, индуцируемый ретровирусами кошек (FeSV и FeLV). Последний стимулирует образование у кошек-опухоленосителей антител, вызывающих регрессию развития опухолей.

Однако, если биологическая роль поверхностных опухолеспецифических антигенов несомненно заключается в индукции противоопухолевой защиты, то вопрос их участия в онкогенезе остается нерешенным.

Наряду с изменениями в геноме клетки важным моментом в вирусном канцерогенезе являются, очевидно, вирусиндуцированные мембранные изменения, т. е. трансформация мембраны, выражающаяся в появлении новых антигенов. Поверхностные вирусиндуцированные антигены тесно ассоциированы с трансформацией клеток вирусами и, возможно, являются ее непосредственной причиной.

G. Klein (1971) предположил, что трансформация — это результат включения кодируемого вирусом продукта в мембрану клетки. P. Comoglio (1977) придерживается мнения о том, что трансформация клеточной мембраны под действием вируса происходит в результате конформационных изменений структуры белка. Г. И. Дейчман (1969) полагает, что онкогенная активность и способность индуцировать в клетке синтез TSTA относятся к разным вирусным функциям. Позднее Г. И. Дейчман и Т. Е. Ключарева (1978) получили результаты, которые свидетельствуют об отсутствии прямой зависимости между злокачественной трансформацией клеток SV40 и экспрессией на клеточной мембране TSTA. Клетки хомяка, трансформированные диким штаммом SV40 (TSTA-позитивные клетки), характеризовались такой же степенью злокачественности, как и TSTA-негативные клетки, трансформированные температурочувствительным (ts) А-мутантом SV40.

Новые антигены, индуцированные онкогенными аденовирусами и паповавирусами

Наиболее полно изучены новые антигены, индуцированные ДНК-содержащими онкогенными вирусами: аденовирусами и па-

повавирусами (SV40 и паповавирусы человека JC и PML, которые были выделены из мозговой ткани больных прогрессивной множественно-очаговой лейкоэнцефалопатией; вирус BK, выделенный из мочи больных, перенесших трансплантацию почки, и др.). Опухولةассоциированные антигены, индуцируемые онкогенными ДНК-содержащими вирусами, — это невирионные белки, очевидно, кодируемые вирусным геномом и появляющиеся при трансформации и на ранних стадиях продуктивной инфекции. Эти антигены представляют собой ранние белки, так как их синтез не зависит от репликации вирусной ДНК.

В трансформированных *in vitro* клетках и опухолевых клетках, индуцированных вирусом полиомы и аденовирусами, не происходит репликации вирусной ДНК, синтеза структурных белков и продукции инфекционных вирусных частиц. Однако эти клетки содержат почти весь вирусный геном, интегрированный с геномом клетки, а также продукты экспрессии отдельных вирусных генов в виде тех или иных вирусспецифических белковых компонентов. Исключением являются опухоли хомяков, индуцированные SV40, которые освобождают вирус в низком титре. Интеграция вирусных геномов с клеточным геномом была доказана на моделях трех групп ДНК-содержащих онкогенных вирусов: паповавирусов, аденовирусов и вирусов герпеса [Martin M., Khoury G., 1976]. О персистенции вирусного генома в опухолевых или трансформированных онкогенными вирусами клетках свидетельствует нахождение в них ранних вирусиндуцированных белков. В клетках, трансформированных ДНК-содержащими вирусами, функционируют ранние районы генома, детерминирующие образование ранних антигенов. Роль этих антигенов при продуктивной инфекции и канцерогенезе не вполне расшифрована. Если для одних антигенов доказано, в основном, их участие в трансформации клетки, то в отношении других антигенов таких сведений нет.

В опытах с делеционными мутантами при помощи рестриктивных эндонуклеаз для SV40 и других вирусов этой группы было установлено, что ранний участок их генома — ген А, интегрированный с хромосомами клеток хозяина, контролирует синтез новых антигенов: внутриядерного опухолевого антигена Т, околоядерного антигена U, TSTA и поверхностных антигенов S [Brugge J., Butel T., 1975; Osborn M., Weber K., 1975; Tegtmeyer P., 1975; Tevethia M., Tevethia S., 1975; Kelly T., Nathaus D., 1977]. Антиген Т является основным продуктом гена А SV40 [Tegtmeyer P. et al., 1975].

Антиген Т был открыт R. Huebner и соавт. еще в 1963 г. и назван опухолевым (tumor), так как впервые был обнаружен в клетках опухолей. Авторы выявили, что антиген Т возникает в клетках опухолей хомяков, индуцированных некоторыми вариантами аденовирусов человека. Этот антиген был также обнаружен в клетках опухолей, индуцированных вирусом полиомы, и в трансформированных этим вирусом клетках хомяка и мыши [Defendi V., 1964; Habel K., 1965]. Аналогичные результаты были получены многими авторами в опытах с различными животными на модели SV40 [Rapp F., 1964; Pope J., Rowe W., 1964; Black P. et al., 1976, и др.].

Р. Black и соавт. (1976) выявили отличие по физико-химическим свойствам опухолевого антигена от вирионных антигенов SV40. Так, опухолевый антиген инактивировался нагреванием при 50—56° С в течение 30 мин, тогда как вирусный антиген в этих условиях сохранял активность. Кроме того, эти антигены различались и по седиментационным характеристикам.

Антиген Т выявляется с помощью реакций непрямо́й иммунофлюоресценции, преципитации в геле, РСК, иммунопероксидазного окрашивания, цитотоксическим тестом при использовании сывороток крови животных с опухолями, вызванными соответствующими вирусами. М. Cikes и соавт. (1977) для изучения антигена Т разработали и применили количественный микрометод фиксации комплемента, основанный на определении степени гемолиза меченных ^{51}Cr индикаторных эритроцитов. D. Lane и соавт. (1976) исследовали антиген Т SV40 радиоиммунологическим методом. С помощью непрямо́й иммунофлюоресценции J. Pore и соавт. (1964, 1976) обнаруживали антиген Т SV40 в ядрах различных клеток, трансформированных этим вирусом. Однако в последующие годы было показано, что этот антиген локализуется не только в ядерной фракции, но и во фракции клеточных мембран трансформированных вирусом клеток хомячков и мышей и инфицированных этим вирусом клеток обезьян [Soule H., Butel J., 1979].

Иммунологически сходные антигены Т появляются в клетках различных видов, инфицированных определенным вирусом. Еще в 1964 г. R. Huebner показал, что эти антигены, индуцированные аденовирусами человека серотипов 12, 18 и 31, не дают перекрестных реакций с антигенами Т, индуцированными SV40 и вирусом полиомы. Это свидетельствует о строгой специфичности опухолевых антигенов в отношении вируса. А. Sabin и М. Koch (1964) установили, что антиген Т появляется не только в опухолевых и трансформированных вирусом клетках, но и в клетках на ранних стадиях острой литической инфекции. Этот антиген обнаруживался в культуре клеток почки и легкого эмбриона человека, а также почки обезьяны при продуктивной инфекции SV40, однако в гораздо более низких титрах, чем в клетках опухолей. Синтез антигена Т при литическом цикле начинается рано и происходит до начала репликации вирусной ДНК и образования структурных вирусных белков. F. Rapp и соавт. (1976) с помощью метода иммунофлюоресценции показали, что антиген Т SV40 появляется через 12 ч после инфицирования этим вирусом пермиссивных обезьяньих клеток. При литическом цикле на поздних этапах данный антиген не синтезируется.

Использование метода специфической иммунопреципитации с последующим анализом иммунного комплекса в SDS-полиакриламидном геле (PAGE) способствовало дальнейшему изучению свойств антигенов Т [Tegtmeier P., 1975]. R. Carrol и соавт. (1976) выделили антиген Т из клеток мышей линий Balb/c, 3T3, трансформированных SV40. Молекулярная масса этого антигена составила 90 000 дальтон. Далее было найдено, что антиген Т

SV40, выделенный из различных клеток, имеет неодинаковую молекулярную массу: 94 000 — из клеток мыши и хомяка, 85 000 — из обезьяньих клеток [Carrol R., Smith A., 1976]. По данным С. Prives и соавт. (1978), молекулярная масса антигена Т, выделенного из пермиссивных клеток, составляет от 80 000 (клетки CV, Vero) до 90 000 (клетки AGMK, BSC-1). D. Simmons и соавт. (1978) сообщили, что антиген Т, индуцированный SV40 как в трансформированных, так и в продуктивно-инфицированных клетках, имеет одну и ту же молекулярную массу — 97 000, в трансформированных человеческим вирусом ВК клетках — 113 000, в литически инфицированных этим вирусом клетках — 97 000, хотя различий в пептидном составе этих белков авторы не нашли. Согласно другим данным, антигены Т из обезьяньих клеток Vero, зараженных вирусом ВК, и из трансформированных вирусом клеток имели одинаковую молекулярную массу — 86 000 [Farrel M. et al., 1978]. Следовательно, антигены Т SV40 и ВК незначительно различаются по размерам молекул в зависимости от вида клеток хозяина и методов их идентификации.

Используя антисыворотку к Т-антигену вируса полиомы, J. Ito (1976, 1977) удалось показать, что этот антиген обладает одинаковой молекулярной массой (100—108 000) как при литической инфекции, так и в трансформированных вирусом клетках.

На модели человеческого аденовируса типа 12 высоко онкогенной группы А было показано, что экспрессия гена 401 необходима для поддержания трансформированного фенотипа клеток и для синтеза вирусной ДНК при литической инфекции. В трансформированных этим вирусом клетках был найден белок с молекулярной массой 60 000, по-видимому, ответственный за клеточную трансформацию. Этот белок осаждался анти-Т-сывороткой от хомяков — носителей опухолей, индуцированных вирусом дикого типа H12, но не преципитировался нормальной сывороткой [Ledinco N., 1978]. В настоящее время имеются экспериментальные доказательства того, что антиген Т SV40 кодируется непосредственно вирусом. Антиген Т SV40, синтезированный *in vitro* в бесклеточной системе на матрице иРНК с константой седиментации 17—18S (из инфицированных или трансформированных SV40 клеток), преципитировался антисывороткой к антигену Т и имел молекулярную массу (при определении методом иммунопреципитации и SDS-PAGE) 94 000 дальтон, т. е. такую же, как и антиген Т, полученный из трансформированных вирусом клеток [Paucha E., 1976].

В бесклеточной системе *in vitro* в результате прямой трансляции ранней иРНК, выделенной из инфицированных SV40 клеток, были синтезированы белковые молекулы двух классов [Prives C., 1978]. Их обозначили как большой антиген Т с молекулярной массой 90 000—100 000 (в среднем 92 000) и малый антиген t с молекулярной массой 17 000—20 000 дальтон [Prives C. et al., 1977; Crawford L. et al., 1978]. Итак, стало известно, что обозначенный ранее как опухолевый (tumor) антиген Т в действительности состоит из нескольких компонентов.

О наличии вирусного генома или его части в опухолевых и трансформированных клетках, кроме антигена Т, свидетельствует появление в них TSTA, которые, как и антиген Т, отличаются от антигенов, входящих в структуру вирионов, и от антигенов нормальных клеток. TSTA — трансплантационные поверхностные антигены с высокой иммуногенной активностью. К настоящему времени известны два вида поверхностных антигенов: TSTA и S. Однако это могут быть идентичные антигены, обнаруживаемые с помощью различных методик.

Трансплантационный антиген ответственен за феномен специфического трансплантационного иммунитета у иммунокомпетентных хозяев. Феномен заключается в том, что в случае иммунизации животных онкогенным вирусом они становятся устойчивыми к последующей прививке им клеток опухолей, трансформированных этим же, но не каким-либо другим вирусом. Трансплантационный иммунитет строго специфичен в отношении вируса, а не клетки. Индуцировать противоопухолевую резистентность у животных можно не только путем введения им онкогенного вируса, но и иммунизацией их живыми или убитыми опухолевыми клетками, индуцированными гомологичным вирусом. Трансплантационный антиген синтезируется в клетках *de novo*, являясь ранним вирусиндуцированным белком. Тот факт, что инактивированный нагреванием вирус не вызывает образования антигена трансплантационного типа, свидетельствует о его индукции вирусом. В связи с этим иммунизация животных убитым вирусом не приводит к возникновению у них специфической резистентности к последующему введению клеток соответствующих опухолей.

Доказательства в пользу существования TSTA впервые были получены на модели вируса полиомы. Было показано, что мыши и хомяки, иммунизированные этим вирусом, приобретают специфическую резистентность к последующей прививке им клеток опухолей, индуцированных вирусом полиомы [Sjögren H., 1961; Habel K., 1961]. С этими результатами согласуются данные, полученные при изучении SV40 и некоторых типов аденовирусов. В опытах некоторых исследователей показана возможность создания трансплантационного иммунитета SV40 [Defendi V., 1963; Habel K., Eddy B., 1963; Koch M., Sabin A., 1963]. Несколько позднее был найден трансплантационный антиген, специфичный для опухолеродных вариантов аденовирусов человека [Trentin J., Bryan E., 1964]. H. Sjögren и I. Hellström (1967) на модели вируса полиомы и человеческого аденовируса серотипа 12 убедительно показали, что трансплантационные антигены, индуцируемые гомологичными вирусами в клетках разных видов животных, полностью идентичны. Антигены, синтезирующиеся в результате инфицирования родственными, но не идентичными вирусами, дают перекрестные реакции. Так, перекрестно реагируют трансплантационные антигены опухолей, вызванных аденовирусами человека серотипов 3, 7, 12, 14 и 18. Однако опухоли, индуцированные од-

ним и тем же вирусом, наряду с общими антигенами могут иметь и индивидуальную антигенную специфичность.

В отличие от TSTA антигены S обнаруживаются на поверхностных мембранах трансформированных вирусами клеток с помощью методов, осуществляемых *in vitro* (цитотоксический тест, реакция иммунофлюоресценции, смешанная гемадсорбция и др.). S. Tevethia и соавт. (1965) впервые обнаружили антиген, специфичный для SV40, на поверхности трансформированных клеток непрямой метод иммунофлюоресценции. Антигены S появляются в клетке одновременно с TSTA. Например, антиген S, индуцированный SV40 в литически инфицированных клетках, появляется рано, уже через 1—2 ч после инфицирования и его уровень достигает максимума к 6 ч. J. Ito и соавт. (1977) сообщили о нахождении на плазматической мембране инфицированных вирусом полиомы клеток, нескольких ранних вирусспецифических белков с молекулярной массой 63 000, 55 000 и 28 000, которые реагировали с антисывороткой к антигену Т вируса полиомы. Это указывает на родство между антигенами S и внутриядерными антигенами Т. Однако мутант вируса hrt Ng/18 с делецией в ранней области вирусного генома не индуцировал образования названных выше белков при наличии синтеза ядерного антигена Т. Было высказано предположение о возможной роли в трансформации клеток обнаруженных вирусспецифических мембранных белков.

Невыясненным остается вопрос, все ли ранние вирусиндуцированные антигены непосредственно кодируются вирусным геномом? В отношении TSTA, антигенов U и S предполагают, что они могут представлять собой либо продукты расщепления высокомолекулярного антигена Т [Osborn M., Weber R., 1975], либо индуцированные вирусом белки, кодируемые геномом клетки, либо, наконец, какие-то другие антигенные детерминанты, расположенные на одной и той же с Т-антигенной детерминантой белковой молекуле. Для TSTA нет прямых доказательств того, что он кодирован вирусным, а не клеточным геномом. M. Tevethia (1977), а также другие исследователи [Anderson J. et al., 1976; Chang C. et al., 1977a] использовали ts-A-мутанты SV40 для выяснения роли вирусного генома в экспрессии вирусспецифического трансплантационного антигена. Авторы пришли к заключению, что экспрессия TSTA в инфицированных SV40 клетках находится под контролем гена А. Но ген А кодирует большой антиген Т и, следовательно, между этим антигеном и TSTA возможно антигенное родство. Ограниченное количество генетической информации для кодирования ранних белков SV40, насчитывающее 2500 пар оснований [Fiers W. et al., 1978; Reddy V. et al., 1978], дает основание предположить возможность антигенного родства между всеми ранними антигенами SV40. Так, установлена частичная гомология последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих большой антиген Т и малые антигены t. Однако показано, что их трансляция происходит с разных иРНК длиной в 2200 и 2500 нуклеотидов [Crawford L. et al., 1978; Paucha E. et al., 1978; Simmons D. et al.,

1978; Smith A. et al., 1978; Volckaert G. et al., 1978]. В пользу иммунологического родства TSTA и антигенов S и T свидетельствуют также данные о том, что очищенный большой антиген T может создавать трансплантационный иммунитет у животных к прививке им опухолевых клеток, индуцированных SV40 [Chang C. et al., 1979; Tevethia S., Tjian R., 1979]. Кроме того, антисыворотка к очищенному антигену T способна реагировать с опухолеспецифическим поверхностным антигеном из инфицированных и трансформированных SV40 клеток [Anderson J. et al., 1977; Luborsky S. et al., 1978]. Кроме того, антигены T и TSTA обладают некоторыми сходными признаками: оба связываются с ДНК [Chang C. et al., 1977] и могут быть совместно очищены с помощью разных методов [Chang C. et al., 1977, 1979].

R. Lanford и J. Butel (1979) удалось получить антисыворотку к очищенному методом иммунопреципитации большому антигену T SV40 и показать, что она хорошо реагирует с каждым из известных ранних белков этого вируса. Так, анти-T-сыворотка давала реакцию иммунопреципитации как с большим, так и с малым антигеном t, а также взаимодействовала в реакции иммунофлюоресценции с антигенами T, U и S [Carrol R. et al., 1978; Lane D. et al., 1978; Lanford R., Butel J., 1979]. Это указывает на антигенное родство различных продуктов раннего гена SV40 и, таким образом, подтверждает вирусспецифическую природу каждого из этих антигенов. Не исключено также, что при локализации основной порции молекул большого антигена T в ядрах клеток некоторые его фракции могут присутствовать на клеточной поверхности [Soule H., Butel J., 1979; Dubbs D. et al., 1980; Henning R. et al., 1980; Soule H. et al., 1980; Deppert W., Walter G., 1982]. H. Soule и J. Butel (1979), H. Soule и соавт. (1980) с помощью иммунофлюоресцентного метода определили родственные антигену T молекулы на поверхностных мембранах живых клеток хомячка и мыши, трансформированных SV40 и инфицированных вирусом клеток обезьяны. W. Deppert и R. Pates (1979), W. Deppert и R. Henning (1980) с помощью иммунофлюоресценции обнаружили белок, родственный антигену T SV40, на поверхности клеток HeLa, инфицированных гибридами адено-SV40. Авторы наблюдали поверхностное свечение при применении сывороток от кроликов, иммунизированных очищенным препаратом SDS-денатурированного антигена T, но не сывороток от хомячков-опухоленосителей.

В работе J. Lange-Mutschler и соавт. (1981) также сообщалось о присутствии на поверхности трансформированных SV40 клеток белков, родственных антигену T этого вируса. Авторы использовали иммунофлюоресцентный метод и более чувствительный радиоиммунологический метод *in situ*. С помощью второго метода им удалось обнаружить родственные антигену T молекулы на наружной стороне плазматической мембраны клетки при использовании сыворотки крови хомячков-опухоленосителей, а также кроличьей анти-T-сыворотки. Данные работы подтверждают гипоте-

зу, согласно которой некоторые детерминанты большого антигена Т или близкородственные антигены, возникающие на поверхности трансформированных SV40 клеток, участвуют в формировании TSTA. Таким образом не исключено, что антиген Т наряду с TSTA обладает иммуногенными свойствами и способен индуцировать отторжение опухолевого трансплантата. Действительно, было показано, что очищенный большой антиген Т индуцирует иммунный ответ у животных [Chang C. et al., 1979; Tevethia S., Tjian R., 1979]. R. Schmidt-Ullrich и D. Wallach (1980) выявили белок 100 К на плазматической мембране трансформированных SV40 клеток хомяков, перекрестно реагирующий с ядерным антигеном Т. Авторы полагают, что большой антиген Т, модифицированный клеткой хозяина, может выполнять функции TSTA.

Показано, что при продуктивной инфекции SV40 антиген Т инициирует репликацию вирусной ДНК и осуществляет контроль за транскрипцией ранней иРНК. Большой антиген Т SV40 — это фосфорилированный белок, имеющий сродство к ДНК [Rundell K. et al., 1977; Tegtmeyer P. et al., 1977]. Антиген Т, а точнее его подкласс 14—16 S специфически взаимодействует с точкой начала репликации ДНК SV40 и неспецифически связывается с другими невирусными ДНК. Причем чем выше степень фосфорилирования антигена Т, тем больше его сродство к ДНК [Montenarh M. et al., 1980, 1982; Scheller A. et al., 1982]. Считают, что антиген Т может закрывать промотор ранней иРНК и, таким образом, ингибировать транскрипцию ранних генов SV40 [Alwine J. et al., 1977; Birkenmeier E. et al., 1979].

При abortивном инфекционном цикле и в опухолевых клетках этот антиген синтезируется постоянно. Благодаря экспериментам с ts-A-мутантами SV40 с мутацией в области гена А было установлено, что в непермиссивной системе функция этого гена необходима для индукции и поддержания состояния трансформации [Tegtmeyer P., 1975]. Видимо, весь ранний участок генома SV40 необходим для экспрессии трансформированного фенотипа. Однако основным белком, индуцирующим опухолевый рост, является большой антиген Т [Seif R., Cuzin F., 1977]. Было предположено, что малый антиген t может выполнять роль опухолевого промотора [Seif R., Martin R., 1980]. Имеются также сведения, что антиген Т индуцирует синтез хозяйской клеточной ДНК в непермиссивных и трансформированных клетках [Chou J., Martin R., 1975; Butel J., Soule H., 1978; Hiscott J., Defendi V., 1981; Christensen J., Brockman W., 1982]. В клетках, трансформированных ts-A-мутантами, при переходе к непермиссивной температуре наблюдалось снижение процессов синтеза ДНК и клеточного деления. J. Stringer (1982) получил мутант SV40, дефектный по синтезу вирусной ДНК, но способный трансформировать клетки, что свидетельствовало о независимости различных биологических функций антигена Т.

Ранние области геномов SV40 и вируса полиомы в значительной степени родственны и кодируют большой и малый антигены

Т. В дополнение к этим двум белкам вирус полиомы кодирует еще один ранний белок — средний антиген Т (55 К), который не был найден в системе SV40 [Ito J., 1980]. D. Simmons и C. Chang (1977) обнаружили, что ранний район генома вируса полиомы кодирует по крайней мере три белка, синтезирующихся в трансформированных клетках и на ранних стадиях инфекционного цикла. Эти белки имеют молекулярную массу 105 000, 63 000 и 20 000, т. е. соответственно большой, средний и малый антигены Т. Эти белки сходны (по данным пептидного анализа) и имеют общий NH₂-конец и разные COOH-концы. Все три белка синтезируются в результате сплайсинга и частичного смещения рамки считывания одной и той же нуклеотидной последовательности. В отличие от системы SV40 для индукции и поддержания неопластической трансформации вирусом полиомы необходимы районы генома, кодирующие средний и малый антигены Т, тогда как присутствие большого антигена Т не является обязательным для поддержания трансформированного фенотипа. Главный трансформирующий белок — это, по-видимому, средний антиген Т [Ito J. et al., 1980; Seif R., 1980]. Кроме того, он ассоциирован с тирозин-специфической протеинкиназной активностью, подобно трансформирующим белкам многих ретровирусов (pp60^{src} RSV, p120 A-MuLV и др.). Возможно, что решающая роль всех трансформационно-специфических белков в индукции и поддержании онкогенеза обусловлена ассоциированной с ними протеинкиназной активностью и фосфорилированием с ее помощью клеточных белков-мишеней.

Средний антиген Т находится преимущественно (около 85%) во фракции плазматических мембран в трансформированных клетках мыши. J. Ito (1980) считает, что он является трансмембранным белком, часть молекулы которого располагается с наружной стороны плазматической мембраны трансформированной клетки, и таким образом, может действовать в качестве TSTA, индуцируя защитные реакции со стороны иммунной системы организма хозяина [Ito J., 1977, 1979, 1980]. Однако T. Dalianis и соавт. (1982) сообщили, что средний антиген Т вируса полиомы не необходим для индукции иммунного ответа. Авторы исходили из того, что у мышей, иммунизированных hrt-мутантами вируса, дефектными по способности индуцировать полноразмерный средний антиген Т, можно было создать трансплантационный иммунитет. При этом авторы указывают на вероятность клеточного происхождения TSTA. В. Schaffhausen и соавт. (1982) пришли к заключению о том, что средний антиген Т локализован на внутренней стороне плазматической мембраны, так как он фосфорилировался только после кратковременной обработки клеток неионным детергентом NP40, способствующим увеличению их проницаемости. Таким образом, вопрос о значении среднего антигена Т вируса полиомы в противоопухолевом иммунитете остается пока нерешенным.

Сравнительно недавно стали изучать антигены Т, ассоциированные с папавирусами человека. Было найдено, что имеется

частичная гомология между геномами человеческих паповавирусов и SV40. Так, по данным G. Khougy и соавт. (1977), вирусы BK и SV40 имеют 10—20% общих нуклеотидных последовательностей. M. Fiori и G. di Mayorka (1976) с помощью чувствительного метода кинетики реассоциации установили еще большую (до 40%) степень гомологии последовательностей нуклеиновых кислот у человеческих вирусов BK, JC и обезьяньего вируса SV40. У всех этих вирусов находят явные различия в структурных белках, однако индуцируемые ими вирусспецифические антигены Т иммунологически сходны и перекрестно реагируют в РСК, иммунофлюоресцентном и иммунопероксидазном тестах [Takemoto K., Mullarkey M., 1973; Doucherty R., 1976; Takemoto K. et al., 1976]. Методом иммунопреципитации с последующим электрофорезом в SDS-полиакриламидном геле установлено, что эти антигены Т не отличаются друг от друга, хотя пептидный состав антигена Т, синтезирующегося в клетках, инфицированных человеческим вирусом BK, не идентичен таковому антигена Т клеток, инфицированных SV40 [Rundell K., Tegtmeyer P., 1977].

Для установления степени антигенного родства между Т-антигенами, индуцированными паповавирусами человека, и SV40, был применен количественный микрометод фиксации комплемента с использованием радиоактивного хрома (^{51}Cr -РСК) [Beth E. et al., 1977]. Полученные результаты позволили прийти к выводу о существовании различных Т-антигенных детерминант — как типоспецифических, так и перекрестно реагирующих межвидоспецифических. По полученным данным, антигены Т вирусов JC и BK содержат ~20% перекрестно реагирующих антигенных детерминант, общих с таковыми антигена Т SV40. С этими данными согласуются результаты изучения антигенов Т с помощью гибридных антител. В результате соматической клеточной гибридизации были получены гибриды клеток мышинной миеломы с клетками селезенки мышей, иммунизированных трансформированными SV40 клетками. Эти гибридные клеточные культуры продуцировали антитела, специфичные для антигена Т SV40. Однако лишь 4 из 12 гибридных культур синтезировали антитела, перекрестно реагирующие с антигеном Т человеческого вируса BK, тогда как большинство антител узнавали лишь антиген Т SV40. Из этого следует, что только некоторые антигенные детерминанты являются общими для антигена Т SV40 и вируса BK, другие же уникальны для антигена Т SV40 [Martinis J., Groce C., 1978].

Помимо вирусиндуцированных антигенов Т экспериментальных систем, представляет большой интерес изучение антигена Т SV40 и родственных ему вирусов BK, JC и других в опухолях человека. Имеются сообщения об обнаружении специфических антигенов SV40 в человеческих опухолях. Вирусные частицы и антиген Т SV40 были найдены в клетках метастазов в легкое, печень и мышцы злокачественной меланомы при обнаружении у этого же больного антивирусных и анти-Т-антител [Soriano F. et al., 1974]. A. Weiss и соавт. (1975) с помощью непрямой иммунофлюорес-

ценции выявили антигены Т и U SV40 в ядрах культивируемых *in vitro* клеток менингиом человека в 3 из 7 случаев. К. Tabuchi и соавт. (1978) с помощью иммуноцитохимических методов (прямой и непрямой иммунопероксидазные тесты) исследовали опухоли мозга человека на присутствие в них антигена Т SV40. В 2 из 39 опухолей наблюдалось положительное ядерное окрашивание на антиген Т при отсутствии в клетках вирионных антигенов SV40. Эти наблюдения подтвердили G. May и соавт. (1978), S. Scherneck и соавт. (1979), E. Geissler и соавт. (1980), W. Zimmermann и соавт. (1981). G. May и соавт. обнаружили экспрессию антигена Т SV40 в 6 из 16 менингиом. E. Geissler и соавт. выявили антиген Т в 15 из 45 менингиомах и в одной из 7 глиобластом. W. Zimmermann и соавт. в 3 из 5 клеточных культур, полученных из менингиом человека, выявили ассоциированный с SV40 антиген Т, тогда как вирусный капсидный антиген SV40 не обнаруживался ни в одной культуре.

Однако L. Becker и соавт. (1976) не удалось найти антиген Т в ядрах клеток 29 исследованных опухолей мозга человека с помощью реакции иммунофлюоресценции, возможно, за счет меньшей чувствительности этой реакции по сравнению с иммунопероксидазным тестом. Кроме того, многим другим исследователям также не удалось обнаружить ассоциированный с SV40 антиген Т в различных опухолях мозга человека [Merletti L. et al., 1976; Cikes M. et al., 1977; Israel M. et al., 1978; Takemoto K., 1978].

Таким образом, сведения об ассоциации вирусов группы паппова со злокачественными новообразованиями человека весьма противоречивы. Тем не менее на основании изложенных выше фактов может быть высказано предположение о существовании связи между возникновением опухолей и присутствием в них генетической информации SV40. Отсюда вытекает, что в последнее время антиген Т приобретает большое значение как маркер «ракового риска». Вместе с тем, как считают некоторые исследователи, использование антигена Т с этой целью, по-видимому, все-таки ограничено, учитывая влияние на его экспрессию многих факторов, в первую очередь генетических [Blattner W. et al., 1978].

Новые антигены, индуцированные вирусами герпеса

Герпесвирусы представляют особый интерес, поскольку они наиболее часто ассоциированы со злокачественными новообразованиями человека. Вопрос, касающийся этиологической роли вируса Эпштейна—Барр (ВЭБ) в возникновении у человека лимфомы Беркитта и назофарингеальной карциномы, а также вируса простого герпеса (HSV) серотипов 1 и 2 в развитии раковых опухолей носоглотки, шейки матки у женщин и ряда других новообразований, пока не решен и требует дальнейшего изучения [Melnick J. et al., 1974; Choi N. et al., 1977]. В настоящее время ВЭБ, безусловно, считается одним из самых реальных кандидатов в опухолевые вирусы человека.

Поскольку получить прямые доказательства в пользу этиологической роли герпесвирусов в онкогенезе у человека не представляется возможным, косвенным подтверждением этому служит выявление последовательностей нуклеиновых кислот этих вирусов в клетках опухолей, а также вирусспецифических антигенов и иммунного ответа на них у онкологических больных.

Вирусы герпеса обычно вызывают латентные инфекции у человека, протекающие без видимых клинических симптомов. Персистенция вирусного генома в клетке может привести к его интеграции с геномом клетки хозяина, что, возможно, и определяет переход к злокачественной трансформации [Frenkel N. et al., 1972, 1976; Aurelian L., 1974; Rapp F., 1974].

Полагают, что не весь вирусный геном необходим для злокачественной трансформации, а только порция генома (онкогенные последовательности) с экспрессией по крайней мере двух ранних вирусных функций: обеспечивающей как инициацию трансформации, так и поддержание трансформированного фенотипа [Manak M. et al., 1981]. W. Mark и B. Sugden (1982) установили, что для инициации и поддержания трансформации В-лимфоцитов достаточно присутствие всего лишь около 25% генома ВЭБ. Возможность интеграции геномов вирусов герпеса в ДНК клетки хозяина в основном не вызывает сомнений [Nonoyama M., Pagano J., 1971; Nazerian K. et al., 1973; Zur Hausen H. et al., 1975; Fleckenstein B. et al., 1977]. Однако роль интеграции вирусного генома с ДНК клетки в развитии злокачественной трансформации остается не вполне ясной. Неизвестно, что же происходит в действительности — интеграция полного генома с частичной транскрипцией вирусной информации или интеграция отдельных фрагментов вирусной ДНК. Имеет ли при этом значение количество интегрированных ДНК-эквивалентов в клетке? На все эти вопросы однозначных ответов еще не получено. Кроме того, в последнее время появились гипотезы, допускающие возможность онкогенеза без интеграции вирусных геномов с ДНК клетки, поскольку предполагают, что вирусные онкогены и кодируемые ими продукты могут быть необходимы только для инициации трансформации, в результате которой происходит активация клеточных онкогенов [Galloway D., Mc Dougall J., 1983].

ВЭБ широко распространен в человеческой популяции и передается горизонтально с секретом слюнных желез. При этом вирус чаще вызывает субклинические формы инфекции. Клетками-мишенями, имеющими рецепторы для этого вируса, являются В-лимфоциты приматов [Jondal M., Klein G., 1973], инфицирование которых приводит к развитию продуктивной или латентной инфекции и трансформации (иммортализации). Учитывая, что ВЭБ причастен к возникновению синдрома инфекционного мононуклеоза, также не исключено, что ВЭБ индуцирует образование опухолей у ограниченного круга лиц. Очевидна взаимосвязь между вирусом и такими опухолями, как африканская лимфома Беркитта шеи и нижней челюсти и назофарингеальная карцинома,

распространенная у жителей юго-восточной Азии. Кроме того, прослеживается взаимосвязь между ВЭБ и карциномами миндалин [Brichaček V. et al., 1981].

ВЭБ трансформирует *in vitro* (immortalization) нормальные В-лимфоциты периферической крови человека, превращая их в долгоживущие лимфобластоидные клеточные линии. Такие линии фенотипически и генотипически отличаются от культивируемых клеток лимфомы Беркитта. Для клеток лимфомы наиболее характерными свойствами являются моноклональность, туморогенность при подкожном введении мышам *nude*, наличие хромосомных транслокаций (8; 14, 8; 22, 2; 8) и ряд других свойств. Лимфобластоидные клеточные линии, однако, характеризуются поликлональностью, отсутствием туморогенных свойств и хромосомных перестроек. Вирус, вызывая иммортализацию В-клеток *in vitro*, при этом сообщает им некоторые свойства злокачественности [Nilsson K., 1982]. Полагают, что ВЭБ является иницирующим фактором злокачественного перерождения клеток.

Механизм иммортализации В-лимфоцитов под действием ВЭБ пока остается неизвестным.

Высказывается предположение, что вирус оказывает стимулирующий эффект на рост клеток, но также индуцирует и клеточную дифференцировку. Генетические же нарушения приводят к «замораживанию» дифференцировки [Ernberg I. et al., 1983]. G. Klein (1979) придерживается мнения, что возникновение лимфомы Беркитта обуславливается сочетанием действия ВЭБ с генетическими изменениями в клетке и иммунодефицитным состоянием организма.

Согласно данным молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот, в клетках лимфомы Беркитта и непродуцирующих ВЭБ лимфобластоидных линиях содержатся множественные копии вирусной ДНК в количестве 50—60 полных вирусных геномов на клетку. В отношении физического состояния ДНК ВЭБ в трансформированных им и опухолевых клетках известно, что существуют две внутриклеточные формы ДНК: свободная и интегрированная. В отличие от взаимоотношений с клеткой геномов адено- и паповавирусов большая часть геномов ВЭБ в трансформированных вирусом клетках находится в свободном состоянии и представлена циркулярными молекулами ДНК, напоминающими эписомоподобные структуры [Nonoyama M., Pagano J., 1972; Tanaka A., Nonoyama M., 1974]. Такие молекулы имеют константу седиментации 65S, а вирионная ДНК — 58S. Однако A. Adams и T. Lindahl (1975) наряду со свободными циркулярными молекулами ДНК ВЭБ обнаружили интегрированные ДНК-последовательности в трансформированных этим вирусом клетках. Заметим, что хотя сведения об интеграции генома ВЭБ с геномом клетки к этому времени уже имелись, не была изучена природа связи между вирусной и клеточной ДНК. A. Adams и T. Lindahl (1975) пошли дальше, установив, что ДНК—ДНК-ассоциация обусловлена щелочестойкими, очевидно, ковалентными связями.

ВЭБ детерминирует образование в клетке нескольких новых антигенов, время появления и биологическая значимость которых неодинаковы. Это вирусный капсидный антиген (VCA), ядерный антиген (EBNA) [Klein G., Vonka V., 1974], ранний антиген (EA) [Henle W., Henle G., 1970; Henle G. et al., 1971a], мембранный антиген (MA), представляющий собой комплекс продуктов ранних и поздних генов [Klein G. et al., 1966, 1972], поверхностный антиген, распознаваемый Т-лимфоцитами-киллерами (LYDMA) [Klein E. et al., 1976], а также другие новые антигены [Hinuma J., Sakamoto K., 1978]. EBNA и LYDMA являются маркерами вирусного генома в клетке, тогда как EA, MA и VCA — это показатели литической инфекции. В ответ на различные детерминированные вирусом антигены у больных с инфекционным мононуклеозом, лимфомой Беркитта и назофарингеальной карциномой вырабатываются антитела, которые могут влиять на ход заболевания и, кроме того, служат дополнительным доказательством в пользу причинной роли ВЭБ в возникновении этих патологических процессов [Henle W., Henle G., 1979].

EBNA ассоциирован с хроматином лимфобластоидных клеток, несущих вирусный геном. Между EBNA и антигенами Т, индуцированными адено- и паповавирусами прослеживается некоторое сходство [Bahr G. et al., 1975]. Так, все они относятся к ядерным антигенам, ассоциированным с ДНК и белком 53 К клетки хозяина (последний, как предполагают, участвует в индукции трансформации) [Luka J. et al., 1977; Prives C. et al., 1980; Sarnow P. et al., 1982; Spelsberg T. et al., 1982], и, кроме того, являются маркерами ранних вирусных функций. Во всех лимфобластоидных линиях клеток, содержащих геном ВЭБ, этот антиген регулярно экспрессируется независимо от продукции вирусных частиц. Он постоянно находится в клетках лимфомы Беркитта, а также в эпителиальных опухолевых клетках назофарингеальной карциномы и В-лимфоцитах больных инфекционным мононуклеозом. Количество EBNA в различных вирусосодержащих клеточных линиях прямо пропорционально числу геномов вируса в клетках [Ernberg I. et al., 1977]. EBNA относится к ранним белкам, синтез которых не зависит от репликации вирусной ДНК. Антиген появляется к 12 ч и достигает максимального уровня к 24 ч после инфицирования вирусом В-лимфоцитов. EBNA определяют с помощью антикомплемментарного иммунофлюоресцентного теста (ACIF) [Reedman B., Klein G., 1973], иммуноферментного метода (ELISA) [Sternås L. et al., 1982, 1983], автордиографией *in situ* с использованием ^{125}I -белка А [Moar-M. et al., 1979].

Представлены свидетельства в пользу того, что EBNA, выделенный из клеток Raji, является комплексом белковых продуктов с молекулярной массой 100 000, 70 000 и 50 000 [Matsuo T. et al., 1978]. Т. Spelsberg и соавт. (1982) показали существование двух классов EBNA: классического антигена EBNA I и EBNA II с более высокой степенью родства к хроматину трансформированной клетки. Высказывалось мнение о том, что этот антиген, возможно,

представляет собой вирусиндуцированный или вирусмодифицированный антиген, кодируемый клеткой хозяина [Klein G., Vonka V., 1974].

Впоследствии, однако, оказалось, что EBNA представляет собой комплекс, состоящий из детерминированного вирусом 48 К субкомпонента и ассоциированного с ним 53 К белка клеточной природы [Luka J. et al., 1978, 1980]. В настоящее время считают, что синтез EBNA не контролируется клеткой.

R. Szigeti и соавт. (1982) установили реакцией ингибции миграции лейкоцитов, что 48 К субкомпонент стимулирует клеточно-опосредованный иммунитет, тогда как 53 К белок клетки хозяина усиливает иммуногенность комплекса. Авторами не исключается возможность существования взаимосвязи между EBNA и LYDMA. В этом случае мембранные фракции EBNA могут выполнять функцию трансплантационного антигена.

МА определяется с помощью непрямого иммуофлюоресцентного теста в живых клетках многих вируспродуцирующих клеточных культур, содержащих клетки VCA+ в количестве 1—10%. Суперинфицирование вирусом вируснепродуцирующих культур также ведет к появлению клеток МА+. МА представляет собой комплекс, состоящий из нескольких компонентов с различной антигенной специфичностью, среди которых выделяют ранний (ЕМА) и поздний (ЛМА) антигены в зависимости от влияния ингибиторов синтеза ДНК на их продукцию [Ernberg I. et al., 1974; Silvestre D. et al., 1974]. Синтез ЕМА не подавляется цитозинарабинозидом, из этого следует, что этот антиген образуется независимо от репликации вирусной ДНК. Напротив, образование ЛМА зависит от синтеза вирусной ДНК. Полагают, что оба эти антигена входят в состав суперкапсидной оболочки вирионов, которая образуется за счет клеточных мембран и отвечают за индукцию вируснейтрализующих антител [Silvestre D. et al., 1971].

Анализируя с помощью метода SDS-PAGE меченные ^{125}I экстракты суперинфицированных вирусом клеток Raji, Л. Кволтайер и Г. Пирсон (1979) нашли 4 основных мембранных белка с молекулярной массой 280 000, 250 000, 170 000 и 90 000. По включению ^3H -глюкозамина установлено, что три антигена являются гликопротеидами.

ЕА является комплексом внутриклеточных ранних антигенов, синтезирующихся до репликации вирусной ДНК [Gergely L. et al., 1971]. ЕА состоит по крайней мере из двух компонентов D-диффузного и R-ограниченного, определяемых в ядре и цитоплазме (D) и в цитоплазме (R) [Henle G. et al., 1971]. ЕА выявляется в вируспродуцирующих клетках и в вируснепродуцирующих линиях, суперинфицированных ВЭБ. Заметим, что появление ЕА в вируснепродуцирующих клетках считается признаком перехода к продуктивной инфекции. Природа и функция ЕА также пока неизвестны. ЕА определяют методом непрямого иммуофлюоресценции на фиксированных клетках с помощью сывороток крови больных инфекционным мононуклеозом, лимфомой Беркитта или на-

зофарингеальной карциномой, у которых выявляются обычно высокие титры антител к этому антигену.

VCA — это вирусный капсидный антиген, который находится во всех вируспродуцирующих лимфобластах. Этот антиген синтезируется после репликации вирусной ДНК. Он обнаруживается при помощи непрямой иммунофлюоресценции с сыворотками крови здоровых доноров, в прошлом перенесших инфекцию ВЭБ.

В отношении LYDMA, к сожалению, имеется еще очень мало сведений. Он не идентифицирован пока серологически и не получен в чистом виде.

После такой краткой характеристики отдельных вирусиндуцированных антигенов следует, по-видимому, остановиться на вопросе, касающемся их экспрессии на различных стадиях инфекционного процесса. При продуктивном инфекционном цикле происходят репликация вирусной ДНК и синтез вирусспецифических антигенов. В этом случае транскрибируется почти весь вирусный геном. Первыми экспрессируются ранние белки, синтезирующиеся до начала репликации ДНК вируса, — EBNA и LYDMA [Svedmyr E., Jondal M., 1975; Klein E. et al., 1976]. Затем также еще до синтеза вирусной ДНК образуются ЕМА и ЕА. Далее появляются LMA, VCA, после чего уже идут сборка вирусных частиц и освобождение инфекционного потомства из клетки. События полного репликативного цикла ВЭБ происходят в следующей последовательности: LYDMA, EBNA → ЕМА, ЕА → репликация вирусной ДНК → LMA, VCA → вирусные частицы.

Механизм, лежащий в основе персистенции ВЭБ, как, впрочем, и других герпесвирусов, в латентно инфицированных клетках еще не вполне понятен. При латентной инфекции экспрессия генома ВЭБ ограничивается синтезом LYDMA, видимо, самого раннего антигена продуктивного цикла. В таких клетках содержится почти полностью репрессированный вирусный геном, сохраняющий, однако, способность к активации. Сходная ситуация возникает в системах HSV и цитомегаловируса. По-видимому, интактные геномы HSV1 и HSV2 персистируют в тройничном и саκραльном ганглиях соответственно не вызывая, однако, их трансформации, но способны вызвать литический цикл при совместном культивировании нейронов с чувствительными клетками.

В опухолевых клетках африканской лимфомы Беркитта содержится, как уже отмечалось, множество, очевидно, полных копий вирусных геномов, поскольку в этом случае инфекционный вирус также может быть обнаружен после культивирования клеток *in vitro*, как и в случае латентной инфекции. При этом в трансформированных ВЭБ клетках транскрибируется небольшой процент вирусного генома, а именно, ранние гены, маркерами которых являются LYDMA, EBNA и ЕМА. Считают, что дальнейшие события репликативного цикла «обрываются» на ранней стадии какими-то неизвестными факторами, которые могут быть связаны с малигнизацией [Epstein M., 1978]. Другое объяснение

экспрессии только лишь продуктов ранних генов ВЭБ при вирус-индуцированной трансформации может заключаться в том, что малигнизация, возможно, обусловлена фрагментированным или дефектным вирусным геномом с делециями в поздней области. Но так или иначе не исключено, что некоторые антигены ВЭБ и EBNA, в частности, являются не только антигенными маркерами, очевидно имеющими значение в противоопухолевом иммунитете, но, возможно, сами играют важную роль в трансформации. L. Einhorn и I. Ernberg (1978) показали, что EBNA предшествует бластогенезу. K. Takada и T. Osato (1979) считают, что может быть именно синтез вирусдетерминированного ядерного антигена и является решающим моментом при трансформации под действием ВЭБ. Авторы показали, что при заражении этим вирусом В-лимфоцитов человека сначала происходит синтез EBNA, который предшествует и появлению морфологических признаков бласттрансформации, и синтезу ДНК. Здесь уместно вспомнить о таких, очевидно, необходимых для онкогенеза ранних белках, как большой антиген Т SV40 и средний антиген Т вируса полиомы, которые ответственны за инициацию и, возможно, поддержание трансформированного фенотипа.

Предполагают, что по аналогии с этими белками EBNA также является полифункциональным белком: контролирующим цикл репродукции вируса и регулирующим клеточный рост.

HSV вызывают в большинстве клеточных систем литическую инфекцию. Онкогенные потенции этих вирусов были обнаружены *in vitro* и в опытах на животных [Takahashi M., Yamanishi K., 1974]. Трансформирующие свойства вируса проявлялись при подавлении литической, но сохранении трансформирующей активности, что могло быть достигнуто, в частности, при частичной инактивации вирусного генома ультрафиолетовым облучением. Однако эти условия были созданы искусственно в эксперименте, тогда как механизм, играющий роль в естественных условиях, пока неизвестен. Полагают, что в трансформации, обусловленной HSV2, участвуют не менее двух вирусных функций. Так, найдено, что последовательности ДНК HSV2, отвечающие за фокусобразование [Reyes G. et al., 1980], картированы в другом районе генома, чем последовательности, участвующие в злокачественной трансформации [Jariwalla R. et al., 1980].

Онкогенные последовательности HSV не были известны вплоть до сравнительно недавнего времени. Лишь после того как стало возможным использование рестриктазных фрагментов ДНК, удалось идентифицировать два различных района в геноме HSV2, способных трансформировать клетки [Reyes G. et al., 1979; Jariwalla R. et al., 1980; Galloway D. et al., 1980].

Показано, что один такой район ДНК, фрагмент BglIIN, картированный между 0,58 и 0,63 единицами карты генома, присутствует в клетках хомяка, трансформированных инактивированным HSV2 [Galloway D. et al., 1980]. Клетки, трансформированные этим фрагментом, образуют колонии в полужидком агаре и со-

держат вирусную ДНК [Reyes G. et al., 1979], а также индуцируют опухоли при введении животным [Galloway D., McDougall J., 1981]. J. Docherty и соавт. (1981) с помощью трансляции *in vitro* и иммунопреципитации показали, что основным продуктом, кодируемым BglIIN районом ДНК HSV2, является полипептид с молекулярной массой 37 800. По размерам этот белок оказался сходен с 3 из 11 полипептидов, найденных в трансформированных HSV клетках хомяков и преципитировавшихся антисывороткой к HSV2 [Suh M. et al., 1980]. Кроме того, было выявлено, что белок с молекулярной массой 38 000 часто ассоциирован с опухолями человека. Так, он специфически преципитировался сыворотками от больных с раковыми опухолями мочевого пузыря, гораздо чаще, чем сыворотками от контрольных лиц [Gilman S. et al., 1980]. R. Jariwalla и соавт. (1980) идентифицировали другой специфический фрагмент ДНК HSV2, индуцировавший неопластическую трансформацию, BglIIC. Он имеет молекулярную массу $16,5 \cdot 10^6$, образуется путем двойного «переваривания» рестриктазами BglII и HpaI и локализован между координатами 0,43 и 0,58 физической карты генома. Фрагмент BglIIC достаточен для кодирования 10—15 белков. Известно, что в этом районе картированы 7 полипептидов, не являющихся, очевидно, «кандидатами» в трансформационно-специфические белки [Morse L. et al., 1978], за исключением одного белка — ICP10, который регулярно экспрессируется в клетках, неопластически трансформированных специфическим фрагментом вирусной ДНК, и претендует на роль «кандидата» в трансформирующие белки.

M. Manak и L. Aurelian (1981), показали, что для морфологической и злокачественной трансформации клеток HSV2 требуется экспрессия ранних вирусных функций. Перед этими исследователями стояла задача изучить участие генома HSV2 в индукции морфологической трансформации и появлении онкогенных свойств (образование стабильных клеточных линий, способных вызывать опухоли у новорожденных животных). Использовалась оригинальная методика инактивации вирусного генома (последовательное воздействие 5-бромдезоксисуридина и ультрафиолетовых лучей). Инактивацию генома производили в различные сроки репликативного цикла с целью прерывания последовательной экспрессии вирусных функций. Сходную степень фокусообразования и неопластической трансформации наблюдали в случае инактивации вируса до заражения им клеток и на ранних стадиях инфекции (0—2 ч после заражения). Однако оказалось, что если репликативный цикл продолжался в течение 4 ч (но не 2 ч), после чего вирус инактивировали, то частота фокусообразования и возможность получения опухолевых линий увеличивались в 15—27 раз. В клетках, облученных ультрафиолетовыми лучами спустя 4, 6 и 8 ч после заражения, сохранялся без изменения тот же высокий уровень изучаемых показателей. Авторы сделали вывод о том, что вирусные функции, экспрессирующиеся в течение 2—4 ч, отвечают как за увеличение частоты фокусообразова-

ния, так и неопластической трансформации (frequency enhancement). При этом далеко не все фокусы трансформации давали начало росту опухолевых линий, из чего следовало, что неопластическая трансформация — это событие более редкое, чем образование морфологических фокусов трансформации. На этом основании авторы пришли к заключению, что в этих процессах участвуют разные вирусные функции. Во всех неопластически трансформированных линиях, индуцированных вирусом, инактивированным как через 4 и 6 ч, так и через 8 ч после заражения им клеток, был найден вирусспецифический антиген (ICP10) — минорный структурный белок, относящийся к наиболее ранним белкам и иммунологически идентичный опухолеассоциированному AG-4. Авторы предположили, что ICP10 является продуктом генов, отличающихся от тех генов, которые обуславливают увеличение частоты трансформации. Участие этого белка в поддержании трансформации не доказано. Тем не менее, безусловно, он представляет большой интерес, поскольку является маркером вирусных функций, экспрессирующихся в неопластически трансформированных клетках, хотя, возможно, и не все присутствующие в них последовательности необходимы для поддержания трансформированного фенотипа.

Высказано предположение, что наиболее ранние белки (IE — immediate early) или α -белки [Hones R., Roizman B., 1974], индуцируемые HSV, влияют на события, которые происходят на ранних стадиях инфекционного цикла. Они могут выполнять важные функции контроля за экспрессией вирусного генома и, возможно, участвовать в регуляции трансформации и состояния латенции. Заслуживает внимания в этой связи идея «каскадной регуляции синтеза белков», детерминированных HSV, которая принадлежит R. Hones и B. Roizman (1974). Согласно этой гипотезе, вирусспецифические полипептиды HSV можно подразделить на три группы последовательно синтезирующихся белков: α -, β - и γ -белки. α -Белки синтезируются в небольших количествах при нормальном течении инфекции, достигая максимума к 3—4 ч после инфицирования. Внесение циклогексимида в момент заражения приводит к аккумуляции РНК-транскриптов для α -белков, использующих ферменты хозяина, тогда как сами α -белки будут образовываться после удаления циклогексимида (снятия так называемого циклогексимидового блока) в присутствии актиномицина D. Точная природа большинства α -белков HSV еще неизвестна. В основном это, по-видимому, неструктурные белки, синтез которых или по крайней мере одного из них необходим для ингибирования их дальнейшего образования и синтеза иРНК для более позднего класса — β -белков. Пока еще неизвестно, какие из α -белков участвуют в опосредованной вирусом трансформации. Неясно, какие α -белки являются продуктами ДНК-последовательностей, экспрессирующихся к 4 ч и, по данным M. Manak и L. Aurelian (1981), обуславливающих увеличение частоты появления морфологических фокусов трансформации и опухолевых

линий. Как уже отмечалось, к α -белкам относится и ICP40, хотя его роль в трансформации не установлена.

К пониманию роли α -белков приблизили данные R. Nau и J. Nau (1980) о том, что многие α -белки находятся в ассоциации с ядрами инфицированных клеток, хотя также присутствуют и в цитоплазме. Значительная порция ядерных α -белков была связана с очищенной хроматиновой фракцией. Использование ДНК-аффинной хроматографии позволило установить возможность связывания этих белков с ДНК *in vitro*. То обстоятельство, что большой антиген Т SV40 и EBNA ВЭБ также обладают способностью специфически связываться с ДНК, свидетельствует о существовании общих черт, присущих некоторым ранним белкам, индуцируемым ДНК-содержащими онкогенными вирусами и герпесвирусами, в частности. Установленный факт может служить косвенным доказательством в пользу возможного участия наиболее ранних белков HSV и EBNA ВЭБ в канцерогенезе, поскольку важная роль антигена Т SV40 в трансформации хорошо установлена.

G. Bayliss и H. Wolf (1981), изучая экспрессию ВЭБ в суперинфицированных клетках Raji с помощью циклогексимидового блока синтеза белков на разных стадиях инфекции, ингибирования синтеза ДНК и других приемов, сумели показать, что вирусиндуцированные белки ВЭБ также могут быть сгруппированы в три координированно синтезирующихся класса полипептидов. И в этой системе события развиваются аналогично схеме синтеза HSV-специфических белков.

Имеются доказательства в пользу ассоциации HSV с возникновением раковых опухолей у человека. К ним относятся нахождение вирусспецифических антигенов в некоторых опухолях человека [Косяков П. Н. и др., 1980; Hollinshead A., Tarro G., 1973; Aurelian L., 1974; Pacsa A. et al., 1976], обнаружение последовательностей ДНК и РНК в раковой опухоли шейки матки [Frenkel N. et al., 1972; McDougall J. et al., 1980, 1982], выявление антител к вирусу и различным вирусиндуцированным структурным и неструктурным антигенам у лиц со злокачественными опухолями [Sabin A., Tarro G., 1973; Hollinshead A. et al., 1973] и, наконец, выделение вируса из опухолевых клеток, росших в культуре [Aurelian L. et al., 1974].

В отличие от продемонстрированной возможности определения нуклеиновых кислот ВЭБ в клетках лимфомы Беркитта последовательности ДНК HSV в трансформированных и опухолевых клетках обнаруживаются с большим трудом. H. Zur Hausen (1975), например, не удалось найти ДНК этого вируса ни в одной из 13 исследованных раковых опухолей шейки матки. Тем не менее N. Frenkel и соавт. (1976) с помощью более чувствительного метода кинетики реассоциации, позволившим открывать около 0,5 геном-эквивалентов на клетку, обнаружили в трансформированных HSV2 линиях клеток 8—32% последовательностей вирусного генома. Кроме того, K. Hirai и соавт. (1979) также

нашли небольшую порцию генома ($11 \pm 4\%$) в трансформированных HSV клетках эмбриона хомяка. N. Frenkel и соавт. (1972) выявили в клетках одной раковой опухоли шейки матки порцию ДНК HSV (около 40% генома) в количестве 1—3,5 копий на клетку, что значительно меньше числа геномов ВЭБ в клетках лимфомы Беркитта. Создается впечатление, что в трансформированных HSV и опухолевых клетках сохраняется лишь минимальный набор последовательностей, необходимых, возможно, для поддержания малигнизированного состояния.

Предположение об интеграции с клеточной ДНК небольшого фрагмента генома HSV (онкогена), отвечающего за злокачественный рост, хорошо объясняет переход к трансформированному состоянию от латентной инфекции, когда в клетках содержится, по-видимому, интактная свободная ДНК в репрессивной форме. Однако, несмотря на преимущества указанной выше гипотезы, нельзя совершенно не учитывать возможности присутствия при неопластической трансформации полного генома HSV в частично репрессированном состоянии. Действительно, результаты, полученные N. Frenkel и соавт. (1972), противоречат данным L. Aurelian и соавт. (1971), которые сообщали о выделении HSV из клеток цервикальной карциномы после длительного культивирования *in vitro*. Не исключают, что не интегрированный фрагмент генома, а изменение транскрипционной программы персистирующего интактного генома определяет малигнизацию. В таком случае должен существовать какой-то контроль за экспрессией вирусного генома, однако неизвестно, в результате какого воздействия репликативный цикл может прерываться при трансформации на очень ранних стадиях.

В трансформированных HSV клетках вирусное потомство не образуется, однако имеет место частичная экспрессия вирусного генома, проявляющаяся в виде продукции отдельных вирусспецифических белков. Вирусспецифические белки, появляющиеся в инфицированных HSV клетках, можно разделить на ранние (в основном неструктурные) и вирионные белки. Природа антигенов, экспрессирующихся в трансформированных HSV и опухолевых клетках, окончательно не установлена. В связи с тем что попытки обнаружить вирус и вирионные антигены в клетках раковых опухолей шейки матки в большинстве случаев были неудачными, возникла мысль о том, что вирусспецифические белки опухолей представляют собой ранние антигены [Strnad B., Aurelian L., 1978].

AG-4 был идентифицирован при серологическом и эпидемиологическом обследовании женщин с раковыми опухолями шейки матки. При этом у больных с инвазивной формой рака были обнаружены комплементсвязывающие антитела к антигену из клеток HEp-2, инфицированных HSV (штамм G) [Aurelian L. et al., 1973]. Этот антиген обозначили AG-4, поскольку он образуется к 4 ч после заражения клеток HSV2 [Aurelian L. et al., 1973]. Важным этапом в исследованиях этого белка следует считать пе-

риод, когда L. Aurelian и соавт. (1974) обнаружили комплемент-связывающий мембранный антиген в клетках биоптатов плоско-клеточной формы рака шейки матки. AG-4 специфичен для злокачественных опухолей шейки матки и отсутствует в клетках нормальных тканей матки, поэтому он может иметь диагностическое значение. Как показали последующие работы этих авторов, AG-4 оказался иммунологически идентичен очищенному с помощью SDS-PAGE и хроматографии на гидроксиланатите белку ICP10. Последний, по мнению авторов, является минорным структурным компонентом суперкапсидной оболочки вириона и синтезируется преимущественно в условиях, препятствующих нормальной репликации вируса [Strnad B., Aurelian L., 1976a, b, 1978]. Опухольеспецифический антиген AG-4, возможно, подобен TSTA и антигенам Т паповавирусов. Однако в отличие от последних он может инкорпорироваться в суперкапсидную оболочку вирионов, поскольку HSV формируют суперкапсид путем модифицирования клеточных мембран. ICP10 имеет молекулярную массу 160 000 [Strnad B., Aurelian L., 1978] и является маркером наиболее ранних вирусных функций. Доказательством этому служили опыты, показавшие, что он синтезируется в инфицированных HSV2 клетках после циклогексимидового блока в присутствии актиномицина D [Strnad B., Aurelian L., 1976a, b].

Было показано, что AG-4 и ICP10 комигрируют в SDS-PAGE. Это может служить косвенным доказательством их идентичности. Далее было установлено, что IgG к ICP10 взаимодействуют в РСК с AG-4, в свою очередь сыворотки крови больных раком, содержащие антитела к AG-4, реагируют с очищенным ICP10. Предынкубация AG-4 с Fab'-фрагментом IgG к ICP10 вызывала блокирование способности анти-AG-4 сыворотки крови больных фиксировать комплемент с этим антигеном. На этом основании было сделано заключение о том, что специфические IgG к ICP10 и человеческие сыворотки, содержащие антитела к AG-4, распознают один и тот же антиген. Установлены некоторые факты, свидетельствующие в пользу вирионной природы ICP10. С помощью РСК удалось показать иммунологическую реактивность IgG к ICP10 в отношении вирионов HSV2 (штамм G). Кроме того, B. Strnad и L. Aurelian (1976b) наблюдали в реакции иммунофлюоресценции околоядерное свечение клеток, инфицированных HSV2 (штамм G) и содержащих ранние белки, мажорным среди которых был ICP10. Авторы полагают, что это может указывать на миграцию ICP10 в ядерную мембрану — место преимущественного образования суперкапсидной оболочки вирионов.

Следующий этап исследований был посвящен выяснению локализации ICP10 в вирионе. В экспериментах по фракционированию вирионов на нуклеокапсиды и суперкапсидную оболочку установлено, что ICP10 представлен в наружной оболочке как минорный вирионный белок. Если AG-4 и идентичный ему ICP10 и входят в состав поверхностной оболочки вирионов, однако сыворотки крови онкологических больных, содержащие антитела к

AG-4, не фиксируют комплемент с вирионами HSV2. Ранее сообщалось, что антитела к AG-4 отличаются от вируснейтрализующих антител, направленных к самому вирусу. AG-4 не блокирует нейтрализующую активность антисыворотки к целым вирионам. В отличие от нейтрализующих антител, антисыворотка к AG-4 содержит иммуноглобулины класса М, которые и являются опухолеспецифическими.

Однако если антитела к AG-4 не реагируют с интактным вирусом, то они вступают в РСК с белками «конверта», полученными с помощью неионного детергента NP-40 из очищенных вирионов.

Несомненную значимость приобретает дальнейшее изучение всех ранних вирусспецифических ассоциированных с опухолями антигенов.

В РСК с помощью адсорбированной антисыворотки морской свинки в инфицированных HSV клетках был найден другой новый, по-видимому, невирионный вирусиндуцированный антиген NV. Первые исследования показали, что этот антиген весьма лабилен, так как он утрачивал свою активность уже спустя 2 сут после получения [Sabin A., Tarro G., 1970]. A. Hollinshead и G. Tarro (1973) сообщили о родстве между лабильным антигеном NV и HSV-TAA (NV-TAA), который ассоциирован в основном с плоскоклеточными карциномами носоглоточной области, причем в сыворотках пациентов с подобными новообразованиями были обнаружены антитела к этому антигену [Sabin A., Tarro G., 1973; Hollinshead A. et al., 1974, 1975]. Изучение NV-TAA продолжается. Известно, что NV-TAA появляется в клетках почки морской свинки рано, уже к 3 ч после инфицирования их HSV2 или HSV1, поскольку антиген является общим для двух серотипов вируса. С помощью иммуноферментного метода этот антиген выявлен у больных с опухолями головы и шеи и злокачественными новообразованиями урогенитальной локализации [Tarro G. et al., 1980]. Кроме того, с помощью реакции иммунофлюоресценции было показано существование еще одного раннего индуцируемого HSV2 и, очевидно, неструктурного белка, который не был обнаружен в очищенных вирионах — VP143 [Frannery V. et al., 1977]. Происхождение VP143 является предметом обсуждения. Не исключают, что это может быть вирускодируемый белок, находящийся под клеточным контролем. J. Melnick и соавт. (1979), используя кроличью антисыворотку к VP143, методом иммунофлюоресценции исследовали клеточные культуры, полученные из раковых опухолей шейки матки. В 3 из 21 образца им удалось обнаружить VP143, тогда как вирус не был найден ни в одном случае. Кроме того, методом радиоиммунопреципитации были найдены антитела к VP143 в сыворотках крови женщин с раковыми опухолями шейки матки [Melnick J. et al., 1976].

Пока с абсолютной уверенностью нельзя сказать, идентичны ли AG-4 (ICP10) и NV-TAA или же они различаются. Поскольку сведения в отношении этих антигенов весьма противоречивы,

единого мнения по этому вопросу не было достигнуто. Г. Тагго (1975), например, не исключает возможности антигенного родства, тогда как L. Aurelian (1975) полагает, что это разные антигены. Неизвестно, действительно ли NV-TAA является неструктурным белком или он будет найден впоследствии в высокоочищенных вирионах. Кроме того, не установлено, каким из множества ранних неструктурных белков, обнаруженных в инфицированных HSV клетках R. Honess и B. Roizman (1973), соответствует NV-TAA. Не ясна роль всех этих антигенов в условиях продуктивной инфекции и при канцерогенезе.

П. Н. Косяков и соавт. (1978) установили, что HSV1 и HSV2 индуцируют в некоторых перевиваемых линиях клеток синтез общего или близкородственного нового антигена, отличающегося по иммунологической специфичности от вирионных антигенов и от антигенов незараженных клеток.

Для выявления этого антигена были использованы классический метод фиксации комплемента (РСК), микровариант количественного метода связывания комплемента с применением радиоактивного изотопа хрома (^{51}Cr -РСК), радиоиммунологический метод в твердой фазе и др. Иммунные сыворотки к новому невирионному антигену получали при иммунизации кроликов концентрированным водно-солевым экстрактом из клеток (ПЭК) почки эмбриона кролика через 4 ч после инфицирования. Иммунизация кроликов кроличьими эмбриональными клетками, инфицированными в течение 4 ч, позволила избежать продукции ксеногенных антител и получить сыворотку, не содержащую антител к антигенам зрелого вириона. Антивирусные сыворотки получали при иммунизации кроликов концентрированным препаратом вируса из вирусосодержащей культуральной жидкости клеток RS-537. В этом случае сыворотки адсорбировали 50% суспензией клеток, освобожденных от антигенов вируса нагреванием при 60°C в течение 30 мин, что приводило к инаktivации антигенных свойств вируса. Все сыворотки источали нативной бычьей сывороткой, антикомплемментарность устраняли центрифугированием при 105 000 g в течение часа.

Оказалось, что специфичность невирионного антигена не зависит от видовой принадлежности клетки-хозяина, а определяется исключительно вирусом, поскольку антиген сохраняет свои детерминанты в клетках различного происхождения (табл. 4).

Таблица 4. Невирионный антиген в клетках, инфицированных HSV

Специфические антисыворотки	Срок исследования	РСК с антигенами из клеток							Контроль бычьей сыворотка
		ПЭК	HEp-2	ФЭК	КМЭЧ	Vero	RS-537	HSV	
К невирионным антигенам	До заражения	0	0	0	0	0	0	0	0
	Через 4 ч после заражения	80	80	20	40	40	80	0	0
	Через 4 ч после заражения	0	0	0	0	0	0	160	0

Примечание. Приведены обратные величины титров антител сывороток в РСК.

Установлено, что специфическая сыворотка, полученная к раннему невирионному антигену, после удаления из нее побочных антител не реагировала в РСК с антигенами вируса и бычьей сыворотки, а также с антигенами неинфицированных клеток. Через 4 ч после заражения в клетках появлялись новые антигены, в то время как вирусные антигены отсутствовали. Содержание раннего невирионного антигена увеличивалось к 18—24 ч в литически инфицированных клетках, к этому же времени в них обнаруживались и антигены вируса. HSV1 и HSV2 индуцировали в клетках антигены одинаковой специфичности. Реакция непрямой иммуофлюоресценции на живых клетках по Мюллеру и смешанной гемадсорбции (дисковый тест) [Fagraeus A., Espmark A., 1961] было показано, что новый антиген локализуется на поверхностных мембранах клетки.

На рис. 1 графически изображена зависимость между диаметром зон гемадсорбции и разведениями специфической сыворотки. Трех 10-кратным разведениям антисыворотки к новому антигену (1:10, 1:100 и 1:1000) соответствовали зоны с диаметрами 23, 18 и 12 мм. На рис. 2 и 3 изображена культура клеток HEp-2 после внесения сыворотки к новому антигену и к вирусу спустя 4 и 24 ч после инфицирования HSV. Видны две зоны гемадсорбции округлой формы, расположенные там, где были нанесены фильтровальные диски с антисывороткой к новому антигену (см. рис. 2). Антивиральная сыворотка не выявляла антигенов вируса к этому времени. Как сыворотка к новому антигену, так и антивиральная сыворотка к 24 ч давали выраженную реакцию с почти одинаковыми диаметрами зон гемадсорбции при аналогичных разведениях (1:10, 1:100 и 1:1000) (см. рис. 3). Это подтверждает данные РСК о наличии в клетках, инфицированных HSV, двух различных антигенных специфичностей.

Опыты по биологической нейтрализации вируса также свидетельствуют о различии иммунных сывороток к новому и вирусному антигенам. Иммунная сыворотка к новому невирионному антигену слабо нейтрализовала инфекционность интактного вируса (индекс нейтрализации 0,5 lg), тогда как нейтрализующая активность сыворотки к вирусу была высокой (индекс нейтрализации 3,5—4,5 lg).

Найденный новый антиген, как AG-4 (ICP10) и NV-ТАА, выявляется уже к 3—4 ч после инфицирования клеток, т. е. до синтеза вирусных структурных белков, которые появляются в более поздние сроки. Подтверждением тому, что новый антиген синтезируется на ранних стадиях репродукции вируса, могут служить опыты с ингибиторами синтеза нуклеиновых кислот. Продукция нового антигена не подавлялась ингибиторами синтеза ДНК — митомцином С (60 мкг/мл) и цитозинарабинозидом (20 мкг/мл), которые блокировали вирионные антигены. Это свидетельствует о том, что новый антиген является ранним белком, синтезирующимся до начала репликации вирусной ДНК. На основании этого был сделан вывод о различиях генетической информации для ко-

Рис. 1. Зависимость зон гемадсорбции от разведения антисыворотки к вируспецифическому антигену, индуцированному HSV2

По оси абсцисс — разведения антисыворотки, по оси ординат — диаметр зон.

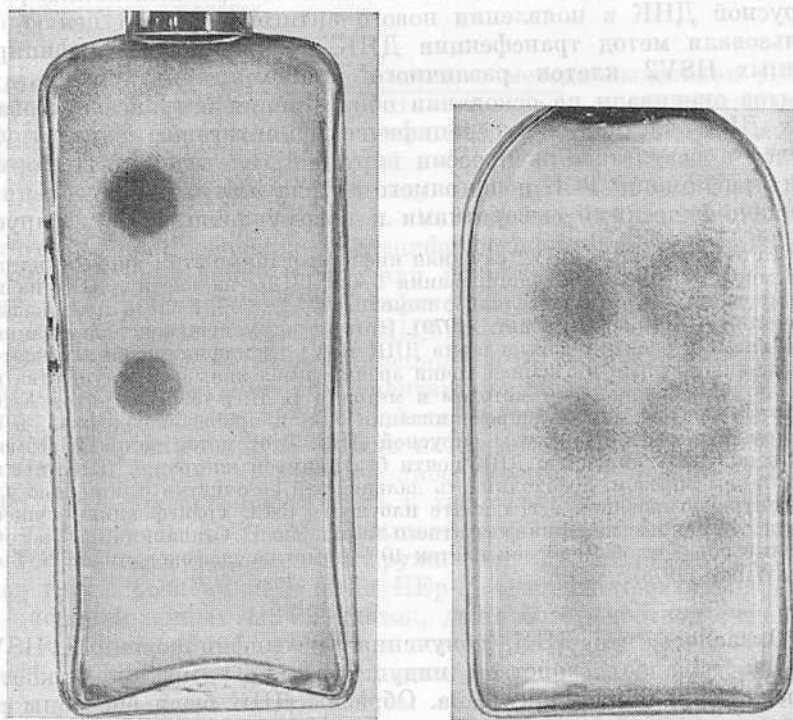
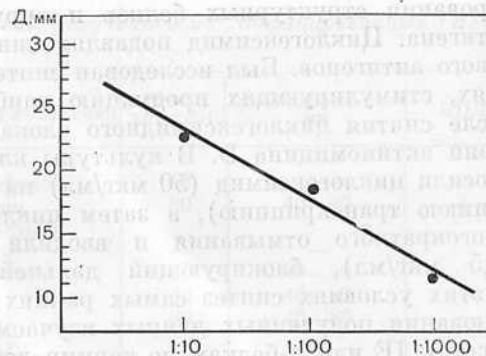


Рис. 2. Выявление двух зон гемадсорбции в местах внесения антисыворотки к вирусиндуцированному антигену через 4 ч после инфицирования клеток HSV2.

Рис. 3. Гемадсорбция с антисывороткой к вирусиндуцированному антигену (слева) и антивирусной сывороткой (справа) через 24 ч после инфицирования HSV2

дирования структурных белков и вирусиндуцированного нового антигена. Циклогексимид подавлял синтез как вирусного, так и нового антигенов. Был исследован синтез нового антигена в условиях, стимулирующих продукцию наиболее ранних белков (α): после снятия циклогексимидного блока синтеза белка в присутствии актиномицина D. В культуры клеток в момент заражения вносили циклогексимид (50 мкг/мл) на 7—8 ч (что не влияет на раннюю транскрипцию), а затем циклогексимид удаляли путем многократного отмывания и вводили на 2 ч актиномицин D (2,5 мкг/мл), блокирующий дальнейшую продукцию иРНК. В этих условиях синтез самых ранних белков увеличивался. На основании полученных данных изучаемый антиген мог быть отнесен к IE или α -белкам по терминологии, предложенной R. Parness и B. Roizman (1974).

Следующий этап исследований был посвящен выяснению роли вирусной ДНК в появлении нового антигена. С этой целью использовали метод трансфекции ДНК, полученной из инфицированных HSV2 клеток различного происхождения. Результаты опытов оценивали на основании обнаружения в трансфицированных ДНК клетках вирусспецифических антигенов, синтезирующихся в результате экспрессии вирусной генетической информации при помощи РСК и непрямого метода иммунофлюоресценции со специфическими сыворотками к новому антигену и к вирусу.

Источником ДНК HSV2 служили инфицированные этим вирусом клетки при множественности инфицирования 5—10 ТЦД₅₀ на клетку. ДНК из инфицированных клеток выделяли с помощью 0,5% SDS, фенола и пропазы и по методу P. Pignatti и соавт. (1979). Этот метод, успешно использованный P. Pignatti и соавт. для выделения ДНК HSV1 из инфицированных клеток, по мнению авторов и с нашей точки зрения, имел явные преимущества перед детергент-фенольным методом и методом B. Hirt (1967). Тритон X-100-NaCl-супернатант после депротеинизации SDS и пропазой содержал, в основном, интактные молекулы вирусной ДНК. Этот метод дал нам возможность получить вирусную ДНК почти без примеси клеточной ДНК, исключив, таким образом, необходимость дальнейшей ее очистки с помощью ультрацентрифугирования в градиенте плотности CsCl. Трансфекцию осуществляли с помощью кальций-фосфатного метода по F. Graham (1973) в сочетании с обработкой монослоя клеток 10% диметилсульфоксидом по N. Stow и N. Wilkie (1978).

Оказалось, что ДНК, полученная из инфицированных HSV2 клеток, обладает свойством индуцировать образование в клетке нового невирионного антигена. Образцы ДНК были способны регулярно индуцировать синтез нового антигена в клетках различного происхождения, а в некоторых экспериментах — структурных белков и инфекционного вируса к 24—48 ч. ДНК, выделенная SDS-фенольным методом, индуцирует образование нового антигена, реагирующего в РСК с иммунной сывороткой в разведении 1:40 (табл. 5). Однако при этом способе получения ДНК ни в одном случае не наблюдали синтеза структурных белков, что, возможно, обусловлено значительными повреждениями вирионной ДНК, возникшими в результате воздействия фенолом.

Таблица 5. Трансфекция ДНК, полученной из инфицированных HSV2 клеток (ДНК_в)

Объект исследования	Метод выделения	Новый антиген ¹	Структурные белки	ЦПД
Исходная ДНК _в	SDS-фенол	40	—	—
	Тритон	80	40—80	+
	x-100-NaCl	—	—	—
ДНК _в + ДНКазы	То же	—	—	—
ДНК _в + проназа	» »	80	40—80	+
ДНК _в + РНКазы	» »	80	40—80	+
ДНК _в 1 ч 56 °С	» »	80	40—80	+
ДНК из неинфицированных клеток	» »	—	—	—

¹ Обратные величины титров антигенов в РСК со специфическими сыворотками к новому антигену и к вирусу.

При использовании более щадящего метода выделения ДНК трансфекция происходила эффективнее, о чем свидетельствовала возросшая активность нового антигена, дававшего выраженную реакцию с иммунной сывороткой в более высоком разведении — 1:80. В опытах этой серии наряду с возникновением нового антигена трансфекция проявлялась синтезом структурных вирусных антигенов, реагирующих со специфической противовирусной сывороткой в разведении 1:40, или репродукцией вируса, о чем судили по наличию вирусспецифической деструкции клеток на протяжении многих пассажей (ЦПД).

Биологическая активность препаратов была обусловлена ДНК, а не связана с другими компонентами вириона, поскольку инкубация ДНК с проназой, РНКазой или нагревание в течение часа при 56 °С практически не влияли на эффективность трансфекции, а ДНКазы (100—200 мкг/мл) либо полностью предотвращала, либо резко снижала способность к трансфекции. ДНК из незараженных вирусом клеток не вызывала появления нового антигена.

Тот же новый антиген обнаруживался и в непрямой реакции иммунофлюоресценции. Клетки HEp-2, трансфицированные ДНК из инфицированных HSV2 клеток, дают поверхностное свечение со специфической сывороткой к новому антигену уже к 4—6 ч после внесения ДНК. Незараженные клетки давали слабое фоновое свечение (рис. 4, 5). Таким образом, именно ДНК HSV2 индуцирует и, по-видимому, кодирует синтез выявляемого невирионного антигена, ассоциированного с этим вирусом.

Итак, новый антиген может непосредственно кодироваться вирусной ДНК, и напротив, нам кажется маловероятным, что он возникает вследствие вирусспецифической дерепрессии эмбриональных генов клетки-хозяина. Однако абсолютное доказательство, в пользу того, что этот антиген кодируется вирусом, может быть получено лишь в опытах *in vitro* транскрипции — трансляции при использовании очищенной вирионной ДНК. Было бы

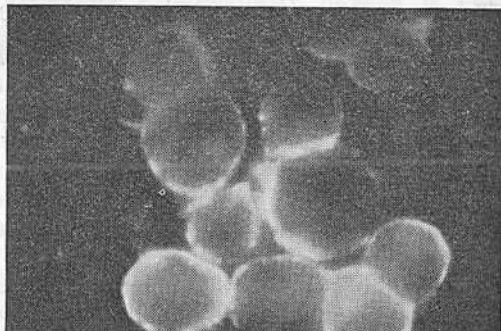


Рис. 4. Поверхностное свечение в клетках HEp-2 через 4 ч после трансфекции ДНК из инфицированных HSV2 клеток.

очень важно получить информацию о локализации на карте вирусного генома последовательностей, кодирующих этот антиген.

Помимо экспериментально инфицированных HSV клеток, антиген такой же специфичности был найден нами и в некоторых раковых опухолях человека [Косяков П. Н. и др., 1980]. Обнаружение нового невирионного антигена в новообразованиях человека (преимущественно в раковых опухолях шейки матки) дает основание предполагать, что HSV имеет этиологическое значение в возникновении этих опухолей.

Установленный нами факт дал основание подойти и к изучению опухолей человека на наличие в них генетической информации HSV2, ответственной за синтез нового антигена. Выявление вирусного генетического материала в тканях опухолей человека несомненно служит дополнительным доказательством этиологического значения вирусов в происхождении опухолей. С этой целью успешно могут быть использованы методы гибридизации и трансфекции. Однако до сих пор нуклеотидные последовательности HSV были обнаружены в тканях плоскоклеточных раковых опухолей лишь в единичных случаях, описанных N. Frenkel и соавт. (1972). Авторы предположили, что для трансформации эпителиальных клеток необходима и достаточна интеграция с ДНК клетки не всего вирусного генома, а лишь отдельных небольших фрагментов ДНК, которые, по-видимому, трудно обнаружить с помощью молекулярной гибридизации. Исходя из этого, важно было попытаться найти другие достоверные признаки, доказывающие присутствие и функционирование вирусного генома. Таким показателем явился новый невирионный антиген, ассоциированный с HSV2, появляющийся в инфицированных этим вирусом клетках и найденный нами в некоторых опухолях человека. Было показано, что препараты ДНК из некоторых опухолей человека индуцируют образование нового невирионного антигена, ассоциированного с HSV2. Это может указывать на присутствие по крайней мере части генетической информации вируса в клетках данных опухолей.

Рис. 5. Слабое фоновое свечение незараженных клеток. $\times 700$.



В опытах по трансфекции были обследованы 20 образцов ДНК, полученных из клеток раковых опухолей шейки, тела матки и яичника (табл. 6).

Было установлено, что ДНК из 12 раковых опухолей шейки матки и яичников индуцировала появление в клетках Нер-2 к 6-му часу нового невирусного антигена, тогда как вирусные антигены к этому времени не обнаруживались. Вирусные антигены не выявлялись и к 24—48 ч, за исключением трех случаев, в которых развивалось специфическое цитопатогенное действие, что свиде-

Таблица 6. Трансфекция ДНК из раковых опухолей человека

Номер опухолей шейки матки и яичника	Новый антиген из опухолей	Новый антиген, индуцированный ДНК HSV2	Антигены вируса к 6 ч	ЦПД к 24-му часу
1	40	20—40	—	—
2	80	40	—	—
3	80	40	—	+
4	80	40	—	—
5	160	40—80	—	+
6	80	40—80	—	+
7	20—40	40—80	—	—
8	—	—	—	—
9	—	—	—	—
10	—	—	—	—
11	—	—	—	—
12	160	—	—	—
13	—	—	—	—
14	80	80	—	—
15	20	80	—	—
16	80	40	—	—
17	—	40	—	—
18	—	80	—	—
19	—	—	—	—
20	160	40—80	—	—
Нормальные ткани (5 образцов)	—	—	—	—

Примечание. Приведены обратные величины титров антигенов в РСК со специфическими сыворотками.

тельствовало о появлении вируса. Все это указывает на присутствие в клетках большинства опухолей по крайней мере участка генома HSV2, который кодирует синтез нового антигена. Примечательно, что наблюдалось хорошее соответствие между наличием в опухолях биологически активной ДНК и обнаружением в этих же опухолях новых антигенных маркеров. Ни одна ДНК из исследованных 5 образцов нормальных тканей гениталий не стимулировала синтез нового антигена.

Исследования в этом направлении продолжаются и в настоящее время. При этом закономерно встает вопрос об отношении изучаемого нами антигена к AG-4, NV-TAA и многим другим α -белкам. Не исключено, что во всех этих случаях речь идет о разных белках, так как они различаются по своим размерам (молекулярная масса AG-4 составляет около 160 000, NV-TAA — 60 000—70 000, VP143—143 000) и некоторым другим физико-химическим свойствам. Например, NV — это очень нестойкий антиген, тогда как другие антигены, по-видимому, более стабильны. В частности, инфицированные HSV2 клетки HEp-2 выдерживались при 4 °C в течение 2 нед для освобождения их от невирионных антигенов (NV) при сохранении антигенов вируса. Обнаруженный нами антиген был относительно устойчив и длительно сохранялся при 4 °C, чем отличался от невирионного антигена, описанного G. Тагго и A. Sabin (1970). Более того, этот антиген был устойчив к нагреванию до 60 °C в течение 30 мин, а вирус при этих условиях инактивировался.

Кроме того, AG-4 (ICP10) — это минорный структурный компонент, тогда как остальные белки, возможно, имеют невирионную природу. Они не были до сих пор найдены в препаратах очищенного вируса, что полностью не исключает, однако, такой возможности в будущем. Интересно, что антитела к AG-4 относятся к макроглобулинам IgM, а антитела к другим антигенам, по-видимому, принадлежат к IgG. По данным L. Aurelian (1973), IgM к AG-4 обнаруживались с помощью РСК у 35 % больных цервикальной дисплазией, 65 % женщин с раковыми опухолями *in situ* и у 85 % больных с инвазивной формой рака шейки матки. На основании полученных данных делалось заключение о специфичности появления этих антител при опухолях шейки матки, но не других раках. Антитела к HSV-TAA были найдены у 90 % больных с плоскоклеточными типами карцином носоглотки и в 41 % случаев несквамозных раков.

В дальнейшем M. Notter и J. Docherty (1976) нашли, что антитела к AG-4 и к HSV-TAA встречаются приблизительно в одинаковом проценте случаев у больных с раковыми опухолями шейки матки (соответственно в 78 и 82 % случаев). J. Melnick и соавт. (1976) показали, что сыворотки крови больных с данной патологией сильнее реагируют с VP143, чем сыворотки от пациентов с другими формами рака или от здоровых женщин.

По-видимому, все эти антигены относятся к ранним белкам и к α -белкам, хотя еще неясно, каковы их функции при продук-

тивной инфекции и в чем заключается их участие в канцерогенезе.

Еще раз подчеркиваем, что обнаружение вирусспецифических антигенов (генетических маркеров) в клетках раковых опухолей шейки матки и некоторых других опухолей указывает на присутствие в них вирусного генома и позволяет сделать вывод о существовании причинной связи между HSV и возникновением ряда злокачественных новообразований человека. Несомненно, новые антигенные маркеры могут быть использованы в целях иммунодиагностики при некоторых опухолевых процессах, а в будущем и для разработки новых путей иммунопрофилактики и специфической терапии опухолей вирусного происхождения. Должное внимание следует, видимо, уделить опосредованному клетками и антителами иммунному ответу организма на эти антигены, проявляющемуся элиминацией опухолевых клеток и регрессией опухолей.

Не менее интересным представителем группы герпесвирусов является цитомегаловирус человека, онкогенные потенции которого были продемонстрированы в опытах *in vitro* и *in vivo* [Gedder L. et al., 1976]. В отличие от ВЭБ, мишенью для которого являются В-лимфоциты, цитомегаловирус поражает сравнительно широкий круг клеток, в том числе и Т-лимфоциты, в которых он, по-видимому, латентно персистирует. Цитомегаловирус, передающийся от матери плоду, очевидно, неблагоприятно влияет на развитие зарождающегося организма. Полагают также, что синдром инфекционного мононуклеоза наряду с ВЭБ может быть обусловлен и цитомегаловирусом [Diosi P., David C., 1981]. Имеются сведения о связи этого вируса с аденокарциномами толстой кишки, саркомой Капоши и некоторыми другими новообразованиями человека. Полагают, что активация цитомегаловируса, как и других вирусов группы герпеса, происходит вследствие нарушения работы иммунной системы организма (иммуносупрессия). Кроме того, на развитие опухолей влияют, очевидно, генетические факторы. Возможность этиологического значения вирусов группы герпеса в возникновении новообразований у лиц с дефектами иммунной системы обсуждается многими исследователями [Purtilo D., Klein G., 1981; Saemundsen A. et al., 1981; Purtilo D., 1983]. О возможном участии цитомегаловируса в возникновении раковых опухолей толстой кишки впервые сообщили E. Huang и J. Roche (1978). Методом гибридизации нуклеиновых кислот они выявили вирусную ДНК в 4 из 7 исследованных раковых опухолей. Геномы вируса были найдены в тканях толстой кишки у лиц с такими предраковыми состояниями, как язвенный колит и семейный полипоз, но они отсутствовали в нормальной слизистой оболочке кишечника.

G. Hashiro и соавт. (1979) выделили вирус из трех культур клеток, полученных из ткани 16 раковых опухолей толстой кишки. M. Stoian и соавт. (1982) с помощью метода фиксации комплекса исследовали большое число больных с различными фор-

мами злокачественных новообразований на присутствие антител к цитомегаловирусу. Авторы выявили антитела в 73,2% сывороток крови больных с раковыми опухолями и в 16,6% сывороток здоровых доноров. В. Vřichašek и соавт. (1980) не сумели найти вирусспецифические ДНК-последовательности в клетках 7 аденокарцином толстой кишки, а также выявить различия между уровнем антител в сыворотках крови здоровых доноров и больных. А. Avni и соавт. (1981) также не обнаружили существенной разницы между среднегеометрическими титрами антител к цитомегаловирусу в сыворотках крови 37 больных аденокарциномами кишечника и здоровых лиц, используя для этой цели реакцию энзиммеченных антител (РЭМА) к мембранному антигену. Авторы сообщили о наблюдавшемся ими повышении титров антител к цитомегаловирусу лишь у людей после иммунодепрессантной терапии. По их мнению, это может объясняться реактивацией латентного вируса. Таким образом, в связи с противоречивостью имеющихся сведений вопрос об этиологической роли цитомегаловируса человека в индукции опухолевого роста остается открытым.

Цитомегаловирус, как и ВЭБ, индуцирует в клетке образование ядерных антигенов. Группой исследователей с помощью АСIF показано появление ядерных, очевидно, невирионных антигенов на ранних стадиях вирусной репликации, предшествующих синтезу вирусспецифической ДНК [Battista A. et al., 1979]. Сходные по иммунологической специфичности антигены были обнаружены в трансформированных этим вирусом клетках и в опухолях человека при отсутствии в них вирионных белков и инфекционного вируса. Ранний ядерный антиген с молекулярной массой 80 000 и свойствами ДНК-связывающего белка, подобно EBNA и наиболее ранним белкам HSV найден в клетках через 3—6 ч после заражения их цитомегаловирусом [Gergely L. et al., 1980]. W. Gibson и соавт. (1981) обнаружили, очевидно, другой ядерный невирионный антиген с молекулярной массой 51 000, который был фосфорилирован и также обладал ДНК-связывающими свойствами. Однако для образования этого антигена был необходим предварительный синтез вирусной ДНК и некоторых ранних белков.

Показано, что IE-антигены обнаруживаются в ядрах клеток уже к 1—3 ч после инфицирования [Gergely L. et al., 1975; Geder L., 1976; Michelson-Fiske S. et al., 1977; Reynolds D., 1978]. Поздние ядерные антигены появляются к 12—24 ч независимо от синтеза вирусной ДНК [Thé T. et al., 1974; Giraldo G. et al., 1977; Reynolds D., 1978].

Кроме ядерных антигенов, цитомегаловирус индуцирует мембранные антигены (МА) в продуктивно и латентноинфицированных и в трансформированных клетках [Thé T. et al., 1972; Albrecht T., Rapp F., 1973; Lausch R. et al., 1974; Rapp F. et al., 1975; Geder L. et al., 1976; Boldough I. et al., 1977]. T. Tanaka и соавт. (1981) иммунофлюоресцентным методом на живых клетках обнаружили появление МА на поверхности перmissive и

непермиссивных клеток человека и животных к 24 ч после инфицирования, тогда как максимального уровня синтез этого антигена достигал к 36 ч. МА синтезируется также в присутствии ингибитора синтеза ДНК цитозинарабинозида (20 мкг/мл), однако ингибиторы синтеза РНК и белка полностью предотвращают его образование. Поскольку синтез МА не зависит от репликации вирусной ДНК, он, вероятно, представляет собой белковый продукт, кодируемый ранним районом вирусного генома.

По данным J. Tanaka, синтез поздних антигенов (LA), представляющих собой структурные белки вируса, начинается к 30 ч после инфицирования и достигает максимума к 66 ч, тогда как M. Stinski (1978) обнаруживал LA уже через 15 ч. M. Stinski и соавт. (1979) показали, что МА цитомегаловируса (аналогично МА ВЭБ) инкорпорируется в вирионы на поздних стадиях инфекционного цикла и индуцирует образование нейтрализующих антител. Кроме того, найдено, что латентноинфицированные и трансформированные цитомегаловирусом клетки содержат общий мембранный антиген, который распознается и подвергается специфическому разрушающему воздействию со стороны иммунных клеток селезенки [Rapp F. et al., 1975]. Это, очевидно, свидетельствует о важном биологическом значении МА в гуморальном и клеточном иммунитете.

J. Cameron и C. Preston (1981) выявили 11 наиболее ранних белков (IE) цитомегаловируса с молекулярной массой 14 000—85 000. W. Gibson (1981), изучавший наиболее ранние белки разных штаммов цитомегаловируса человека, называет основные из них — с молекулярной массой 110 000, 94 000, 79 000, 76 000, 57 000—52 000 и 38 000.

По данным M. Stinski (1978), около 10 белков синтезируется к 6 ч в пермиссивных и непермиссивных клетках. B. Wahren и B. Öberg (1979, 1980) показали, что ранние антигены цитомегаловируса максимально синтезируются к 6 и к 24 ч как в присутствии фосфоноформата (который ингибирует репликацию вируса и экспрессию поздних антигенов), так и без ингибитора. Предположили, что эти два пика белкового синтеза могут соответствовать α - и β -белкам HSV.

Вероятно, α -белки цитомегаловируса, как и других представителей группы вирусов герпеса, осуществляют функции регуляции экспрессии вирусного генома и участвуют в трансформации.

Новые антигены, индуцированные ретровирусами

Продуктивная инфекция и злокачественная трансформация клеток ретровирусами не взаимоисключают друг друга, как у ДНК-содержащих онкогенных вирусов. Персистенция ретровирусов в опухолевых и трансформированных клетках значительно усложняет специфические антигенные характеристики клеток, поскольку приводит к появлению в них двух различных классов веществ. Антигенные свойства инфицированных и трансформи-

рованных ретровирусами клеток могут быть обусловлены как вирусными структурными компонентами, вошедшими в состав клетки, так и индуцированными вирусом невирусными белками. Следовательно, главная трудность для исследователей заключается в том, чтобы с помощью адсорбированных антисывороток дифференцировать в клетке антигены, являющиеся составной частью вирионов, от индуцированных вирусом антигенов, не входящих в структуру вирионов. Следует еще иметь в виду, что в инфицированных ретровирусами клетках присутствуют вирусспецифические полипротеины — так называемые предшественники вирусных структурных внутренних либо оболочечных белков. Такие высокомолекулярные предшественники отсутствуют как в нормальных клетках, так и в зрелых вирусных частицах, однако обычно преципитируются из клеточных экстрактов антисывороткой к разрушенным вирионам [Dickson S., 1976; Sovova V., Bosch V., 1976; McGimis J. et al., 1978]. В опухолевых клетках, индуцированных ретровирусами типа C, выделяют три основные группы ассоциированных с вирусами антигенов: структурные вирусные белки, вирусассоциированные неструктурные белки, индуцируемые и кодируемые вирусами, и опухолеспецифические белки, кодируемые геномом клетки [Tadao A., 1976].

Если положение об интеграции геномов ДНК-содержащих онкогенных вирусов с геномами клеток хозяина как основы злокачественной конверсии клеток получило широкое признание, то возможность интеграции генома РНК-содержащих опухолеродных вирусов в ДНК клетки считалась долгое время нереальной. В 1963 г. Н. Temin на основании установленного им факта чувствительности репликации вируса саркомы Рауса (RSV) к актиномицину D, блокирующему синтез РНК на ДНК-матрице, первый высказал предположение о существовании промежуточной ДНК, названной им ДНК-провирусом. Так провирусная ДНК синтезируется в процессе репродукции ретровирусов на матрице 70S вирионной РНК и способна интегрироваться с геномом клетки, вызывая при определенных условиях ее трансформацию [Temin H., 1964]. Подтверждением гипотезы Н. Temin явилось открытие в 1970 г. фермента РНК-зависимой ДНК-полимеразы, или обратной транскриптазы, осуществляющей синтез ДНК-транскрипта [Temin H., 1970; Baltimore D., 1970].

Казалось вероятным предположение, что существует специфический ген ретровирусов — онкоген, который не будучи необходимым для репродукции вирионов, индуцирует и поддерживает злокачественную трансформацию клеток. В дальнейшем такой ген был идентифицирован в составе онкогенных птичьих ретровирусов, к которым относятся вирусы сарком и острых лейкозов птиц, саркоматозных вирусов мышей, крыс, кошек и обезьян [Varms H. et al., 1977; Stehelin D. et al., 1980; Robbins K. et al., 1982]. В отличие от антигена Т-продукта гена А паповавирусов продукт онкогенов ретровирусов оставался неизвестным до сравнительно недавнего времени, хотя давно существовало мнение,

что трансформирующий ген ретровирусов кодирует гипотетический белок (или белки), который ответствен за индукцию трансформации клеток. Не так давно стало известно, что трансформирующие ретровирусы имеют свои индивидуальные трансформирующие гены или онкогены, которым соответствуют определенные белковые продукты, ассоциированные с неопластической трансформацией. Например, вирус саркомы Рауса (RSV) содержит трансформирующий ген *src*, который кодирует фосфорилированный белок с молекулярной массой 60 000— $pp60^{src}$; вирус лейкоза мышшей Абельсона (A-MuLV) включает в свой состав трансформирующий ген *abl*, кодирующий уникальный район специфичного для трансформации белка $p\ 120^{gag-abl}$ и др. [Brugge J., Erickson R., 1977; Stephenson J. et al., 1978].

Метод олигонуклеотидного картирования и рестрикционный анализ позволили картировать гены многих ретровирусов и локализовать трансформирующие последовательности. В частности, известно, что на 5'-конце молекулы РНК вирусов саркомы птиц (ASV) картирован ген *gag*, далее по порядку расположены гены *pol* и *env*, а трансформирующий ген *src* локализован на 3'-конце [Duesberg P. et al., 1978; Wang L.-H., 1978]. Если гены *pol*, *env* и *gag* необходимы для вирусной репликации, то природа и функция онкогена окончательно не расшифрованы. Трансформирующий ген *src* ASV был изучен с помощью температурочувствительных (*ts*) и делеционных (*td*) мутантов ретровирусов птиц, дефектных по трансформации клеток *in vitro* и индукции сарком *in vivo* [Vogt P., 1977, 1978]. Путем гибридизации 3H -ДНК-транскрипта ASV с РНК вируса, дефектного по трансформации, была получена ДНК^{*src*}, состоящая из 1500 пар нуклеотидов и гибридизовавшаяся с РНК саркоматозных, но не лейкозных вирусов птиц, не содержащих трансформирующий ген [Varmus H. et al., 1977, 1978].

Клонированный при помощи методов генной инженерии провирус Mo-MuSV способен трансформировать нормальную клетку, хотя для эффективной трансформации необходим не весь геном, а, по-видимому, лишь два участка генома — онкоген (*v-mos*) и так называемый длинный концевой повтор — LTR (*long, terminal repeat*). LTR-фрагменты, расположенные на концах провирусной ДНК ретровирусов типа C, усиливают трансформирующий потенциал *v-ops*, так как содержат сильный промотор [Blair D. et al., 1981; Ju G. et al., 1982]. Полагают, что LTR могут играть существенную роль в регуляции экспрессии вирусных генов, а также клеточных онкогенов [Temin H., 1982]. Специфичные для трансформации вирусные последовательности экспрессируются с высокой эффективностью, поскольку они, очевидно, находятся под контролем регулирующих сигналов к инициации транскрипции, поступающих с LTR [Blair D. et al., 1980]. Установлено, что котрансфекция клеток субгеномными фрагментами, содержащими *v-mos* и LTR, приводит к увеличению уровня трансформации клетки, тогда как фрагмент *v-mos* в отсутствии LTR обладает

гораздо менее выраженной трансформирующей способностью [Blair D. et al., 1981, 1982].

Белок pp60^{src} RSV и продукты трансформирующих генов других ретровирусов — наиболее вероятные «кандидаты» в опухолевые трансформационно-специфические белки.

J. Brugge и R. Erickson (1977) изолировали из клеток, трансформированных RSV, и идентифицировали с помощью иммунопреципитации специфичный для трансформированных этим вирусом клеток белок pp60, который кодируется геном src. Антисыворотки от кроликов с опухолями, возникшими в результате заражения животных неонатально штаммом Шмидт — Руппин RSV (SR-RSV), открывали в трансформированных этим вирусом клетках куриных фибробластов целый ряд белков с молекулярной массой 76 000—12 000—15 000, являющихся либо предшественниками, либо конечными продуктами гена gag. Но особое внимание исследователей привлек белок с молекулярной массой 60 000, который не преципитировался антисыворотками к структурным вирусным белкам и был обозначен как pp60^{src}. Этот белок был найден также в клетках хомяков, трансформированных SR-RSV, при отсутствии в них структурных группоспецифических белков (ГС). В качестве доказательств того, что этот белок специфичен для процесса вирусиндуцированной трансформации, были представлены следующие факты. 1. Различные клетки птиц и млекопитающих, трансформированные SR-RSV, содержали белок pp60^{src}, идентифицированный с помощью радиоиммунологического и пептидного анализа [Brugge J. et al., 1978]. J. Brugge и соавт. (1979) обнаружили pp60^{src} и в незараженных клетках, хотя содержание его было в 40—50 раз ниже, чем в трансформированных клетках. 2. Белок pp60^{src} не присутствовал в клетках, инфицированных делеционными td-мутантами ASV, дефектными по способности вызывать трансформацию клеток, или лейкозными вирусами птиц. 3. Белок pp60^{src} и родственные ему белки не синтезировались в бесклеточных системах *in vitro* на матрицах РНК саркоматозных вирусов птиц, имевших делеции в гене src (SR-td). Это обстоятельство явилось наиболее веским аргументом в пользу того, что pp60^{src} возникает в результате трансляции src-специфических последовательностей [Beemon K. et al., 1977, 1978; Purchio A. et al., 1977, 1978]. 4. Src-специфический белок не преципитировался антисыворотками ни к одному из известных вирионных белков вирусов лейкозно-саркоматозного комплекса птиц [Brugge J., Erickson R., 1977]. 5. Кроме того, pp60^{src} отличался по пептидному составу от предшественника белков ГС-комплекса — Pr76.

В отличие от антигена Т SV40, большая часть (или фракция) которого локализуется в ядрах клеток, pp60^{src} находится преимущественно в цитоплазме трансформированных вирусом клеток (причем 80—90% его находится в растворимой и 10—20% — в нерастворимой форме, хотя этот процент варьирует в зависимости от вида клеток) и на внутренней поверхности плазматиче-

ской мембраны. Но он может быть связан и с наружной поверхностью клетки и секретировать во внеклеточное пространство [Barnekow A. et al., 1980, 1981].

Белок с такими же как и $pp60^{src}$ антигенными и биохимическими свойствами, в частности молекулярной массой и пептидным составом, был синтезирован в бесклеточной системе ретикулоцитов кролика с помощью вирионной 70S РНК [Purchio A. et al., 1978; Erickson R. et al., 1978] и цитоплазматических 21S полиаденилированных вирусспецифических РНК из клеток цыплят, трансформированных RSV [Erickson R. et al., 1979]. M. Collett и R. Erickson (1978, 1979) продемонстрировали, что $pp60^{src}$ как синтезированный *in vitro*, так и из трансформированных RSV клеток, ассоциирован с фосфокиназной активностью. Авторы предположили, что вирусспецифическая протеинкиназа, связанная с этим белком, играет важную роль в трансформации клеток под действием RSV.

Идентичный полипептид был охарактеризован другой группой ученых [Sefton B. et al., 1978]. Сравнивались продукты гена *src* нескольких штаммов RSV, полученные при помощи трансляции 70S вирионных РНК, с продуктами, присутствующими в трансформированных клетках. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что различные штаммы вируса кодируют отличающиеся друг от друга по биологическим, биохимическим и иммунологическим свойствам белки — продукты гена *src* [Purchio A. et al., 1978; Beemon K. et al., 1978, 1979]. Так, белок из PR-RSV-C-трансформированных клеток имел молекулярную массу 60 000, из SR-RSV-D — 58 000, а из SR-RSV-A — 57 000, причем каждый полипептид, выделенный из трансформированных клеток, был несколько больше по размерам, чем белок, синтезированный *in vitro*. Это может быть, отчасти объяснено процессом фосфорилирования, происходящим между 10-й и 25-й минутами после синтеза белка и освобождения его из полисом. Факт наличия у $pp60^{src}$ фосфокиназной активности был установлен B. Sefton и соавт. (1978) независимо от R. Erickson и соавт. В то же время $pp60^{src}$ оказался негликозилированным белком, поскольку при маркировании *in vivo* он не инкорпировал радиоактивные предшественники гликопротеидов (глюкозамин, маннозу, галактозу) в тех же условиях, при которых хорошо метился предшественник белков вирусной оболочки $PR90^{env}/gp85$.

B. Sefton и соавт. (1978) удалось дифференцировать $pp60^{src}$ от предшественника структурных вирусных белков, используя адсорбированную разрушенными вирионами SR-RSV-D сыворотку. Такая сыворотка преципитировала $pp60^{src}$ в той же степени, что и неадсорбированная сыворотка.

Кроме того, другими исследователями в результате бесклеточного синтеза, осуществленного на матрице 35S РНК RSV, были найдены два полипептида с молекулярными массами 18 000 и 25 000, которые не обнаруживались среди продуктов трансляции 35S РНК из мутанта RSV, дефектного по трансформации. Эти

белки не преципитировались моноспецифическими сыворотками к структурным белкам ретровирусов птиц. Авторы пришли к заключению, что эти белки кодируются геном *src* и один из них (или оба) может быть ответственным за вызываемую RSV трансформацию клеток [Kamine J. et al., 1977, 1978].

J. Stephenson и соавт. (1978) в трансформированных вирусом лейкоза мышей Абельсона (A-MuLV) вируснепродуцирующих клетках хорьков и мышей обнаружили полипротеин (молекулярная масса 110 000—130 000), содержащий вирусные структурные и неструктурные компоненты. Было показано, что посттрансляционное нарезание этого предшественника (p130) приводит к образованию белка с молекулярной массой 25 000 и далее белков с молекулярной массой 15 000 и 12 000 — продуктов гена *gag* MuLV [Reynolds F. et al., 1978]. То, что этот полипротеин кодируется вирусом было доказано с помощью трансляции вирионной РНК вируса Абельсона, осуществленной в бесклеточных системах ретикулоцитов кролика [Witte O. et al., 1978] и в ооцитах *Xenopus laevis* [Reynolds F. et al., 1978]. Синтезированный *in vitro* белок p120 преципитировался иммунными сыворотками к разрушенному вирусу лейкоза мышей Раушера и к белкам p15 и p12 вируса Абельсона. Трансформирующий белок A-MuLV, обозначенный как p120^{gag-abl}, кроме антигенных детерминант продуктов гена *gag* (белков p15 и p12), содержит уникальный участок «х» с молекулярной массой 90 000, который является, вероятно, продуктом экспрессии клеточных последовательностей, приобретенных вирусом [Van de Ven Wim J. et al., 1979]. Белок p120 обладает хорошо выраженной фосфопротеинкиназной активностью [Rosenberg N. et al., 1980].

Показано, что порция p120 представлена на поверхностной мембране трансформированной клетки [Witte G. et al., 1979] и, следовательно, может индуцировать противоопухолевую защиту. В сыворотках некоторых мышей-опухоленосителей содержатся антитела, реагирующие с уникальной детерминантой p120 и, возможно способствующие регрессированию опухолей у этих животных.

Помимо генов *src* RSV и *abl* A-MuLV, в настоящее время известны >12 новых трансформирующих генов (онкогенов) ретровирусов птиц, мышей, крыс, кошек, обезьян: *myb*, *mac*, *rel*, *myc*, *erb*, *fps*, *yes*, *ros*, *mos*, *fes*, *sis*, *ras* [Coffin I. et al., 1981]. Идентифицированы также вирусиндуцированные специфичные для трансформации белки — продукты соответствующих трансформирующих генов.

Если раньше считали, что ретровирусы не индуцируют образования ядерных антигенов, подобных антигену Т ДНК-содержащих онкогенных вирусов, то недавно такой белок был найден. Им оказался белок p110 — продукт гена *v-myc* вируса миеломатоза птиц (MC 29). Белок p110 ассоциирован с клеточным ядром и обладает способностью связываться с ДНК, обнаруживая, таким образом, сходство с ДНК-связывающими белками адено- и

паповавирусов, а также вирусов группы герпеса [Weiss R., 1982]. Онкобелки ассоциированы с тирозинспецифической фосфопротеинкиназной активностью, необходимой, по-видимому, для индукции злокачественного роста. Фосфорилирование — событие, предшествующее трансформации, а не следствие ее. Доказано участие трансформирующих белков ряда вирусов RSV, R77, FSV, PRCII, Y73, A-MuLV, S-T-FeSV в фосфорилировании белков клетки-хозяина по тирозину, что может явиться решающим событием в развитии процесса трансформации [Beemon K., Adkins B., 1981]. Найдена прямая зависимость между трансформированным фенотипом и степенью фосфорилирования клеточных белков-мишеней. Белок pp60^{src} и, возможно, другие вирусные протеины осуществляют фосфорилирование нескольких белков клетки: белков цитоскелета (винкулина и др.), клеточных белков 36K и 50K по остаткам тирозина [Sefton B. et al., 1981]. Белок 50K является клеточным белком, но его синтез специфически возрастает в трансформированных RSV клетках по сравнению с таковым в нормальных клетках. Белок 50K образует комплекс с pp60^{src} [Brugge J. et al., 1981]. Напомним, что сходный по размерам клеточный белок 53K—54K был найден в ассоциации с ДНК-связывающими белками — антигеном T SV40 и ядерным антигеном ВЭБ (EBNA). Не исключено, что это один и тот же клеточный белок, а фосфорилирование белков клетки-хозяина и роль этого процесса в трансформации в таком случае можно рассматривать, по-видимому, как универсальное явление. Белок 50K клетки-хозяина считается наиболее вероятным «кандидатом» в клеточные опухолевые антигены. В последние годы получила признание гипотеза, объясняющая механизм трансформации под действием онкогенных ретровирусов. Согласно этой гипотезе, вирусные киназы участвуют в реакциях фосфорилирования, при этом взаимодействуя и активируя целый каскад клеточных киназ, что может явиться ключевым моментом в нарушении регуляции клеточного роста [Spector M. et al., 1981].

Как оказалось, у ретровирусных онкогенов и кодируемых ими продуктов имеются аналоги в нормальных клетках.

В ДНК неинфицированных клеток позвоночных животных были найдены нуклеотидные последовательности (с-онс), гомологичные всем известным вирусным трансформирующим генам (v-онс) и существующие в клетке наряду с другими нормальными клеточными генами. H. Varmus и соавт. (1977, 1978) выявили в неинфицированных клетках цыплят последовательности, комплементарные последовательностям гена src RSV. Были обнаружены последовательности, гомологичные гену src RSV, и в ДНК нормальных клеток позвоночных животных [Roussel M., Stéhelin D., 1978]. Кроме того, оказались сходными белки pp60^{v-src} и pp60^{c-src}, кодируемые этими генами. Фосфопротеинкиназа ассоциирована также с pp60^{c-src}, хотя уровень этой активности в нормальных клетках в 100 раз ниже, чем в трансформированных клетках [Owada M., Donner P., Moelling K., 1980]. В ДНК клеток

человека были обнаружены гены *c-mos*, *c-myc*, *c-myb*, *c-abl*, *c-ras*, *c-fes* и *c-sis*, родственные трансформирующим участкам геномов соответствующих ретровирусов птиц и животных [Chang E. et al., 1982; Dalla Favera R. et al., 1982; Franchini G. et al., 1982; Prakash K. et al., 1982; Swan D. et al., 1982; Watson R. et al., 1982]. Эти гены могут рассматриваться как потенциальные онкогены человека (протоонкогены). Эндогенные клеточные аналоги вирусных онкогенов структурно очень близки с вирусными онкогенами, например (*c-src* и *v-src*), но, как правило, гены *c-onc* более сложно организованы и содержат несколько некодирующих районов — интронов [Parker R., Varmus H., Bishop J. M., 1981; Franchini G. et al., 1981]. На основании подобных фактов было высказано предположение, что вирусный геном включает в свой состав клеточные последовательности *c-onc*, т. е. иначе говоря, вирусные онкогены произошли из нормальных последовательностей клетки-хозяина — потенциальных клеточных онкогенов (протоонкогенов). Впоследствии эта гипотеза была подтверждена экспериментально.

Н. Hanafusa и соавт. (1978) пришли к заключению, что вирусы сарком птиц приобретают ген *src* от своих хозяев в процессе роста. Т. Robins и Р. Duesberg (1979), С. Halpern и Н. Hanafusa (1979) доказали, что новый трансформирующий вирус rASV возникает в результате рекомбинации генетического материала мутанта RSV, дефектного по трансформации, с определенными последовательностями генома клетки хозяина.

Значение клеточных онкогенов в канцерогенезе, обусловленном вирусами, физическими и химическими факторами, а также их роль в нормальном росте и метаболизме клеток пока только лишь предположительны. Полагают, что клеточные онкогены — это нормальные последовательности генома клетки, участвующие в процессах роста и дифференцировки, в которых, может быть, заключен трансформирующий потенциал. В ДНК нормальных клеток птиц и млекопитающих могут присутствовать от одной до нескольких копий таких последовательностей. Обычно их экспрессия в норме достаточно сильно репрессирована. Тем не менее транскрипты клеточных онкогенов *c-src*, *c-myc* и *c-erb* были обнаружены в нормальных тканях цыплят [Gonda T. et al., 1982]. I. Chen и соавт. (1983) также сообщили о выявлении *gel*-специфической РНК в тканях цыплят. Причем наблюдалось неравномерное распределение у цыплят гена *c-onc* в различных тканях и органах [Shibuya M. et al., 1982]. Кроме того, белок $p21^{ras}$ — продукт клеточного гомолога трансформирующего гена *ras* KiSV и HaSV — присутствует в незначительных количествах и в нормальных клетках [Langbeheim H. et al., 1980].

Ж. Todaro (1978) высказал мысль о том, что клеточные онкогены, существующие в нормальных клетках, будучи активированы различными способами в состоянии воздействовать на клетки таким же образом, как и привнесенные извне вирусные онкогены. Аномальная активация клеточных онкогенов, по-видимому, мо-

жет произойти «спонтанно» или в результате воздействия физико-химических факторов, а также вирусов. Возможно, что уровень экспрессии клеточных онкогенов регулирует клеточный рост.

Геном вирусов хронического лимфолейкоза птиц (ALV) не содержит онкогена, но тем не менее эти вирусы могут проявлять свой онкогенный потенциал. Возможно, это достигается за счет активации клеточных онкогенов. Ставшая популярной промоторная гипотеза онкогенеза [Tsichlis P., Coffin J., 1980; Astrin S. et al., 1981; Payne G. et al., 1981] предполагает, что LTR эндогенных провирусов встраиваются рядом с клеточным онкогеном и выполняют роль промотора, индуцирующего транскрипцию этих специфических последовательностей клетки. Показано, что интеграция правого LTR ALV-провируса слева от слабо транскрибирующихся клеточных последовательностей (с-мус), родственных вирусному онкогену (v-мус MC29), в различных ALV-индуцированных опухолях увеличивает экспрессию онкогена [Neel B. G. et al., 1982; Fung Yuen-Kai T. et al., 1982]. Оказались успешными попытки активировать *in vitro* трансформирующий потенциал клонированного гена с-мос путем котрансфекции с различными LTR-содержащими плазмидами [Robinson H., Vande Woude G., 1982].

В этой связи представляет интерес установление структурного сходства эндогенных провирусов с транспозонами — генетическими элементами, которые могут перемещаться между хромосомами, соединяя неродственные участки ДНК с образованием разнообразных хромосомных перестроек. Интенсивно исследуются транспозоны бактерий, растений, животных [Георгиев Г. П., 1981; Cohen S., 1976; Shapiro T., 1979]. В настоящее время транспозонам отводится важная роль в регуляции экспрессии клеточных генов, в частности, в активации онкогенов.

Однако G. Cooreg и P. Neiman (1980) не нашли, что клеточные трансформирующие гены ALV-индуцированных опухолей связаны с LTR или иными последовательностями ДНК лейкозного вируса. Таким образом, эти авторы не подтвердили промоторную гипотезу, предполагая, что онкогенез под действием ALV может быть обусловлен участием вируса в не прямой активации клеточных генов, например, вследствие вирусиндуцированных мутаций, хромосомных перестроек. Авторы допускают, что подобный же механизм не прямой активации имеет место и при спонтанном, и при химически индуцированном канцерогенезе.

Получены интересные данные об экспрессии гена с-осп в опухолях человека. В частности, синтез мус-специфической РНК был повышен в клеточной линии, полученной от больного острым лейкозом, в нормальных клетках экспрессия этого гена незначительна [Weiss R., 1982]. В клетках некоторых злокачественных новообразований человека наблюдалась экспрессия гена с-sis — клеточного гомолога онкогена вируса саркомы обезьян (SiSV) [Swan D. et al., 1982]. Примечательно, что ген с-sis локализован

на 22-й хромосоме, транслокации которой отмечены в некоторых новообразованиях человека.

Экспрессия гена *c-myb*, гомолога онкогена *AMV* — вируса птичьего миелобластоза — определялась в линиях, полученных из Т-клеточных лимфом человека. Ген *c-myb* ассоциирован с 6-й хромосомой, перестройки которой находят именно при Т-клеточных лимфомах [Dalla Favera R. et al., 1982].

В клетках лимфомы Беркитта *c-myc*, локализованный на хромосоме 8, транспозируется на хромосому 14, в район расположения генов тяжелых цепей иммуноглобулинов. A. de Klein и соавт. (1982) показали транслокацию онкогена *c-abl* с 9 на филадельфийскую хромосому (Ph^1) при хроническом миелолейкозе. Не исключается возможность, что хромосомные перестройки приводят к активации клеточных онкогенов. Однако повышенная экспрессия какого-либо гена *c-onc* не обязательно свидетельствует о том, что трансформация обусловлена этим онкогеном.

Очевидно, что факторы иммунитета организма действуют в отношении вирусиндуцированных антигенов поверхности опухолевой или трансформированной клетки. Однако трансформирующие белки, о которых речь шла выше, ассоциированы преимущественно с цитоплазмой и внутренней стороной мембраны клетки и поэтому большинство из них не представляют собой мишень, на которую воздействуют факторы иммунной системы. Правда, имеются отдельные исключения. Так стало известно, что 15—20% $pp60^{src}$ локализуется на клеточной поверхности, а 7% — внеклеточно. Из этого следует, что $pp60^{src}$ также может быть объектом для иммунных реакций. Сведения по этому вопросу весьма ограничены и противоречивы. Что же касается $p120^{gag-abl}$, расположенного на поверхности клетки, то имеются данные, что в организме животного-опухоленосителя к нему вырабатываются антитела, вызывающие реакцию отторжения опухоли.

Кроме всей этой обширной группы трансформирующих белков, существуют антигены, представляющие большой интерес с нескольких точек зрения. Благодаря своей мембранной локализации они связаны со злокачественной трансформацией плазматической мембраны и являются наиболее вероятной мишенью для иммунных реакций организма хозяина.

Существование невирионных вирусиндуцированных антигенов в трансформированных РНК-содержащими онкогенными вирусами клетках впервые было показано на модели птичьих вирусов лейкозно-саркоматозного комплекса. В опухолях различных видов млекопитающих, вызванных штаммом Шмидт — Руштин RSV, был найден общий перекрестно реагирующий специфический трансплантационный антиген (TSTA) — мишень для защитных реакций *in vivo* [Jonsson N., Sjögren H., 1965; Jonsson N., 1966]. R. Kurth и H. Bauer (1972) показали, что на поверхности опухолевых и трансформированных ASV клеток кур, мышей и хомяков происходит экспрессия новых макромолекул — общего опухолеспецифического вирусиндуцированного антигена клеточной по-

поверхности, или TSSA. TSSA вирусспецифичен, так как все опухоли, имеющие одну вирусную этиологию, содержат перекрестно реагирующий антиген. Были установлены четкие различия между TSSA и вирионными антигенами RSV [Law L. et al., 1973, 1976; Kurth R. et al., 1975]. Этот антиген чужероден для организма хозяина-носителя опухоли и может стимулировать иммунные защитные реакции *in vivo*.

Впоследствии TSSA был обнаружен на поверхности различных типов клеток, трансформированных ASV *in vitro* либо *in vivo* [Bauer H. et al., 1974, 1975; Kurth R. et al., 1975; Rohrschneider L. et al., 1975]. TSSA экспрессируется на морфологически измененных клетках, но может также появляться и на нетрансформированных клетках, инфицированных ts-мутантами RSV при перазрешающей температуре. J. Wyke и R. Kurth (1978) отметили, что клеточная индуцированная ASV трансформация всегда сопровождается экспрессией TSSA. Отсутствие и трансформации, и TSSA, по их мнению, связано с одной и той же мутацией в гене *src*. L. Rohrschneider и соавт. (1975) представили биохимическую характеристику TSSA. В своей работе авторы использовали метод солиubilизации поверхностных мембран клеток детергентами, реакцию непрямо́й иммунопреципитации и электрофорез в SDS-PAGE. С этой целью клетки метили ^3H -фукозой или ^3H -глюкозамином, антиген экстрагировали с помощью лизирующего буфера с NP40, далее получали иммунный комплекс, который анализировали в SDS-PAGE. В результате было найдено четыре гликозилированных антигена: gp85 и gp37 — компоненты оболочки вирионов, TSSA — большой невирионный антиген (ММ 100 000) и невирионный гликопротеид меньшего размера (ММ 32 000). Авторы предложили несколько гипотез, объясняющих природу TSSA, полагая, что этот антиген либо может быть кодирован непосредственно вирусом, либо он является вирусиндуцированным продуктом клеточного гена. Однако не была исключена возможность третьей гипотезы, которая предполагает, что антиген является комбинированным продуктом, детерминированным как вирусом, так и клеткой.

Н. Вауер и соавт. (1973), сравнив вирусиндуцированные антигены, появляющиеся в трансформированных RSV клетках цыплят и мышей (TSSA), с антигенами эмбриональных клеток птиц и животных, не выявили перекрестных реакций между ними, хотя полностью не исключили возможности эмбрионального происхождения TSSA. Позже эти авторы сообщили, что RSV, а также химические канцерогены индуцируют на поверхности трансформированных ими фибробластов птиц опухоли- и тканеспецифические антигены, иммуногенные для хозяина-опухоленосителя [Вауер Н. et al., 1977, 1979]. Авторы причислили их к эмбриональным антигенам, так как они были обнаружены в клетках эмбриональных культур, полученных от 11-дневных цыплят, но исчезали после культивирования в течение 2 нед. Кроме того, Н. Вауер и соавт. (1977) отметили присутствие вирусиндуциро-

ванного TSSA в клетках, трансформированных RSV, но не химическими канцерогенами.

М. Prat и соавт. (1979) с помощью реакции комплементзависимой цитотоксичности также выявили на поверхности клеток эмбриональных фибробластов хомячков, трансформированных RSV, два компонента: эмбриональный антиген на клетках 10-дневных эмбрионов хомячков, и антиген, специфичный для клеток, трансформированных RSV. Авторы использовали адсорбированную нормальными клетками ксеногенную антисыворотку, полученную от кроликов путем иммунизации их клетками хомячка, трансформированными RSV. Далее эту сыворотку испытывали в реакции комплементзависимой цитотоксичности на клетках-мишенях, меченных ^{51}Cr . Антисыворотка была специфична, так как она проявляла цитотоксическую активность только против трансформированных, но не нормальных клеток хомячков. При изучении экспрессии опухолеспецифического поверхностного вирусиндуцированного невирионного антигена (VCSA) в клетках фибробластов хомячков, трансформированных ts-мутантами RSV, было показано, что VCSA появляется на поверхности клеток, трансформированных этим вирусом, но не каким-либо иным онкогенным вирусом и отличается от известных структурных белков RSV [Comoglio P. et al., 1978]. Последнее положение было доказано путем сравнения анти-VCSA-цитотоксической активности, направленной на различные трансформированные RSV клетки-мишени, с таковой ряда антисывороток, как полученных по отношению к разрушенному детергентами очищенному вирусу, так и полиспецифической антисыворотки к внутреннему ГС-антигену вируса и моноспецифической антисыворотки к очищенному гликопротеиду оболочки gp85.

С помощью ts-мутантов было получено доказательство в пользу существования контроля за экспрессией VCSA со стороны гена src. В клетках, трансформированных ts-мутантами, наблюдалась связь между появлением VCSA и экспрессией трансформирующего гена src. На основании полученных результатов P. Comoglio и соавт. выдвинули две гипотезы, объясняющие природу гена, кодирующего VCSA: VCSA может быть либо прямым продуктом вирусного генома или, находясь под контролем продукта гена src, кодироваться клеточным геномом. Однако к какому-либо окончательному выводу авторы не приходят, оставляя открытым вопрос о существовании связи между VCSA и продуктом гена src — белком pp60^{src}.

J. Biquard и M. Auroix (1978) выявили, что обработка нормальных куриных эмбриональных фибробластов (CEF) 5-бром-дезоксипуридином (БУДР) индуцирует в них синтез нового поверхностного антигена, связанного с TSSA. Появляющийся в результате индукции БУДР новый антиген оказался родственным специфичному для RSV TSSA, который экспрессируется в трансформированных этим вирусом клетках цыплят и млекопитающих. Используемая авторами реакция смешанной гемадсорбции на

новый антиген была положительной независимо от экспрессии вирусных антигенов на клеточной поверхности. Инкубация нормальных CEF с БУДР приводила к экспрессии по крайней мере одной детерминанты TSSA в отсутствие RSV и индуцировала появление морфологических изменений в клетке, несколько отличавшихся от таковых при вирусиндуцированной трансформации. Авторы предположили, что TSSA — это комплекс, состоящий из нескольких (возможно двух) антигенов, один из которых уникален для трансформированных RSV клеток, а другой является общим для клеток, трансформированных вирусом, и клеток, обработанных БУДР.

Предлагаются две гипотезы о происхождении общей детерминанты TSSA. Исходя из установленного факта, что нормальные CEF несут ген, родственный вирусному гену src, предположили, что TSSA, индуцированный БУДР, является белком, кодируемым клеточным геном c-src [Stéhelin D. et al., 1976]. В данном случае БУДР стимулирует экспрессию клеточного белка, который репрессирован в нормальных условиях. Другая гипотеза предполагает, что RSV- и БУДР-индуцированный TSSA кодируется не онкогенными последовательностями клетки, а другим клеточным эмбриональным геном, который реэкспрессируется как в результате вирусного воздействия, так и после обработки клеток БУДР. Согласно второй гипотезе, TSSA — это не что иное, как ранний эмбриональный антиген.

Таким образом, как природа TSSA (VCSA), так и его участие в трансформации пока еще окончательно не установлены. Поскольку TSSA тесно связан с процессом трансформации, то безусловно он может служить специфическим маркером трансформированных вирусом клеток. TSSA, очевидно, имеет значение в противоопухолевом иммунитете. Примером может служить клеточный мембранный антиген (FOCMA), по отношению к которому у кошек с вирусиндуцированными опухолями образуются антитела, вызывающие регрессию опухолей. Изучение биохимической природы TSSA может иметь важное значение также для развития иммунопрофилактики и иммунотерапии опухолей у человека.

Получены интересные данные об опухолеспецифическом клеточном антигене, ассоциированном с ретровирусом кошек (FOCMA) [Essex M. et al., 1974]. Присутствие FOCMA характерно для новообразований, появляющихся в результате инфекции вирусами саркомы (FeSV) и лейкоза домашних кошек (FeLV). Продукция антител к FOCMA является показателем хорошей резистентности организма к развитию опухолей, обусловленных этими вирусами. Антитела к FOCMA способствуют регрессии вирусиндуцированных опухолей, создают устойчивость у животных к введению опухолевых клеток и самого вируса [Essex M. et al., 1975, 1976; Hardy W. et al., 1980]. Полагают, что антитела к FOCMA играют немаловажную роль в защите кошек от развития FeLV- и FeSV-индуцированных новообразований. FOCMA появляется на поверхностной мембране клетки и, по-видимому, отли-

чается от известных структурных вирусных белков [Sliski A. et al., 1977]. При истощающей адсорбции иммунных сывороток основными вирионными белками нуклеокапсида и оболочки (p30 и gp70) антитела к FOCMA не удалялись.

Различают две формы этого антигена, имеющие общие антигенные детерминанты: FOCMA-L и FOCMA-S [Sliski A., Essex M., 1979]. FOCMA-L обнаруживается с помощью реакции иммунофлюоресценции в лимфобластоидных клетках вируспродуцирующих и вируснепродуцирующих лимфосарком кошек, индуцированных FeLV, но не в нормальных клетках и клетках, инфицированных этим вирусом. Для выяснения биохимической природы этого антигена были отобраны кошачьи сыворотки, специфически реагирующие либо с антигенами вируса, либо с FOCMA. Меченные ^{125}I растворимые белки из клеток лимфосаркомы кошек были иммунопреципитированы антисывороткой к FOCMA и анализировались в SDS-PAGE. По данным H. Snyder и соавт. (1979, 1980), изучавшийся белок имеет молекулярную массу 65 000—70 000. Этот антиген не является гликопротеидом, что отличает его от гликозилированного TSSA, индуцируемого в клетках, трансформированных птичьими ретровирусами. Кроме того, FOCMA оказался нефосфорилированным белком. Этим он отличается от фосфорилированного антигена Т ДНК-содержащих онкогенных вирусов и от pp60^{src} RSV, обладающего фосфокиназной активностью и способного подвергаться аутофосфорилированию.

FOCMA-S обнаруживается в клетках фибросарком кошек, трансформированных FeSV. В вируснепродуцирующих клетках норки и крыс FOCMA-S образуется из предшественника, который имеет молекулярную массу 80 000—120 000. Впоследствии этот полипротеин превращается в FOCMA (ММ 65 000) и белок, содержащий антигенные детерминанты структурных белков p12 и p15 FeLV [Stephenson J. et al., 1977]. H. Snyder и соавт. (1980) также сообщили, что молекулярная масса FOCMA-S, выделенного из трансформированных FeSV клеток норки, составляет 65 000—70 000. В мышинных клетках, трансфицированных ДНК-провирусом FeSV, обнаружен белок с молекулярной массой 85 000, содержащий FOCMA и детерминанту p15 FeLV [Rosenberg Z. et al., 1980].

Природа последовательностей, кодирующих синтез FOCMA-L и FOCMA-S, остается неизвестной. Считают, что FOCMA-L может быть вирусиндуцированным белком, кодируемым клеткой, либо он представляет собой продукт рекомбинации генетического материала вируса и клетки. FOCMA-L и fes-белок FeSV различаются между собой [Gardner M. et al., 1980]. Полагают, что FOCMA-S кодируется непосредственно вирусным геномом (FeSV). Прямых доказательств того, что FOCMA-S кодируется трансформирующим геном fes FeSV и может быть ответствен за злокачественную трансформацию клетки, не получено. По-видимому, FOCMA-S содержит общие антигенные детерминанты с fes-компонентом gag-fes-полипротеина, специфичного для клеток, трансформированных

S-T FeSV и G-A FeSV [Chen A. et al., 1981]. Так, антисыворотка к fes-компоненту слитного белка gag-fes, полученная путем истощающей адсорбции вирусными белками, давала положительную иммуофлюоресценцию с клетками лимфомы кошек, содержащими FOCMA. W. Hardy (1980) высказывается также в пользу существования тесной связи между трансформирующим белком FeSV и FOCMA.

Трансформирующий ген FeSV кодирует специфичный для трансформации fes-белок. Предполагают, что геном FeSV, как и других трансформирующих вирусов, образуется путем рекомбинации генов FeLV с геном(ами) нормальных клеток кошек (с-fes). При этом считают, что именно в клеточных последовательностях и заключен трансформирующий потенциал саркоматозного вируса. В клетках, трансформированных FeSV, помимо FOCMA, синтезируется трансформирующий белок — полипротеин gag-fes, включающий детерминанты гена gag и уникальную fes-последовательность («х»). По данным С. Sherr и соавт. (1980), молекулярная масса трансформирующего белка составляет 85 000, а его уникального компонента — 50 000. S. Ruscetti и соавт. (1980) определили, что различные штаммы FeSV кодируют свои собственные трансформирующие белки, отличающиеся от FOCMA-S. У кошек, экспериментально инфицированных FeSV или подверженных воздействию FeLV, были найдены антитела к уникальному району трансформирующего белка (fes-белку) [Chen A. et al., 1980; Gardner M. et al., 1980].

Несомненное значение FOCMA заключается в том, что он может служить маркером клеток, трансформированных вирусами лейкозно-саркоматозного комплекса кошек. Поскольку FOCMA — это мишень, на которую направлены защитные реакции организма, то он может быть использован для приготовления препарата безвирусной противоопухолевой вакцины кошек. Возможна и пассивная иммунотерапия с помощью антител к FOCMA. Была выявлена регрессия опухолей, индуцированных FeSV, после введения анти-FOCMA-антител в 11 случаях из 21 [De Noronha F. et al., 1980]. Антитела к FOCMA вызвали регрессию лимфосарком у 5 из 8 кошек, подвергнутых специфической иммунотерапии [Hardy W. et al., 1980].

В исследованиях по выявлению ассоциированных с ретровирусами антигенов (как вирионных, так и невирионных) в опухолях человека достигнут пока незначительный прогресс по сравнению, например, с обнаружением антигенов Т папавирусов или антигенов, ассоциированных с вирусами группы герпеса в некоторых новообразованиях человека. Роль ретровирусов в возникновении опухолей у человека интенсивно изучается. Важное сообщение было сделано в 1980 г. группой ученых, возглавляемой R. Gallo, о выделении, очевидно, нового ретровируса человека типа С, который ассоциирован с Т-клеточными формами лейкоза и лимфом человека (HTLV) [Poiesz B. et al., 1980]. Вирус, первоначально выделенный из Т-клеток биоптата лимфатического

узла пациента С. R. с Т-клеточной лимфомой (mycosis fungoides), обозначили HTLV С. R., а сходный вирус — HTLV М. В. — был изолирован впоследствии от больного М. В. с кожной формой Т-клеточного лейкоза, известной под названием синдрома Сезари. После того как оба вируса были охарактеризованы, оказалось, что они близкородственны, отличаются от всех известных ретровирусов животных, но имеют некоторое сходство с вирусом лейкоза крупного рогатого скота. В дальнейшем эти авторы показали интеграцию копий ДНК HTLV в геном малигнизированных клеток, вирусные последовательности в нормальных клетках тех же больных отсутствовали. Следующий этап исследований был посвящен определению антител к мажорному внутреннему структурному антигену р24 HTLV С. R. в сыворотке крови больных с Т-клеточными новообразованиями методом радиоиммунопреципитации. Отмечено, что высокие титры антител к р24 были свойственны сывороткам небольшого числа пациентов, в том числе у С. R. и М. В., от которых был получен вирус, и у двух ближайших родственников этих больных, но не у здоровых людей. Выделение вируса из лейкоэмических клеток и обнаружение антител к внутреннему белку у некоторых больных позволило R. Gallo и соавт. предположить, что HTLV играет этиологическую роль в возникновении Т-клеточных форм лейкозов и лимфом у человека.

Независимо от R. Gallo и соавт. японские ученые под руководством J. Ninuma (1981) выделили сходный, если не тождественный, вирус из культивируемых клеток, полученных от больных Т-клеточным лейкозом, — заболеванием, которое является эндемичным для некоторых регионов Японии. Кроме того, этим авторам удалось трансформировать вирусом нормальные Т-лимфоциты человека, используя с этой целью методику сокультивирования инфицированных клеток с лимфоцитами из пупочного канатика [Jamamoto N. et al., 1982]. Обширное эпидемиологическое обследование, проведенное J. Ninuma и соавт. (1981), показало присутствие антивирусных антител у 100% больных с Т-клеточным лейкозом и у 20% здоровых лиц из эндемичных для этого заболевания областей. Таким образом, наряду с ДНК-содержащими вирусами группы герпеса HTLV в настоящее время является одним из наиболее вероятных «кандидатов» в опухолевые вирусы человека.

В решении проблемы вирусной этиологии рака и лейкозов большое место заняли исследования по выделению ретровирусов из перевиваемых клеток злокачественных новообразований человека. В 1972 г. из перевиваемой культуры лейкозных клеток человека J-96 В. М. Жданов и соавт. изолировали ретровирус. Оказалось, что по морфологическим свойствам он подобен вирусам типа С, вызывающим лейкозы у животных. Авторы предположили, что он является лейковирусом человека. Впоследствии было установлено, что линия клеток J-96 продуцирует также вирус типа D. К. В. Ильин и соавт. (1972) обнаружили ретровирус, продуцируемый культурой перевиваемых клеток НЕр-2, которая

происходила из ткани карциномы гортани человека. Было установлено, что длительно перевиваемые культуры клеток, полученные из злокачественных, а также и из некоторых здоровых тканей человека — HEp-2, HeLa, A₁, RH, D-6 и других — спонтанно продуцируют в культуральную жидкость ретровирус типа D [Быковский А. Ф., Ирлин И. С., Жданов В. М., 1974].

Вирус, выделенный из перевиваемых клеток человека, как показали дальнейшие исследования, отличается от вирусов типа С птиц и грызунов, но имеет большое морфологическое и антигенное сходство с вирусом Мэзон — Пфайзера (М-PMV), изолированным из раковой опухоли молочной железы макаки резус [Chopra H., Mason M., 1970]. В дальнейшем была дана подробная характеристика морфологических, молекулярно-биологических и антигенных свойств этого вируса [Быковский А. Ф. и др., 1983].

Установлено, что генетический материал ретровируса типа D интегрирован в виде ДНК-транскриптов с геномами перевиваемых опухолевых клеток человека [Жданов В. М. и др., 1975]. D. Colcher и соавт. (1974) с помощью метода молекулярной гибридизации с использованием ³H-ДНК-транскрипта М-PMV показали, что генетическая информация этого вируса присутствует в РНК раковых опухолей молочных желез человека (в 7 из 10 случаев) и отсутствует в доброкачественных опухолях той же локализации. В. М. Жданов и соавт. (1975) в опытах по кинетике реассоциации выявили нуклеотидные последовательности, гомологичные таковым ретровируса D, в 6 из 11 образцов раковых опухолей молочных желез женщин. Имеются также сообщения об обнаружении группоспецифического антигена ретровируса D в фиброаденомах, но не в злокачественных опухолях молочных желез человека [Ильин К. В., 1976; Альтштейн А. Д. и др., 1977], что находится в противоречии с данными, полученными при молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот.

В результате исследований, проведенных под руководством П. Н. Косякова, установлено, что в длительно перевиваемых культурах раковых и лейкозных клеток человека HeLa, HEp-2, J-96 и других клеток, из которых был выделен ретровирус D, содержится общий специфический антиген, отсутствующий в нормальных тканях взрослых людей и в тканях эмбриона человека и отличающийся серологически от антигенов ретровируса D [Коростелева В. С. и др., 1974]. Иммунные сыворотки, специфичные по отношению к новому антигену, не реагировали с препаратами вируса. С целью дальнейшего изучения специфичности данного антигена исследовали другие штаммы перевиваемых клеток человека, а также длительно культивируемые линии клеток приматов, мыши и свиньи. Иммунные сыворотки к антигену перевиваемых клеток HeLa, HEp-2 и J-96 открывали идентичный антиген во многих перевиваемых культурах человеческого происхождения: Detroit-6, FL, A₁, RH, Wisch (табл. 7). Сходный антиген был найден и в длительно перевиваемых линиях клеток обезьян ППО, ПАО, МИО, СОЦ, Vero. Однако в культурах клеток L₉₂₆

Таблица 7. Новый антиген в клетках перевиваемых культур тканей человека (по данным РСК)

Антиген	Иммунные сыворотки к культурам опухолевых клеток человека									
	HeLa					HEp-2				
	1 : 320	1 : 640	1 : 1280	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640
Культура тканей: клетки HeLa HEp-2 J-96	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++ ++++
Вирус из клеток: HeLa HEp-2 J-96	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
культуральной жидкости J-96	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
Сыворотка крупного рогатого скота	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
Ткань взрослого человека: печень почка селезенка мышца легкое строма эритроцитов группы А строма эритроцитов группы В сыворотка	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —	— — — — — — — — —
Ткань эмбриона человека: печень селезенка мышца сердца легкое мозг кишечник	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —	— — — — — — —

Примечание. ++++ степень положительной РСК; — отрицательный результат реакции.

Таблица 8. Новый антиген в перевиваемых культурах опухолевых и нормальных клеток человека и животных

Антиген	Иммунные сыворотки к культурам клеток человека		
	HeLa	HEp-2	J-96
<i>Культура тканей человека:</i>			
HeLa — рак шейки матки	+	+	+
HEp-2 — карцинома гортани	+	+	+
J-96 — лимфобласты больного лейкозом	+	+	+
Detroit 6 — костный мозг больного раком легкого	+	+	+
FL — амнион	+	+	+
A ₁ — амнион	+	+	+
RH — почка эмбриона	+	+	+
Wisch — плацента	+	+	+
<i>Культура тканей обезьяны:</i>			
ППО — почка макаки резус	+	+	+
Vero — почка африканской зеленой мартышки	+	+	+
МИО — миндалины макаки резус	+	+	+
ПАО — паховый лимфатический узел макаки резус	+	+	+
СОЦ — сердце обезьяны циномольтус	+	+	+
Клетки L ₉₂₉ мыши — фибробласты	—	—	—
Клетки ПЭС — почки эмбриона свиньи	—	—	—

Примечание. +, — наличие и отсутствие антигена в соответствующих линиях клеток.

(мыши) и ПЭС (свиньи) этот антиген отсутствовал (табл. 8). Авторы впервые высказали предположение о том, что появление в изученных перевиваемых культурах клеток нового общего для них антигена зависит от персистирующего в них тождественного

Таблица 9. Новый антиген в клетках перевиваемых линий человека и животных

Специфическая сыворотка	Антиген									
	клеточные линии							сыворотка быка	ретровирус D	селезенка человека
	человека			животных						
	HeLa	FS-4	V	CV-1	Vero	L-929	SIRK			
К новому антигену перевиваемой линии клеток HeLa	1280	—	2560	1280	1280	—	—	—	—	—
К ретровирусу D	40—80	—	40	40	20	—	—	—	80	—

Примечание. Приведены обратные величины титров антител в РСК с соответствующими антигенами. За титр сыворотки принимали разведение, дающее положительную реакцию ++. — отрицательный результат.

или близкородственного ретровирусов, которые, по-видимому, индуцируют синтез антигена, не входящего в структуру вирионов.

В дальнейшем был исследован большой набор длительно перевиваемых и первично трипсинизированных культур клеток человека и животных на наличие в них нового ассоциированного с ретровирусом D антигена [Посевая Т. А. и др., 1978] (табл. 9, 10). Все первично трипсинизированные культуры оказались свободными от этого антигена, как и диплоидные клетки человека и длительно перевиваемые клетки кролика, мыши, собаки, свиньи и летучей мыши. Однако в длительно перевиваемых клетках человека (ДП), обезьян, быка и сирийского хомяка был найден ассоциированный с ретровирусом D новый антиген. Обнаружение в клетках этого антигена может служить показателем инфицированности культур данным вирусом, присутствующим в геноме клетки в виде ДНК-транскрипта. Вопрос об источнике инфицирования некоторых клеток человека и животных ретровирусом D остается еще не выясненным. Нельзя исключить возможности контаминации некоторых ДП-культур от культур-носителей этого вируса. Таковыми могли явиться клетки культуры мака резусов, у которых найден вирус Мэзон — Пфайзера, сходный с ретровирусом D. Однако нельзя не учитывать возможность персистенции ретровируса D в организме человека. Обнаружение антител к этому вирусу в сыворотке крови некоторых лиц подтверждает это положение [Бердинских М. С. и др., 1976].

Одновременное присутствие в перевиваемых клетках человека антигена вируса и нового вирусиндуцированного антигена затрудняет их дифференцирование и получение моноспецифических сывороток по отношению к этим антигенам. Мы провели сравнительное изучение физико-химических свойств вирусного и нового антигена для установления возможных различий между ними [Коростелева В. С. и др., 1975].

Оказалось, что эти антигены неодинаково устойчивы к действию некоторых физических и химических факторов (табл. 11). Так, новый антиген более чувствителен, чем вирусный антиген, к действию эфира и хлороформа. Серологическая активность нового антигена утрачивалась полностью или значительно снижалась в результате его обработки этими веществами. Однако он сохранял активность после прогревания при 60 °C и постепенно разрушался при более высокой температуре. Напротив, вирусный антиген был относительно устойчив к эфиру и хлороформу, но оказался более лабильным к повышенной температуре. Он инактивировался после прогревания при 60 °C в течение 30 мин.

Различия в свойствах вирусного и нового антигенов мы использовали для получения моноспецифических противовирусных сывороток, свободных от антител к клеткам, из которых вирус был выделен [Коростелева В. С. и др., 1975; Посевая Т. А., Косякова Н. П., 1975] (табл. 12). Для характеристики нового антигена был использован также метод смешанной гемадсорбции [Косякова Н. П. и др., 1980]. Специфическая сыворотка к новому

Таблица 10. Результаты исследования культур клеток человека и животных на наличие в них ассоциированного с герпес-вирусом D нового антигена

Символ, исследованная культура	Тип культуры	Источник, время получения	Тип Г-6-ФДГ	Наличие нового антигена
FS-4, фибробласты кожи человека	Диплоидный штамм ДП	США, 1976 г., 11—15-й пассаж	В	—
V, амнион человека		Венгрия, 1976 г.	А	+
KB, эпидермальная карцинома рта человека	ДП	СССР (Институт молекулярной биологии АМН СССР), 1977 г.	А	+
A-204 рабдомиосаркома человека	ДП	США, 1977 г.	В	—
КС, астроциты человека, трансформированные вирусом саркомы Рауса	ДП	СССР, 1977 г.	В	—
ПЭЧ, клетки почки эмбриона человека	ПТ	СССР (Институт вирусологии АМН СССР)	В	—
ФЭЧ, фибробласты эмбриона человека	ПТ	То же	В	—
RS-537, фибробласты кожи кролика	ДП	Франция, 1976 г.	Соответствует виду	—
SIRK, клетки почки кролика	ДП	ЧССР, 1976 г.	То же	—
ПЭК, клетки почки эмбриона кролика	ПТ	СССР (Институт вирусологии АМН СССР)	» »	—
BSC-1, клетки почки африканской зеленой мартышки	ДП	Швеция, 1975 г.	» »	+
CV-1, клетки почки африканской зеленой мартышки	ДП	Франция, 1976 г.	» »	+
Vero, клетки почки африканской зеленой мартышки	ДП	США, 1976 г.	» »	+
ПЗМ, клетки почки африканской зеленой мартышки	ПТ	СССР (Институт полиомиелита АМН СССР)	» »	—
L ₂ 99, соединительная ткань мыши	ДП	Франция, 1976 г.	» »	—
PS, клетки почки свиньи	ДП	ЧССР, 1976 г.	» »	—
MDBK, клетки почки быка	ДП	Англия, 1976 г.	» »	+
MDCK, клетки почки собаки	ДП	США, 1976 г.	» »	+
BHK-21, клон 13, клетки сирийского или золотистого хомяка	ДП	СССР (Институт вирусологии АМН СССР)	» »	+
Ba1, клетки легкого летучей мыши	ДП	ЧССР, 1977 г.	» »	—

Таблица 11. Физико-химические свойства нового и вирусного антигенов культур злокачественных клеток человека HeLa, HEp-2, J-96 по данным РСК

Иммунная сыворотка	Антигены						
	клетка			вирус			60° С
	нативная	эфир	хлороформ	60° С	нативная	эфир	
К нативной клетке	+	—	—	+	—	—	—
К обработанной эфиром клетке	+	+	+	+	+	+	—
К ретровирусу из культуральной жидкости (очищенному в градиенте сахарозы 20—60%)	+	+	—	+	—	+	—

Примечание. + и — соответственно положительный и отрицательный результат РСК.

Таблица 12. Специфические антисыворотки к новому антигену и к вирусу

Антисыворотка	Разведение сыворотки	Антигены				
		HEp-2 нативный	HEp-2 гретый	вирус	селезенка нативная	бычья сыворотка
К новому антигену № 23	1:40	++++	++++	—	—	—
	1:80	++++	++++	—	—	—
	1:160	++++	++++	—	—	—
	1:320	++++	++++	—	—	—
	1:640	++++	++	—	—	—
К ретровирусу D	1:20	—	—	++++	—	—
	1:40	—	—	++++	—	—
	1:80	—	—	+++	—	—
	1:160	—	—	++	—	—
	1:320	—	—	+	—	—

Примечание. +++, ++, + различная степень выраженности РСК; — отсутствие реакции.

антигену давала циркулярные зоны гемадсорбции на поверхности культуры клеток HEp-2, обусловленные наличием в них специфического антигена. Между диаметром зоны гемадсорбции и логарифмом разведения специфической сыворотки, как правило, наблюдалась линейная зависимость. Изменение диаметра зоны на 6—7 мм соответствовало 10-кратному изменению концентрации сыворотки (рис. 6).

ва Н. П., 1980], предложенного М. Cikes (1975). Новый антиген присутствовал в клетках НЕр-2, появлялся в результате индукции вирусом D в клетках кролика RS-537, отличался от антигенов ретровируса D, неинфицированных вирусом клеток RS-537 и антигенов ткани нормальной селезенки плода человека (табл. 13).

Таблица 13. Выявление раннего антигена, индуцируемого ретровирусом D, методом ^{51}Cr -РСК с помощью специфической антисыворотки в разведении 1:80

Разведение антигенов	Антиген				
	вирусиндуцированный из клеток НЕр-2	вирусиндуцированный из клеток RS-537, зараженных вирусом D	из незараженных клеток RS-537	ретровируса D	нормальной ткани плода человека
	фиксация комплемента, %				
1:2	97,4	98	—	18	7
1:4	97	97	—	6	3
1:8	96,5	95	—	—	—
1:16	96	36	—	—	—

Примечание. Фиксация комплемента определяется по формуле:

$$\frac{n \text{ контроля} - n \text{ образца}}{n \text{ контроля}} \cdot 100\%.$$

где n — число импульсов в минуту в 10 мкл супернатанта.

Таким образом, полученные результаты дали нам основание утверждать, что ретровирус D действительно являлся агентом, который индуцировал в клетках НЕр-2, HeLa, J-96 и других биосинтез нового антигена, не входящего в структуру вириона и отличающегося от антигенов неинфицированных клеток. Новый антиген, индуцированный вирусом в ФЭК, обладал полноценными антигенными свойствами. По отношению к нему была получена от кроликов иммунная сыворотка, которая обладала такой же специфичностью к новому антигену, как и сыворотки, полученные при иммунизации кроликов клетками НЕр-2, J-96 и HeLa.

Обнаружение нового вирусассоциированного антигена открывало возможность сравнения его с антигенами раковых опухолей человека. Установление сходства антигена, индуцированного ретровирусом типа D в перевиваемых человеческих клетках, со специфическими антигенами, возникающими в злокачественных клетках так называемых «спонтанных» опухолей людей, в которых до настоящего времени еще не найдено вируса, могло бы иметь значение для выяснения роли вируса типа D в этиологии рака и других злокачественных новообразований у человека. Мы исследовали злокачественные и доброкачественные опухоли молочных желез человека, поскольку в отношении этих новообразова-

ний имелись сообщения о связи их с вирусом D [Colcher D. et al., 1974].

Для этого использовали удаленные во время операций ткани злокачественных и доброкачественных опухолей молочной железы различного морфогенеза с гистологически подтвержденным диагнозом. Контролем служили ткани органов (печень, почка, селезенка, легкое, мышца сердца) здоровых случайно умерших взрослых людей и эмбрионов человека до 3 мес внутриутробного развития. Кроме того, во многих случаях неопластических заболеваний в качестве контроля исследовали не пораженные опухолевым процессом участки железы от тех же больных.

В тканях раковых опухолей молочных желез у 9 из 54 обследованных больных был обнаружен антиген, сходный по своей специфичности с невирионным антигеном, возникающим в клетках культур тканей в результате инфицирования их вирусом D (табл. 14) [Косяков П. Н. и др., 1978]. Отсутствие антигена, ас-

Таблица 14. Наличие нового антигена, ассоциированного с ретровирусом D, в доброкачественных и злокачественных опухолях молочной железы человека

Объект исследования	Число случаев	Из числа исследованных					
		не содержат антиген	содержат антиген	обратные величины титра антигенов в РСК для положительно реагирующих опухолей			
				40	80	160	320
Раковые опухоли	54	45	9	1	5	2	1
Фиброаденомы	8	8	0	0	0	0	0
Мастопатии	9	9	0	0	0	0	0

социированного с вирусом D, в тканях этих злокачественных опухолей у большинства (83,3%) обследованных нами больных согласуется с наблюдениями других авторов. Так, D. Colcher и соавт. (1974) методом молекулярной гибридизации с использованием ³H-ДНК-транскрипта вируса Мезон — Пфайзера показали, что информация этого вируса присутствует в РНК, полученных из опухолей молочных желез человека, в 7 из 10 случаев. Однако в другой работе, выполненной с помощью этой же методики, обнаружить в таких опухолях РНК, специфическую для вируса Мезон — Пфайзера, не удалось [Colcher D. et al., 1975]. В. М. Жданов и соавт. (1975) в опытах по кинетике реассоциации выявили нуклеотидные последовательности, гомологичные последовательностям ретровируса D, только в 6 из 11 образцов исследованных раковых опухолей молочных желез человека. Из этих данных следует, что иммунологическими и молекулярно-биологическими методами далеко не всегда удается установить связь между ретровирусом D и раковыми заболеваниями молочных желез человека.

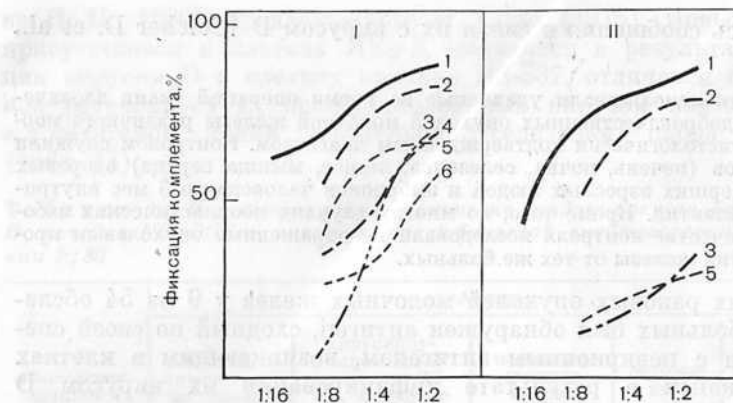


Рис. 8. Выявление нового антигена ретровируса D в опухолях человека микрометодом фиксации комплемента с использованием радиоактивного хрома (^{51}Cr -РСК).

1 — реакция с антигеном из клеток НЕр-2; 2—6—реакция с антигенами из опухолей молочных желез человека. По оси абсцисс — разведения антигенов при разведениях антисыворотки 1 : 40 (I) и 1 : 80 (II).

Примечательным, однако, является тот факт, что, если в тканях раковых опухолей человека генетическая информация ретровируса D или индуцированный им невирионный антиген в большем или меньшем проценте случаев были обнаружены, то в нормальных тканях, как это следует из проведенных нами исследований и цитированных выше работ, они отсутствовали. Более того, этот антиген не удалось выявить и в тканях доброкачественных опухолей молочных желез человека. Разумеется, небольшое число исследованных опухолей не дает еще оснований утверждать о принципиальном значении этого факта.

По полученным нами данным титры выявленного антигена в тканях злокачественных опухолей колебались в большинстве случаев в пределах 1 : 80—1 : 160, т. е. были ниже, чем содержание этого антигена в культурах клеток человека НЕр-2 или J-96. Дальнейшие исследования [Косяков П. Н. и др., 1981] позволили уточнить первоначальные результаты, серьезно не изменив всей картины в целом.

С помощью ^{51}Cr -РСК мы исследовали опухоли молочных желез женщин на наличие в них нового антигена, индуцированного ретровирусом D (рис. 8) [Павлюченкова Р. П., Косякова Н. П., 1980]. Новый антиген был найден в 8 из 13 образцов опухолей, в том числе в 4 опухолях, в которых этот антиген не определялся в РСК при классической постановке опыта. Антигены опухолей в разной степени фиксировали комплемент в реакции с антисывороткой, взятой в разведении 1 : 40 и 1 : 80. С антисывороткой в разведении 1 : 80 реагировали лишь антигены 3 опухолей и в реакции только с одним антигеном был получен достаточно высокий процент фиксации комплемента.

Проводилось изучение доброкачественных и злокачественных опухолей от 254 больных на наличие в них антигена, ассоциированного с ретровирусом D (табл. 15). С равной приблизительно

Таблица 15. Антиген, индуцированный ретровирусом D, в опухолях различной локализации

Объект исследования	Число случаев	Результаты		Обратные величины титров антител в РСК				Частота обнаружения антигена, %
		положительные	отрицательные	40	80	160	320	
Рак молочной железы	109	12	97	2	6	2	2	11
Фиброаденома молочной железы	40	5	35	0	5	0	0	12,5
Фиброзно-кистозная мастопатия	38	1	37	1	0	0	0	2,6
Рак легкого	22	12	10	4	6	1	1	54,5
Рак желудка	29	2	27	1	1	0	0	8
Рак толстой кишки	16	4	12	1	3	0	0	25
Ткани, не пораженные раком, тех же больных	86	0	86	0	0	0	0	0

частотой вирусиндуцированный антиген определялся в раковых опухолях и в тканях фиброаденомы молочных желез. Следует отметить, что в раковых опухолях легкого выявляется наибольший процент положительных находок по сравнению с опухолями других локализаций. Довольно часто этот антиген обнаруживался и в раковых опухолях толстой кишки — у 4 (25%) из 16 обследованных пациентов и значительно реже — в тканях рака желудка. Серологическая активность различных опухолей была неодинаковой (табл. 16).

Встречались опухоли, которые стимулировали 100% фиксацию комплемента специфической сывороткой в разведении 1:160—1:320. По своей активности эти опухоли приближались к клеткам Нер-2, в которых и был первоначально открыт новый антиген, индуцированный ретровирусом D. Антигены других опухолей с таким же содержанием белка в рабочей дозе стимулировали фиксацию комплемента сывороткой только на 75 и 50% или давали выраженную реакцию лишь с более концентрированной сывороткой. Причина неодинаковой серологической активности антигенов из различных опухолей остается неизвестной. Можно предполагать, что это зависит от числа клеток, содержащих вирусиндуцированный антиген в опухолевой ткани.

Таким образом, устанавливается определенная связь между клетками некоторых злокачественных опухолей и наличием в них

Т а б л и ц а 16. Серологическая активность (в процентах) различных опухолей

Объект исследования	Разведения сыворотки			
	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
Рак молочной железы:				
№ 1	100	100	100	100
№ 6	100	100	100	75
№ 4; 9	100	75	50	0
№ 2; 3; 8	100	75	0	0
№ 5	75	50	0	0
№ 10	50	0	0	0
Рак легкого:				
№ 20	100	100	75	50
№ 19	100	75	50	0
№ 23; 29	100	75	0	0
№ 25; 26; 27 и 30	75	50	0	0
№ 21; 22; 24	50	0	0	0
Фиброаденома молочной железы:				
№ 13; 14	100	75	0	0
№ 15	100	50	0	0
№ 16; 17	75	50	0	0
Рак желудка:				
№ 36	75	50	0	0
№ 35	70	0	0	0
Рак кишечника:				
№ 312	100	75	0	0
№ 33; 34	75	50	0	0
№ 31	50	0	0	0
Фиброзно-кистозная мастопатия	50	0	0	0
Нормальные ткани	0	0	0	0

Примечание. Степень фиксации комплемента специфической сывороткой в присутствии различных антигенов: 100% — фиксация комплемента (полная задержка гемолиза); 75—50% — неполная фиксация комплемента (частичная задержка гемолиза); 0 — отсутствие фиксации комплемента (полный гемолиз).

антигена, ассоциированного с ретровирусом D. Природа этой связи остается неясной. Вопросы о том, является ли ретровирус D причинным фактором трансформации клеток некоторых опухолей или он всего лишь вторичный контаминант их, требуют дальнейшего изучения. Несомненно, однако, то, что обнаружение в клетках опухолей антигена, ассоциированного с ретровирусом D, служит прямым доказательством в пользу наличия в них этого вируса или его генома, индуцирующих синтез нового для клеток специфического антигена. О широком распространении среди людей ретровируса D или родственного ему антигенного варианта свидетельствуют антитела, обнаруживаемые в 72% исследованных сывороток крови онкологических больных и здоровых лиц [Бердинских М. С. и др., 1976].

Эти исследования послужили основанием для изучения роли ДНК ретровируса D в возникновении нового невирионного антигена и поиска генетической информации, обуславливающей син-

тез данного антигена, в различных опухолях человека [Косякова Н. П., Павлюченкова Р. П., 1982]. Оказалось, что ДНК из клеток Нер-2, обладает свойством индуцировать образование в клетке нового антигена. Трансфекция была успешной во многих клеточных системах (табл. 17). Тот же вирусиндуцированный

Таблица 17. Трансфекция ДНК из клеток Нер-2 в различные культуры клеток с помощью Са — фосфатного метода и ДМСО

Иммунная сы- воротка	Разведение сыворок	Антигены						
		Нер-2	Vero исходная	Vero+ ДНК	RS-537 исходная	RS-537+ ДНК	ФЭЧ ис- ходная	ФЭЧ+ ДНК
К новому анти- гену № 23	1:40	++++	—	++++	—	+++	—	+++
	1:80	++++	—	+++	—	++	—	+
	1:160	++++	—	++	—	—	—	—
	1:320	++++	—	—	—	—	—	—
	1:640	++	—	—	—	—	—	—
Контроль	КА	—	—	—	—	—	—	—
	КК	—	—	—	—	—	—	—
	КГС	++++	—	—	—	—	—	—

Примечание. ФЭЧ — фибробласты эмбриона человека; КА — контроль антигена, КК — контроль комплемента, КГС — контроль гемолитической системы.

антиген обнаруживался и в непрямой реакции иммунофлюоресценции (рис. 9, 10). Клетки Vero, трансфицированные ДНК из клеток Нер-2, давали поверхностное свечение к 18 ч со специфической сывороткой к новому антигену. Кроме того, мы выявили, что именно ДНК изучавшегося вируса индуцирует и, по-видимому, кодирует синтез невирионного антигена (табл. 18). Уста-

Таблица 18. Трансфекция ДНК из клеток Нер-2 при использовании различных методов трансфекции и воздействий на препараты ДНК

Метод трансфекции	Обработка препарата	Обратные титры индуцированных антигенов
1M NaCl	—	40—80
ДЭАЭ — декстран	—	40—80—160
Ca ²⁺ + ДМСО	—	80—160—320
Ca ²⁺ + ДМСО	ДНКаза	—
Ca ²⁺ + ДМСО	Проназа	80
Ca ²⁺ + ДМСО	РНКаза	80
Ca ²⁺ + ДМСО	1 ч при 56 °C	80

новленный факт дал основание провести исследование опухолей человека на наличие в них генетической информации ретровируса D. Обнаружение генетического материала ретровируса в тканях опухолей человека может, несомненно, служить дополнитель-

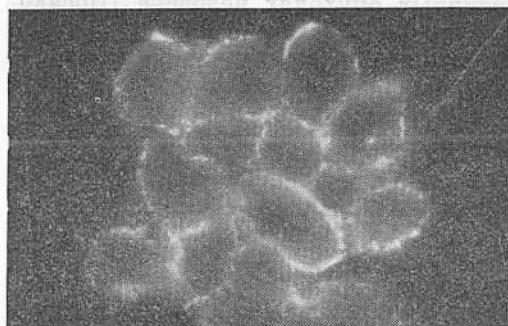


Рис. 9. Свечение в клетках Vero, трансфицированных ДНК из клеток HEp-2. $\times 560$.

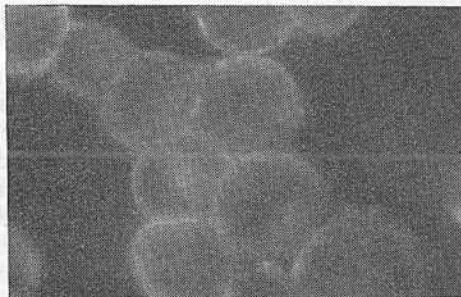
ным доказательством в пользу этиологической роли вируса D в происхождении некоторых опухолей. В опытах по трансфекции мы исследовали 23 образца ДНК, полученных из клеток опухолей человека различной локализации, на способность индуцировать синтез нового антигена, ассоциированного с ретровирусом D (табл. 19). Кроме того, было исследовано 6 образцов ДНК, полу-

Таблица 19. Трансфекция ДНК, выделенных из опухолей человека

Объект исследования	Число образцов	Реакция со специфической сывороткой к новому антигену, ассоциированному с ретровирусом D		Титр антигенов в РСК
		+	-	
Рак молочной железы	7	4	3	1:40—1:80
Фиброаденома молочной железы	2	0	2	0
Фиброзно-кистозная мастопатия	1	0	1	0
Рак легкого	6	6	0	1:40—1:80— —1:160
Рак желудка	5	2	3	1:40
Рак ободочной кишки	1	1	0	1:40
Рак поджелудочной железы	1	1	0	1:40
Нормальные ткани	6	0	6	0

ченных из нормальных тканей человека. ДНК из 14 раковых опухолей молочных желез, легкого и желудочно-кишечного тракта индуцировали появление нового антигена, что указывает на присутствие в клетках этих опухолей по крайней мере участка вирусного генома, который кодирует синтез нового антигена. Наблюдалось соответствие между наличием в данных опухолях биологически активной ДНК и обнаружением в этих же опухолях новых антигенных маркеров. Ни одна ДНК из исследованных

Рис. 10. Отсутствие свечения в незараженных клетках Vero. $\times 700$.



6 образцов нормальных тканей продукцию этого антигена не вызывала.

Новые опухолеспецифические антигены, индуцируемые ретровирусами на поверхности клетки, заслуживают особо пристального внимания. Пока еще не известна их роль в возникновении опухолей. Не исключено, что они имеют большое значение в противоопухолевом иммунитете [De Noronha F. et al., 1980; Hardy W. et al., 1980]. Обнаружение в опухолях человека вирусиндуцированных антигенов и антител к ним в сыворотках крови больных открывает возможность использования их в диагностических целях, для иммунопрофилактики и иммунотерапии злокачественных новообразований.

Глава 9

АНТИГЕНЫ ОПУХОЛЕЙ СПОНТАННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Антигены, описанные выше — групповые, эмбриональные, тканевой совместимости и другие, — не определяют специфичности злокачественных новообразований человека, так как они в большем или меньшем количестве содержатся и в нормальных клетках. Однако в опухолях были найдены и специфические, только им присущие антигены. Своеобразие морфологической структуры опухолевых клеток и тканей, особенности их биохимического состава и обмена давали основание предполагать, что и по антигенным свойствам они отличаются от нормальных клеток и тканей. Однако экспериментальное решение этого вопроса встретило огромные методические трудности. Иммунологические реакции (агглютинации, преципитации, связывания комплемента и др.), давшие столь блестящие результаты в диагностике инфекционных заболеваний, оказались мало пригодными для изучения антигенной структуры злокачественных опухолей. Бактерии, вирусы и другие патогенные агенты при помощи этих методов могут быть сравнительно легко дифференцированы от самых разнообразных и сложных антигенных компонентов организма. Найти же в раковых клетках такие антигенные вещества, которые не содержались бы в нормальных клетках того же индивида, оказалось значительно труднее.

Опухоли, этиология которых не установлена, принято относить к категории новообразований так называемого спонтанного происхождения. Исходя из этого определения, все человеческие опухоли, за отдельным исключением, могут быть отнесены к этой группе, так как этиология большинства их, если не всех, остается еще не установленной. Доказательство в пользу этиологической роли вирусов, а также роли химических и физических канцерогенов в происхождении злокачественных новообразований у животных приводит к постепенному сужению группы опухолей, возникающих якобы спонтанно. На самом же деле, появление всех злокачественных новообразований связано с тем или другим, а при некоторых опухолях — и со многими экзогенными и эндогенными факторами и механизмами, включая и генетические особенности животного. Такое же положение, по-видимому, справедливо и в отношении опухолей человека. В настоящее время не возникает сомнений в том, что в трансформации нормальных человеческих клеток в опухолевые клетки участвуют и вирусы, и химические канцерогены, и физические (облучение) агенты, как и в мире животных. Однако если для многих животных этиологическая роль вируса в возникновении опухолей экспериментально доказана в полном соответствии с классической триадой Коха, то для человека такой путь решения неприемлем, как исключается и экспериментирование с канцерогенами на уровне человеческого организма. Поэтому возникает необходимость поиска косвенных доказательств в пользу причастности вирусов к возникновению злокачественных новообразований у человека.

Один из важнейших путей к решению этой проблемы открыла иммунология. Успехи в области диагностики, профилактики и терапии инфекционных заболеваний, достигнутые к началу XX столетия, давали основание предполагать, что и борьба со злокачественными новообразованиями будет успешной благодаря применению тех же микробиологических и иммунологических методов. Однако в действительности эта проблема оказалась неизмеримо более трудной, чем проблема борьбы с инфекционными заболеваниями. Не был открыт ни один действительный возбудитель злокачественных опухолей человека, как остаются весьма скромными достижения в этой области и за прошедшие десятки лет. Более того, было экспериментально доказано, что опухоли могут возникать под действием не только вирусов, но и химических и физических (облучение) агентов. Это обстоятельство значительно усложнило возможность использования иммунологических методов в области онкологии.

Первичную основу иммунитета, как известно, составляют антигены, а вторичную — реакция на них иммунокомпетентных клеток и антитела. Без антигенов нет специфической диагностики, профилактики и терапии. Первым исследователям, пытавшимся применить иммунологические методы для решения проблемы рака, приходилось решать одно уравнение с двумя неизвестными: неизвестным был антиген или антигены, возникающие

в опухолях, неизвестными оставались и антитела. Естественным было думать, что, если злокачественный процесс сопровождается появлением новых антигенов, то последние находятся прежде всего в раковых клетках. Поэтому внимание исследователей сосредоточивается на поисках в раковых клетках специфического для них антигена, отличающегося от антигенов нормальных клеток. Большинство работ было проведено с ксеногенными сыворотками, полученными при иммунизации животных различными препаратами из злокачественных новообразований человека, реже применялись аллогенные или сингенные сыворотки, получаемые от онкологических больных. Основной иммунологической реакцией для выявления у раковых больных антигенов и антител была РСК, столь успешно применявшаяся при диагностике сифилиса и других заболеваний. Однако результаты этих исследований, как известно, не дали ощутимого положительного эффекта, несмотря на то, что в этих поисках участвовали известные ученые, внесшие в свое время большой вклад в развитие иммунологии.

Например, Е. Dungen (1912) получал спиртовые и ацетоновые экстракты из опухолей и изучал их в РСК с сыворотками крови онкологических больных. В большинстве случаев (91%) эти сыворотки реагировали с липидными экстрактами из опухолей. Однако с данными препаратами реагировали и сыворотки крови больных сифилисом, что дало автору основание усомниться в специфичности реакции. Затем это было подтверждено многими другими исследователями. Большая серия работ, посвященных изучению антигенной специфичности раковых опухолей человека, была выполнена такими выдающимися иммунологами, как Е. Witebsky, L. Hirszfild с сотрудниками и другими авторами, которые получали липидные экстракты из злокачественных опухолей и испытывали их в РСК с гетероиммунными сыворотками. Согласно данным Н. Lehman-Facijs (1934), спиртовые экстракты из опухолей наряду с гетерогенными и групповыми антигенами содержали и специфические для опухолей антигенные вещества, которые были одинаковы в опухолях различной локализации. Иные результаты получил Е. Witebsky (1930). В его экспериментах кроличья иммунная сыворотка к злокачественной опухоли яичника реагировала в РСК только со спиртовым экстрактом этой опухоли и не давала реакции со спиртовыми экстрактами злокачественной опухоли прямой кишки и нормальных органов человека. Сыворотка же к раковой опухоли желудка реагировала с липидами из злокачественной опухоли желудка другого пациента и не реагировала с липидными экстрактами из тканей нормального желудка. Автор пришел к заключению, что в раковых опухолях человека содержатся антигены, которые в нормальных тканях отсутствуют. Опухоли различной локализации обладали своими особыми специфическими антигенами.

Другие результаты были получены L. Hirszfild и соавт. (1930). Согласно данным этих авторов, иммунные кроличьи сыворотки реагировали с липидами всех исследованных злокачественных

опухолей вне зависимости от их локализации. Исключением были метастазы, которые дали отрицательную реакцию. Сыворотки крови онкологических больных (до 70%) также реагировали с липидами из раковых опухолей, как и иммунные кроличьи сыворотки. На основании сопоставления полученных результатов авторы пришли к выводу о серологическом единстве специфических раковых антигенов в опухолях различной локализации. Специфичность этих реакций, однако, не подтвердилась. Оказалось, что с липидами из опухолей реагируют сыворотки крови не только онкологических больных, но и беременных женщин, а также больных сифилисом и туберкулезом. Часто сыворотки крови больных раком вступали в реакцию со спиртовыми экстрактами из нормальных тканей и доброкачественных опухолей.

Приведенные выше работы составили определенный этап в иммунологии опухолей человека. Несмотря на то что авторам не удалось с достоверностью доказать наличие в опухолях специфических антигенов, а в сыворотке крови больных раком специфических антител, была убедительно показана необходимость дифференцирования опухолевых антигенов от групповых, гетерогенных и других антигенов, содержащихся как в нормальных клетках и тканях, так и в опухолях. Эти работы поставили важный для иммунологии злокачественных новообразований вопрос о сходстве или различии антигенов в опухолях разной локализации. Н. Lehman-Facijs и E. Witebsky придерживались мнения о том, что опухоли разной локализации содержат неодинаковые по своей специфичности антигены. Согласно же данным L. Hirszfeld и соавт., специфичность раковых липидных антигенов не зависит от локализации опухоли, т. е. опухоли разной локализации содержат одинаковые по своей специфичности антигены. Последние работы важны еще и тем, что они обратили внимание на антигенное сходство раковых и эмбриональных тканей. В дальнейшем это подтвердилось открытием РЭА и АФП.

Работы этого периода имели ряд существенных методических недостатков. Они были выполнены с применением не полностью истощенных гипериммунных сывороток при ограниченном наборе контрольных антигенов. Эти антигены не всегда уравнивались по количеству в них белка или другого активного вещества, не всегда проводилось титрование антигенов и комплемента перед постановкой основного опыта. Полученные из опухолей липиды «не оправдали себя» в диагностической практике как тест-антигены. Они реагировали почти одинаково с сыворотками крови как больных раком, так и беременных и некоторых инфекционных больных. Однако сыворотки крови онкологических больных часто реагировали не только с липидами, полученными из опухолей, но и с гликолипидом из мышцы сердца быка (вассермановским антигеном), спиртовым раствором холестерина.

После некоторого спада в исследованиях, посвященных специфическим антигенам злокачественных новообразований человека, интерес к этой проблеме вновь начал возрастать. L. Mann

и W. Welker (1943) сообщили, что им удалось получить гипериммунные кроличьи сыворотки к раковым опухолям желудка, молочной железы, матки, прямой кишки. По данным этих авторов, сыворотки крови после адсорбции альбуминами или глобулинами здорового человека давали реакцию кольцепреципитации с аутолизатами опухолей и сывороткой крови больных раком и не реагировали с аутолизатами нормальных органов, сывороткой крови здоровых лиц и больных туберкулезом. Н. Penn (1952) выделил из печени онкологических больных липидный антиген, который давал реакцию флоккуляции с сывороткой крови больных раком. Липидный экстракт, полученный из печени пациентов с доброкачественными опухолями и с иными заболеваниями, давал отрицательный результат. Этот липид был использован для исследования 60 000 сывороток крови различных больных и здоровых лиц, взятых для контроля. Сыворотки больных с опухолями различной локализации давали положительную реакцию флоккуляции в 97,3%, а сыворотки здоровых лиц — в 12,7% случаев. Эта реакция не была строго специфичной для рака, поскольку она наблюдалась в 37,7% случаев и с сыворотками крови других больных (туберкулез, сифилис, склероз, ревматический артрит и др.). На неспецифический характер реакции с липидными антигенами обратили внимание и другие исследователи [Blossom R., Moog F., 1956].

Большая серия работ по установлению иммунологической специфичности опухолей была выполнена под руководством Л. А. Зильбера [Зильбер Л. А., Абелев Г. И., 1962; Зильбер Л. А., 1968]. Для дифференцировки специфического для опухоли антигена от антигенов неопухолевых Л. А. Зильбер с сотрудниками разработали метод анафилаксии с десенсибилизацией. Опыты проводили на морских свинках. Животные сенсibilizировались нуклеопротеидной фракцией, полученной из опухоли, а затем десенсибилизировались внутривенным введением аналогичной фракцией из нормальной ткани. Повторное введение сенсibilizированным животным препарата из опухоли вызывало анафилактическую реакцию различной интенсивности. Таким путем, как сообщили Л. А. Зильбер и В. А. Парнес (1949), удалось обнаружить в селезенке больных лейкозом специфический антиген, отсутствующий в селезенке пациентов с иными заболеваниями. Этот метод В. В. Городилова (1961) использовала для обнаружения специфического антигена в раковых опухолях молочных желез. Специфический антиген был выявлен в 92,6% опухолей, а ткани молочных желез, не затронутые злокачественным процессом, этого антигена не содержали. Антигены метастазов рака молочных желез в печень и лимфатические узлы по своей специфичности не отличались от антигенов первичной опухоли. Метод анафилаксии с десенсибилизацией был широко использован и для обнаружения специфического антигена в злокачественных опухолях печени, пищевода, желудка, поджелудочной железы, яичника, матки, метастазов в печень [Шершульская Л. В., 1952],

рака мочевого пузыря [Левина Л. М., 1952], опухолей головного мозга [Кореневская В. А., 1957]. По данным Л. А. Зильбера и В. Д. Тимакова (1952), частота обнаружения специфических раковых антигенов при использовании указанного метода составляла 85—90%. В раковых опухолях легких специфический антиген выявлялся с меньшим постоянством.

Работы Л. А. Зильбера и его сотрудников привлекли к себе большое внимание ученых и способствовали значительному расширению исследований в этой области иммунологии. Однако реакция анафилаксии с десенсибилизацией, несмотря на то, что она была успешно использована во многих работах (главным образом, сотрудников и учеников Л. А. Зильбера), не нашла широкого распространения и уступила место другим более эффективным методам. Много усилий было направлено на получение специфических сывороток по отношению к антигенам, определяющим специфичность злокачественных новообразований, изысканию способов выделения и очистки антигенов. Помимо уже известной серологической реакции — РСК, стали широко использоваться и другие методы: реакции преципитации в геле, пассивной агглютинации, иммунофлюоресценции и др. Однако разнообразие примененных серологических методик далеко не всегда приводило к получению совпадающих результатов. Основная причина этого заключалась в трудности получения специфических сывороток. От больных раком получить специфические для опухоли сыворотки, как правило, не удается, и поэтому приходится пользоваться гетероиммунными сыворотками. Иммунизация же животных комплексом антигенов, входящих в структуры как раковых, так и нормальных клеток (видоспецифических, групповых, раково-эмбриональных, гистосовместимости и др.), может стимулировать продукцию соответствующих антител и затрудняет тем самым выявление антител к антигенам, специфическим для раковых опухолей. С этим особенно приходится считаться, если учесть, что по сравнению со всем набором нормальных антигенов, входящих в структуры раковых клеток, специфические для них антигены составляют, по-видимому, лишь незначительную часть всего антигенного комплекса. Освободиться же от побочных антител и сохранить антитела, специфичные для опухолей, — задача весьма не простая и до сих пор полностью еще не решенная, несмотря на огромный прогресс в современной иммунологии.

Применявшиеся ранее способы удаления из сывороток побочных антител при помощи адсорбции их нативными тканями нормальных органов не приводили к положительным результатам. Титр сывороток, обработанных взвесью нормальных клеток, как правило, значительно снижался, а сыворотки, кроме того, приобретали резко выраженные антикомплемментарные свойства, что делало невозможным использование их в РСК — реакции, наиболее часто применяемой для выявления тканевых антигенов. Это обстоятельство побудило в свое время Л. А. Зильбера и его сотрудников отказаться от использования ксеногенных противо-

опухолевых сывороток и перейти к другому методу дифференцировки антигенной специфичности опухолей — реакции анафилаксии с десенсибилизацией. А. К. Сааков (1952) сообщил о получении им моноспецифической сыворотки к раковым опухолям человека путем адсорбции гетероиммунных кроличьих сывороток дерматоловыми частицами, нагруженными антигенами из нормальной ткани. Такие сыворотки реагировали с водно-солевыми экстрактами из злокачественных опухолей желудка, матки и легкого и не вступали в реакцию с антигенами из нормальных тканей.

На основании этих опытов А. К. Сааков пришел к заключению о наличии в опухолях различной локализации общего для них специфического антигена, отсутствующего в нормальных клетках.

Следует, однако, отметить, что специфичность полученных автором сывороток не контролировалась с антигенами из селезенки, которая, как было показано [Косяков П. Н., Коростелева В. С., 1959; Коростелева В. С., Константинова Т. П., 1960, и др.], имеет наибольшее антигенное сходство с антигенами раковой опухоли человека по сравнению с другими нормальными органами — печенью, почкой, мышцей сердца, желудком. В силу этого при изучении специфических для раковых опухолей человека антигенов необходимо было их иммунологически дифференцировать от антигенов селезенки. Проведенный с учетом этого иммунологический анализ [Коростелева В. С., 1964] позволил установить, что злокачественные опухоли (метастазы в печень) наряду с антигенами, общими для опухолевых и нормальных тканей, содержат и специфические антигены. Последние отличались от органоспецифических антигенов и реакцией на формалин. Опухолевая ткань в результате обработки 5% раствором формалина сохраняла свои специфические антигены, нормальные же органы (печень, почка, мышца сердца) такие антигены утрачивали. Исключением, однако, была ткань селезенки. Неспецифические антигенные комплексы, общие для клеток опухоли и селезенки, в отличие от антигенов других нормальных органов, способны переходить в водно-солевые экстракты и после обработки этих тканей формалином. Таким образом, установленный факт наибольшего антигенного сходства раковых опухолей и селезенки был подтвержден другими исследователями [Зильбер Л. А., 1962; Авенирова З. А. и др., 1963; Людоговская Л. А., 1965]. А. Bute-pandt (1955) сообщил, что полученная у крыс в результате вскармливания их диметиламиноазобензолом гепатома отличалась по своим антигенным свойствам от окружающей опухоль ткани печени, т. е. от так называемого «адекватного» органа. Однако отличить по этим свойствам гепатомы крыс от селезенки и почки не удалось из-за наличия у них большого антигенного родства, что еще раз подтверждает справедливость положения о недостаточности контроля за специфичностью реакции при использовании только органа, «адекватного» опухоли.

Оригинальный метод получения иммунной сыворотки, специфичной к раковой опухоли человека, предложили П. Н. Косяков, В. С. Коростелева и Н. И. Кузнецова (1955).

Для иммунизации кроликов применяли хорошо очищенную ткань метастазов в печень раковых опухолей, что позволяло получать относительно свободной от примеси нормальных тканей опухолевый материал. Последний брали только от одного лица и он, следовательно, был генетически однороден, что важно для сличения антигенов опухолей и антигенов нормальных тканей, относящихся к одному генотипу. Известно, что гетероиммунные сыворотки, получаемые от животных, наряду со специфическими антителами всегда содержат и многие другие побочные антитела, направленные к различным антигенам, входящим в состав опухолевой клетки. Это затрудняет выявление специфических для опухоли антител. Применявшиеся ранее способы удаления из сывороток побочных антител при помощи адсорбции их нативными тканями нормальных органов часто не приводили к положительным результатам. Титр сывороток, как правило, значительно снижался, а сыворотки в результате этой обработки приобретали резко выраженные комплементарные свойства, что делало совершенно невозможным их применение в РСК. Использование для истощающей адсорбции неспецифических антител тканей печени и селезенки, фиксированных в 5% растворе формалина, позволило преодолеть эти трудности. Таким путем были получены специфические сыворотки для антигенов нормальных тканей (печени, почки, селезенки, мозга), а также антигенов раковых опухолей. Эти сыворотки не обладали антикомплемментарностью и могли использоваться для иммунологического анализа органоспецифических и раковоспецифических антигенов.

До адсорбции противоопухолевые сыворотки наряду со специфическими содержали антитела и к антигенам нормальных органов человека. Наибольшую активность сыворотки проявляли по отношению к антигенам селезенки и меньшую — к печени, несмотря на то что опухолевая ткань, взятая для иммунизации, локализовалась в печени. В результате адсорбции противоопухолевых сывороток тканями селезенки и печени, фиксированными в 5% растворе формалина, были получены сыворотки, которые не реагировали с антигенами из нормальных органов (как это было до адсорбции), были достаточно активны в реакции с антигенами из раковых опухолей человека и не обладали антикомплемментарными свойствами. Таким путем удалось показать, что злокачественные опухоли человека содержат антигены, отсутствующие в нормальных органах. Особенно демонстративным в этом отношении представляется сравнение антигенов опухоли с антигенами органов от того же опухоленосителя (табл. 20).

Испытание антигенов опухоли с сывороткой к селезенке служило показателем того, что рабочие дозы были выбраны правильно и различие между опухолью и нормальными органами одного и того же индивида зависят не от случайных количественных соотношений испытуемых антигенов, а их качественных особенностей. Как показали П. Н. Косяков и Н. И. Кузнецова (1957), ткани раковых опухолей содержат особые, только им присущие антигены, в то время как в тканях нормальных органов, полученных от тех же лиц, от которых были взяты опухоли, эти антигены отсутствуют. Не удалось обнаружить «ракового» антигена

Таблица 20. Антигены раковой опухоли и тканей, полученных от одного и того же больного [Жорстелева В. С., Косяков П. Н., 1966]

Гетероиммунная сыворотка	Разведение сыворотки	Антигены тканей						
		опухоль	печень	почка	селезенка	сердце	легкие	мозг
К опухоли (метастаз рака желудка в печень)	1:40	++++	—	—	—	—	—	—
	1:80	++++	—	—	—	—	—	—
	1:160	+++	—	—	—	—	—	—
К нормальной селезенке	1:40	—	—	—	++++	—	—	—
	1:80	—	—	—	+++	—	—	—
	1:160	—	—	—	+	—	—	—

в тканях селезенки, печени, почки, легкого, мышцы сердца и мозга, полученных от больных раком. Следовательно, способность опухоли реагировать с соответствующими противоопухолевыми сыворотками зависит не от антигенов, общих в генетическом отношении с антигенами нормальных органов, а от присущих только опухоли «раковых» антигенов. Органоспецифические антигены, характерные для нормальных печени и селезенки, не были обнаружены в экстрактах ни из ткани первичного рака печени, ни из ткани метастазов в печень рака желудка, несмотря на то, что эти экстракты содержали «раковые» антигены. Клетки первичного рака печени, как и метастазы в печень опухолей других локализаций, не содержали органоспецифического клеточного антигена. На основании этого можно предполагать, что клетки первичного рака печени утратили способность синтезировать органоспецифические антигены, присущие нормальным печеночным клеткам.

Так трактуют этот феномен Е. Weiler (1956) и другие исследователи, описывая его как своеобразное упрощение антигенной структуры опухолевых клеток. Однако нельзя исключить, что клетки — предшественники раковой опухоли не приобрели под влиянием тех или других причин способности синтезировать органоспецифические антигены, и поэтому их развитие пошло по другому пути. Окружающие опухоль непораженные нормальные ткани печени при возникновении в ней первичного рака или при развитии метастазов в печень не содержали специфического «ракового» антигена в количестве, доступном для иммунологического анализа. Наличие «ракового» антигена было связано только с клетками, пораженными злокачественным процессом. Однако на вопрос, обладают ли опухоли различной локализации, а также опухоли одной локализации, но полученные от разных лиц, единым антигеном, специфичным для всех злокачественных новообразований человека, однозначного ответа получено не было. А. К. Сааков (1954) пришел к выводу, что ткани раковых опухолей желудка, легкого и шейки матки содержат общий для них

специфический антиген. К такому же выводу пришли I. Макагi и M. Huch (1955), которые применили метод активной и пассивной анафилактики с десенсибилизацией в опытах на изолированных органах морской свинки (метод Шульц — Деля). В. В. Городилова и Л. В. Шершульская (1956) с помощью этого метода выявили, что ткани различных опухолей (желудка, печени, молочной железы, матки и яичника) содержат как общие, так и различные антигены.

Другие результаты получили В. С. Коростелева и П. Н. Косыков (1957) (табл. 21). Они сравнили антигенные свойства трех

Таблица 21. Специфические антигены раковых опухолей у различных индивидов

Иммунная сыворотка	Разведение сывороток	Антигены					Контроль сывороток
		опухоль № 1	опухоль № 2	опухоль № 3	печень	селезенка	
К опухоли № 1	1:80	++++	—	—	—	—	—
	1:160	++++	—	—	—	—	—
	1:320	++++	—	—	—	—	—
К опухоли № 2	1:40	—	++++	—	—	—	—
	1:80	—	++	—	—	—	—
	1:160	—	+	—	—	—	—
К опухоли № 3	1:20	—	—	+++	—	—	—
	1:40	—	—	++	—	—	—
	1:80	—	—	+	—	—	—
Противопеченочная	1:40	—	—	—	++++	—	—
	1:80	—	—	—	+++	—	—
	1:160	—	—	—	+	—	—
Противоселезеночная	1:40	—	—	—	—	++++	—
	1:80	—	—	—	—	+++	—
	1:160	—	—	—	—	++	—
Контроль антигенов		—	—	—	—	—	—

раковых опухолей человека: № 1 — метастаз в печень рака слепой кишки; № 2 — метастаз в печень рака желчного пузыря; № 3 — первичный рак печени. Опухоли № 1 и 2 были взяты от субъектов группы крови 0, опухоль № 3 — от лица группы В. Иммунная противоопухолевая сыворотка к опухоли № 1 после удаления из нее антител к антигенам нормальных органов утрачивала способность реагировать с антигенами из нормальных тканей и сохраняла в то же время способность реагировать с водно-солевыми экстрактами из опухоли, послужившей материалом для иммунизации. С антигенами же из опухолей № 2 и 3 сыворотка не реагировала, что свидетельствовало об отсутствии в них специфических антигенов, идентичных антигенам опухоли № 1. Противоопухолевая сыворотка к опухоли № 2 после адсорбции

то тканью селезенки также утрачивала способность реагировать с антигенами из нормальных органов (печень, селезенка) и сохраняла в то же время хорошо выраженную способность реагировать с антигенами из опухоли № 2, по отношению к которой сыворотка была получена. С антигенами же из опухолей № 1 и 3 сыворотка не реагировала. Это указывает на отсутствие в них специфического антигена, идентичного антигену опухоли № 2. Противоопухолевая сыворотка к опухоли № 3 после удаления из нее антител к антигенам нормальных органов сохраняла способность реагировать с антигеном из опухоли № 3, послужившей материалом для иммунизации. Однако с опухолями № 1 и 2 эта сыворотка не реагировала, что свидетельствует об отсутствии в этих опухолях специфического ракового антигена, идентичного антигену опухоли № 3. Показателем специфичности противоопухолевых сывороток служило отсутствие способности реагировать с экстрактами из нормальных органов.

Таким образом, наши опыты показали, что раковые опухоли, полученные от трех различных лиц, отличались по своим специфическим антигенным свойствам. Каждая из этих опухолей содержала только свой особый, специфический антиген. Это нашло подтверждение и в опытах по избирательной адсорбции (табл. 22). Установленный нами факт, что единого антигена, специфичного для всех раковых опухолей человека не существует и опухоли одной и той же локализации могут качественно отличаться своими специфическими антигенными свойствами, получил дальнейшее экспериментальное подтверждение и развитие. П. Н. Косяков и В. С. Коростелева (1967) показали (табл. 23) существование раковых опухолей со сходными и различными антигенными свойствами. Опухоли (№ 1, 4 и 6), положительно реагировавшие в РСК с сывороткой к опухоли № 1, обладали способностью извлекать из нее антитела. Опухоли же (№ 9, 10, 11), не реагировавшие с этой сывороткой, антител из нее не извлекали.

В. С. Коростелева (1971) провела сравнительное изучение антигенных свойств раковых опухолей от 48 лиц при помощи сывороток, полученных по отношению к трем различным по своей специфичности антигенам карцином № 1, 2 и 3. Были исследованы опухоли различной локализации и гистологической структуры: раки желудка, молочной железы, легкого, яичника, предстательной железы, печени, а также метастазы в печень рака желудка, легкого, яичника, желчного пузыря, желчного протока, матки, пищевода, слепой кишки, толстой кишки и др. С сывороткой к опухоли № 1 было исследовано 48 раковых опухолей и из них только 10 опухолей, подобно опухоли № 1, давали положительную РСК и истощали противораковые антитела в опыте адсорбции, т. е. содержали антиген, сходный с антигеном карциномы № 1. У большинства же неоплазм (37) антиген такой специфичности отсутствовал. Из 26 опухолей, испытанных с сывороткой к антигену опухоли № 2, только одна реагировала

Таблица 22. Индивидуальная специфичность антигенов раковых опухолей, выявляемая методом избирательной адсорбции

Иммунная сы- воротка	Адсорбция тканью	Разве- дение сыво- ротки	Антигены				Контр- оль сыво- роток
			опухо- ли № 1	опухо- ли № 2	печени	селе- зенки	
К опухоли № 1	селезенки	1:80	++++	—	—	—	—
		1:160	++++	—	—	—	—
		1:320	++++	—	—	—	—
	опухоли № 1	1:80	—	—	—	—	—
		1:160	—	—	—	—	—
		1:320	—	—	—	—	—
	опухоли № 2	1:80	++++	—	—	—	—
		1:160	++++	—	—	—	—
		1:320	++++	—	—	—	—
К опухоли № 2	селезенки	1:40	—	++++	—	—	—
		1:80	—	+++	—	—	—
		1:160	—	+	—	—	—
	опухоли № 1	1:40	—	++++	—	—	—
		1:80	—	+++	—	—	—
		1:160	—	+	—	—	—
	опухоли № 2	1:40	—	—	—	—	—
		1:80	—	—	—	—	—
		1:160	—	—	—	—	—
Противопече- почная	нормальные ор- ганы	1:40	—	—	++++	+	—
		1:80	—	—	+++	—	—
		1:160	—	—	++	—	—
Противоселе- зеночная	нормальные ор- ганы	1:40	—	—	+	++++	—
		1:80	—	—	—	+++	—
		1:160	—	—	—	++	—
Контроль антигенов			—	—	—	—	—

Примечание. Опухоль № 1 — метастаз в печень рака слепой кишки; опухоль № 2 — метастаз в печень рака желчного пузыря.

положительно, подобно антигену, использованному для иммуни-
зации, в то время как остальные 24 опухоли такого антигена
не содержали. Аналогичные результаты были получены и в опы-
тах с сывороткой к опухоли № 3. Из 29 исследованных с этой
сывороткой раковых опухолей только одна опухоль не имела ан-
тигена, сходного с антигеном опухоли № 3, по отношению к ко-
торому сыворотка была получена, остальные же 27 опухолей ан-
тигена такой специфичности не содержали. Зависимости между
локализацией опухоли и ее способностью вступать или не всту-
пать в реакцию с иммунными противоопухолевыми сыворотками
отмечено не было. Действительно, в группу положительно реаги-
рующих опухолей входили, например, метастазы рака желудка
в печень, однако встречались опухоли совершенно такой же ло-
кализации, т. е. метастазы рака желудка в печень, которые реа-

Таблица 23. Опухоли со свободными и различными специфическими антигенами

Имунная сыворотка	Ткань для адсорбции сыворотки	Разведение сыворотки	Антигены из опухолей					Антигены из селезенки взрослого человека	
			№ 1	№ 4	№ 6	№ 9	№ 10		№ 11
К опухоли № 1	селезенки	1:80 1:160 1:320	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
	опухоли № 1	1:80 1:160 1:320	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
	опухоли № 4	1:80 1:160 1:320	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
	опухоли № 6	1:80 1:160 1:320	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
	опухоли № 9	1:80 1:160 1:320	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
	опухоли № 10	1:80 1:160 1:320	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
	опухоли № 11	1:80 1:160 1:320	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
			+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
			+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
			+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++

гировали отрицательно. Кроме этого, сама группа положительно реагирующих опухолей представляется достаточно разнородной по своей локализации и патогистологической характеристике, но объединенной на основании общности содержащегося в них специфического антигена. Эта общность не связана и с принадлежностью опухоли к той или другой группе крови по системе АВ0(Н). Следует особо отметить, что метастазы опухолей и исходные опухоли обладали одинаковыми специфическими антигенными свойствами. Если исходная опухоль вступала в иммунологическую реакцию с той или другой сывороткой, то и метастазы этой опухоли реагировали положительно. Ни одного расхождения в поведении первичной опухоли и ее метастазов отмечено не было.

Большой интерес представляют исследования Р. П. Павлюченковой (1972), которая получила от кроликов три серии иммунных противораковых сывороток. Каждая из этих сывороток после истощающей адсорбции их фиксированными в формалине тканями печени и селезенки реагировала в РСК только с антигеном опухоли, взятой для иммунизации, и не реагировала с экстрактами из опухолей от двух других лиц. Таким образом, были получены сыворотки по отношению к трем различным по своей специфичности антигенам. Эти сыворотки были использованы для выявления антигенов в раковых опухолях от 75 больных. Учитывались локализация опухоли, ее гистологическая структура и группа крови по системе АВ0(Н).

Из табл. 24 видно, что в раковых опухолях так называемого «спонтанного» происхождения сходные антигены, выявляемые при помощи трех различных по своей специфичности сывороток, об-

Таблица 24. Новые антигены в раковых опухолях человека
[Павлюченкова Р. П., 1972]

Противораковая сыворотка	Число опухолей	Наличие общего антигена	Отсутствие общего антигена
К опухоли № 1 (метастаз в печень рака легкого)	75	24	51
К опухоли № 33 (метастаз в печень рака пищевода)	41	13	28
К опухоли № 2 (метастаз в печень рака сигмовидной кишки)	17	1	16

наруживаются сравнительно редко. В группе опухолей, содержащих идентичный антиген, открываемый этой сывороткой, как, впрочем, и в двух других группах, были различные по своей локализации и структуре опухоли. Опухоли со сходными специ-

фическими антигенами были различны по своей локализации и структуре: опухоли легкого, гортани, желудочно-кишечного тракта. Специфический для раковой опухоли антиген был найден только в опухоли и не обнаружен в непораженных тканях того же индивида. Это свидетельствует о том, что источником нового антигена являются раковые клетки. Первичная опухоль и ее метастазы в печень, лимфатические узлы и селезенку оказались иммунологически идентичными.

Таким образом, эти исследования представили новое доказательство в пользу того, что единого антигена, специфичного для всех злокачественных опухолей человека, не существует, есть опухоли, содержащие идентичные антигены, и опухоли, качественно отличающиеся своими антигенами. Сходство или различие специфических антигенов в опухолях не зависит от локализации опухоли, ее структуры и группы крови больных. Наличие таких антигенов в раковых клетках и отсутствие их в нормальных клетках были подтверждены и методом иммунофлюоресценции [Павлюченкова Р. П., Коростелева В. С., Косяков П. Н., 1970; Павлюченкова Р. П., 1972].

Исследовали клетки метастазов в печень злокачественных опухолей различной локализации: шейки матки, легкого, желудка, поджелудочной и предстательной желез, печени. Для реакции иммунофлюоресценции использовали мазки из клеток опухолевых и нормальных тканей, гомогенизированных в сахарозе, мазки-отпечатки и гистологические срезы из свежемороженых тканей. Были получены иммунные сыворотки по отношению к 7 из 9 исследуемых опухолей, а также сыворотки к нормальным тканям.

На рис. 11—14 представлены результаты сравнительного изучения антигенных свойств клеток метастаза в печень рака поджелудочной железы и клеток печени того же больного. Специфическая (после избирательной адсорбции) противораковая сыворотка давала интенсивное свечение цитоплазмы опухолевых клеток и не взаимодействовала с их ядрами (см. рис. 11). Клетки печени, полученные от того же больного, с этой сывороткой свечения не давали (см. рис. 12). Наоборот, противопеченочная сыворотка давала яркое диффузное свечение цитоплазмы печеночных клеток (см. рис. 13) и не реагировала с опухолевыми клетками (см. рис. 14). Аналогичные результаты были получены и при исследовании раковых клеток, выделенных из метастазов в печень злокачественных опухолей другой локализации: шейки матки, легкого, желудка и предстательной железы. Отрицательная реакция опухолевых клеток, метастазировавших в печень, с противопеченочной сывороткой свидетельствует об отсутствии в них органоспецифического печеночного антигена. Можно предполагать, что в случае первичного рака печени имела место утрата опухолевыми клетками органоспецифического антигена. Нельзя также исключить, что опухоли возникли из клеток, не претерпевших органоспецифическую дифференцировку.

Специфические антигены были обнаружены реакцией иммунофлюоресценции и на срезах, полученных из биопсийного ма-

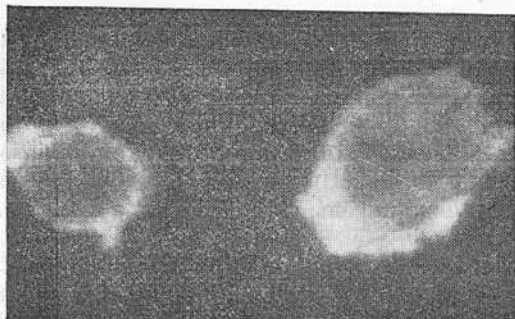


Рис. 11. Свечение цитоплазмы опухолевых клеток с противораковой сывороткой.

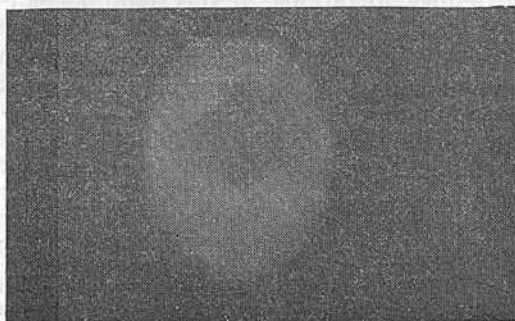


Рис. 12. Отсутствие свечения клеток печени с противораковой сывороткой.

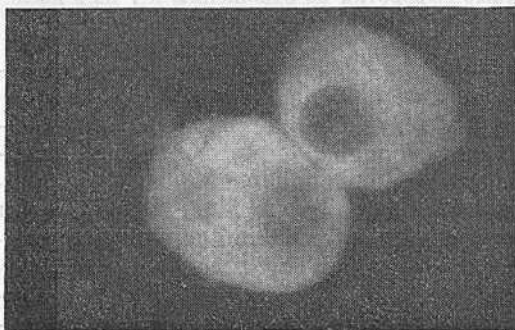


Рис. 13. Цитоплазматическое свечение клеток печени с противопеченочной сывороткой.

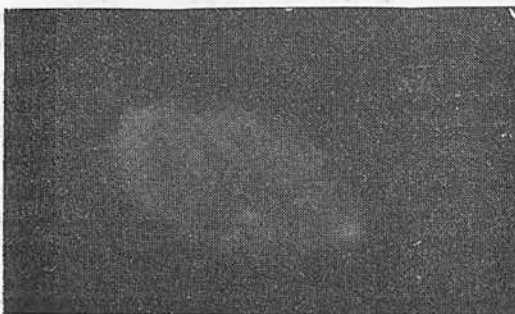


Рис. 14. Отсутствие свечения опухолевых клеток с противопеченочной сывороткой. $\times 900$.

териала. На рис. 15 видно яркое диффузное свечение периалявеолярной части легкого, пораженного злокачественной опухолью (гистологически был установлен плоскоклеточный рак). Срезы нормального легкого субъекта, погибшего от травмы, с этой сывороткой свечения не давали (рис. 16). С помощью метода иммунофлюоресценции Р. П. Павлюченкова (1972) подтвердила установленный ранее [Коростелева В. С., Косяков П. Н., 1957] факт, что раковые опухоли одних лиц содержат сходные специфические антигены, раковые же опухоли других лиц антигенно отличны. На рис. 17 и 18 представлены результаты сравнительного изучения клеток двух опухолей при помощи специфических сывороток, полученных по отношению к этим опухолям. Клетки опухоли № 69 давали цитоплазматическое свечение с сывороткой к опухоли № 69 (см. рис. 17, а) и не реагировали с сывороткой к опухоли № 1 (см. рис. 17, б). Наоборот, специфическая сыворотка к опухоли № 1 давала интенсивное свечение клеток опухоли № 1 (рис. 18) и не реагировала с клетками опухоли № 69.

Как РСК, так и реакция иммунофлюоресценции могут успешно применяться для обнаружения новых антигенов в клетках раковых опухолей человека. Оба эти метода дали одинаковые, полностью совпадающие результаты как при изучении первичных опухолей, так и метастазов их в различных органах и вновь подтвердили установленное нами ранее положение о том, что единого, специфического для всех злокачественных опухолей человека антигена не существует. У одних больных новые антигены сходны, у других — качественно отличны. Антигенное сходство или различие не зависит от локализации опухоли, ее гистологической структуры и групповой принадлежности опухоленосителя. В тканях, не пораженных раковым процессом, тех же лиц, от которых берутся опухоли, новые антигены не определяются. П. Н. Косяков и Р. П. Павлюченкова (1972) показали, что специфические антигены могут быть обнаружены не только в первичных опухолях, но и в метастазах их в регионарные лимфатические узлы с помощью как РСК, так и метода иммунофлюоресценции. На рис. 19 видно диффузное свечение цитоплазмы раковых клеток лимфатического узла, обработанных сывороткой к опухоли этого же больного (№ 68). Раковые клетки лимфатического узла больного № 68 не дают свечения с сывороткой, полученной к другой опухоли, что находится в полном соответствии с результатами РСК. В клетках регионарных лимфатических узлов одних больных обнаруживались сходные специфические антигены (рис. 20, а), у других — различные антигены (рис. 20, б).

Возможность выявления новых антигенов в лимфатических узлах, пораженных раковой опухолью, открывает перспективу использования иммунологических реакций и для исследования биопсийного материала (в дополнение к патогистологическим исследованиям). Однако антигенные различия, которыми могут характеризоваться опухоли от разных лиц, затрудняют выявление новых антигенов и диктуют необходимость применять более ши-



Рис. 15. Срезы рака легкого № 46, обработанные сывороткой к опухоли № 69.



Рис. 16. Срезы нормального легкого, обработанные сывороткой к опухоли № 69. $\times 900$.

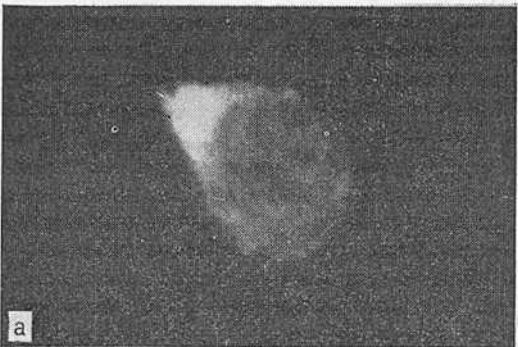


Рис. 17. Клетки опухоли № 69, обработанные сывороткой к опухоли № 69 (а) и опухоли № 1 (б). $\times 700$.



Рис. 18. Свечение клеток опухоли № 1 с противораковой сывороткой № 1.



рокий набор специфических сывороток. При помощи четырех, различных по своей специфичности сывороток к опухолям № 1, 68, 69 и 71 в лимфатических узлах, полученных от 8 больных, у 6 лиц были найдены новые специфические антигены, свидетельствующие о наличии раковых клеток, метастазировавших в эти лимфатические узлы. У некоторых больных (табл. 25) лимфатические узлы содержали сходные новые антигены, в лимфатических узлах других больных эти антигены обладали другой специфичностью. В некоторых случаях новые антигены выявлены не были. По-видимому, раковые клетки лимфатических узлов этих больных содержали другие специфические антигены и по отношению к ним используемые сыворотки были неактивны. Отсюда следует, что только положительные результаты могут быть приняты за доказательство в пользу обнаружения новых антигенов в злокачественных опухолях или их метастазах.

Таким образом, исследования, проведенные тремя различными методами (РСК, избирательная адсорбция и иммунофлюоресценция), показали, что антигены раковых опухолей человека характеризуются сравнительно узкой специфичностью, не зависящей от локализации опухолей, их структуры и группы крови носителя опухоли. Вместе с тем эти исследования показали, что антигены злокачественных опухолей человека не являются индивидуально специфичными, т. е. присущими только опухоли данного больного, а встречаются с большей или меньшей частотой и в опухолях, полученных от других лиц. В этой связи следует отметить аналогичный феномен, описанный в отношении антигенов опухолей, индуцированных у экспериментальных животных различными химическими канцерогенами. Большинство исследователей находят, что такие опухоли обладают индивидуальной антигенной специфичностью. Более того, отмечен даже и такой курьезный феномен, как появление на правом и левом боках животного опухолей с различными по своей специфичности антигенами в ответ на введение одного и того же канцерогена. Имеются, правда, менее многочисленные сообщения, согласно которым опухоли, индуцируемые у животных канцерогенами, могут иметь и сходные по своей специфичности антигены. Аналогичное

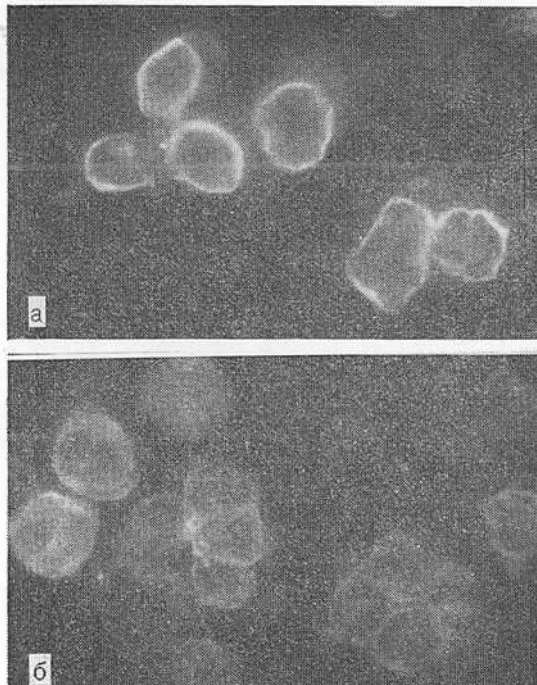
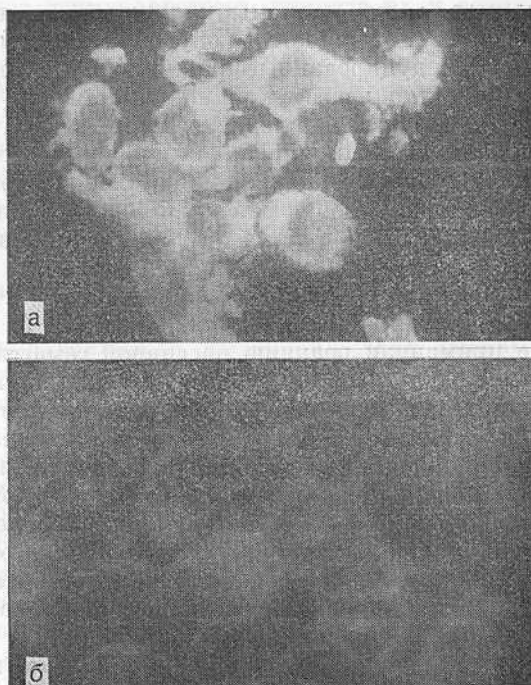


Рис. 19. Отпечаток забрюшинного лимфатического узла больного раком, обработанный сывороткой к опухоли № 68 (метастаз в печень рака поджелудочной железы) (а) и сывороткой к опухоли другого лица (к метастазу в печень рака легкого) (б). $\times 560$.

явление, по-видимому, имеет место и у человека с той лишь разницей, что в опухолях людей чаще, чем у экспериментальных животных, обнаруживаются антигены, сходные по своей специфичности. В этой связи следует иметь в виду, что специфичность антигенов опухолей, индуцированных онковиррусами, определяется вирусом вне зависимости от индивидуальных, внутривидовых и даже межвидовых отличий животных. Поскольку и в происхождении опухолей человека вирусы могут играть большую роль, нельзя исключить, что наличие общих антигенов в опухолях различных людей связано с функцией определенных вирусов.

Вопрос о числе иммунологически обособленных антигенных групп опухолей, встречающихся у людей, еще не изучен. К настоящему времени серологически доказано существование трех таких групп, отличающихся друг от друга своими специфическими присущими опухоли антигенами, и четвертой самой большой, вероятно, также разнородной группы опухолей, отличающейся по своим антигенным свойствам от первых трех, но остающейся пока еще не дифференцированной в антигенном отношении. Причины существования раковых опухолей с качественно сходными и качественно различными специфическими антигенами еще не выявлены. Не исключено, однако, что антигенное сходство или

Рис. 20. Отпечаток подмышечного лимфатического узла больного раком, обработанный сывороткой к опухоли № 68 (метастазы в печень рака поджелудочной железы) (а) и сывороткой к опухоли № 69 (метастазы в печень рака предстательной железы) (б). $\times 560$.



различие опухолей человека — следствие сходства или различия этиологических факторов, вызвавших злокачественный процесс. Экспериментальной онкологией установлено, что химические канцерогены индуцируют появление в опухолях антигенов весьма узкой специфичности. В опухолях, вызванных одним и тем же канцерогеном, например, метилхолантеном, у животных одного вида возникают индивидуально специфические антигены. Вирус в отличие от канцерогенных веществ индуцирует появление в опухолевых клетках животных не только одного вида, но и различных видов антигенов, сходных по своей специфичности. На-

Таблица 25. Новые антигены, обнаруживаемые в лимфатических узлах больных раком методом иммунофлюоресценции

Специфическая сыворотка к опухоли	Лимфатические узлы больных							
	№ 68	№ 71	№ 72	№ 73	№ 74	№ 75	№ 76	№ 77
№ 1	—	—	+	—	—	—	—	—
№ 68	+	—	—	+	—	—	+	—
№ 69	—	+	—	—	—	—	—	0
№ 71	—	+	—	—	—	—	—	+

Примечание. + цитоплазматическое свечение клеток; — отсутствие свечения; 0 — не окрашивали.

пример, вирус полиомы индуцирует появление антигенов одинаковой специфичности в опухолях мышей, крыс и хомяков. Опухоли, индуцированные родственными вирусами, могут обладать перекрестно реагирующими антигенами. Исходя из этих фактов, можно высказать предположение, что и у человека опухоли, обладающие сходными специфическими антигенами, связаны с одним и тем же вирусом, который инфицировал, а возможно, и трансформировал клетки. Подтверждением этому служат полученные нами данные о вирусиндуцированных антигенах в опухолях человека (см. главу 8).

Для установления антигенных различий между раковыми и нормальными тканями В. Björklund и J. Paulsson (1962) успешно применили реакцию пассивной гемагглютинации. Положительные результаты получил и Н. Hillemanns (1962), использовавший технику флюоресцирующих антител и РСК для обнаружения специфического антигена в цитоплазматических фракциях (митохондрии, микросомы) плоскоклеточного рака шейки матки. Этот антиген отсутствовал в соответствующих фракциях нормального эпителия шейки матки, почки и селезенки. Эти данные подтвердил Т. Kagabu (1967), который с помощью реакции иммунофлюоресценции исследовал эпителий рака шейки матки и обнаружил специфическое свечение в цитоплазме опухолевых клеток. Противоречивыми оказались сообщения о наличии специфических антигенов в злокачественных опухолях молочной железы человека.

Данные В. В. Городиловой (1961) об антигенных различиях раковых и нормальных тканей молочной железы были подтверждены реакцией преципитации в агаре [Карамова Э. Р., 1967; De Carvalho S., 1964]. Однако, F. Loissiller и соавт. (1965), изучавшие антигенные свойства этих тканей с помощью реакций пассивной гемагглютинации и иммунофлюоресценции, отметили лишь количественные различия между ними, а не качественные. По их данным, антигены, ответственные за эти реакции, находятся как в опухолевых, так и в нормальных тканях молочной железы, однако в опухолях их содержится в 8—10 раз больше, чем в нормальных тканях. Литература, посвященная обнаружению специфических антигенов в раковых опухолях щитовидной железы, очень обширна. Е. Witebsky и соавт. (1956) сообщили, что в этих опухолях им удалось обнаружить антиген, который отсутствовал в нормальной щитовидной железе. Авторы пользовались гетероиммунной адсорбированной сывороткой в РСК. Об антигенных различиях раковой опухоли и нормальной щитовидной железы сообщили Г. И. Авдеев (1963), Б. С. Синяков и Г. И. Авдеев (1967), которые использовали реакцию анафилаксии с десенсибилизацией и реакцию иммунопреципитации в геле. В пораженной ткани щитовидной железы авторы обнаружили антиген, который отсутствовал в нормальной щитовидной железе и селезенке, а также в различных органах (почка, селезенка, печень, легкое, мозг) эмбриона. Однако последующее более деталь-

ное изучение, проведенное этими авторами, привело их к заключению, что полученные ими ранее результаты недостаточно методически обоснованы. Морские свинки, которых они использовали для проведения реакции анафилаксии, были полностью десенсибилизированы антигенами нормальных тканей. Кроличьи иммунные сыворотки после «истощающей» адсорбции их антигенами из тканей нормальной щитовидной железы и других органов теряли способность реагировать в реакции Оухтерлонни с антигенами из злокачественной опухоли щитовидной железы.

Другие результаты получили В. С. Коростелева, П. Н. Косяков и Р. П. Павлюченкова (1977), которые использовали кроличьи иммунные сыворотки, полученные в отношении двух раковых опухолей щитовидной железы: опухоли больной Б. (метастаз сосочковой цистаденокарциномы в лимфатический узел) и опухоли больного К. (первичный солидный рак с амилоидозом). Иммунные сыворотки после удаления из них перекрестно реагирующих антител (адсорбция гомогенатом нативной легочной ткани взрослого или эмбриона) применяли в РСК. Обе противораковые сыворотки были специфичными, они не вступали в реакцию с антигенами из нормальных тканей, в том числе и щитовидной железы взрослого человека и эмбриональных тканей. Антисыворотки к опухоли больной Б., кроме того, реагировали и с опухолью больного К., что свидетельствовало о наличии в ней антител к антигенам двух опухолей, в то время как сыворотка к опухоли больного К. не реагировала с опухолью больной Б. Аналогичные результаты были получены и в опытах избирательной адсорбции. Взятая для контроля органоспецифическая сыворотка к селезенке связывала комплемент только с антигеном из селезенки и не реагировала с антигенами из других органов или из опухолей. Иммунная сыворотка к нормальной щитовидной железе открывала соответствующий органоспецифический антиген не только в ткани здорового органа, но и в тканях железы, пораженной раком. Это свидетельствует о неполной утрате органоспецифических антигенов щитовидной железой при ее злокачественном перерождении, очевидно, за счет оставшихся нормальных клеток.

Таким образом, в щитовидной железе, пораженной раком, возникают новые антигены, отсутствующие в нормальных тканях этого и других органов взрослого человека и эмбриона. При испытании с имевшимися противораковыми сыворотками водно-солевых экстрактов из 15 других образцов тканей опухоли щитовидной железы в двух случаях был обнаружен компонент, идентичный антигену опухоли больного К. и в двух случаях — антиген, идентичный антигену, содержащемуся в карциноме больной Б. Остальные 11 опухолей дали отрицательный результат в РСК. Способность опухолевого экстракта вступать или не вступать в реакцию не зависит от гистологического строения опухоли. На основании этих данных авторы высказали предположение о существовании различных вариантов антигенов (анти-

генных детерминант), определяемых в опухолях щитовидной железы от различных лиц, что согласуется с полученными ранее результатами изучения злокачественных опухолей других локализаций. Специфические антигены карцином щитовидной железы характеризуются термолабильностью, они не растворялись в спирте и эфире, инактивировались при обработке формалином. Полагают, что эти антигены являются белками.

Большое число исследований было посвящено выявлению специфических антигенов в злокачественных опухолях толстой кишки. М. Lord (1962) с помощью реакций иммунопреципитации и иммунофлюоресценции, используя адсорбированные иммунные кроличьи сыворотки, не мог найти в опухолях антигена, который бы отсутствовал в нормальных тканях. Истощающая адсорбция сывороток нормальными тканями приводила к полной утрате антител опухоли толстого кишечника. Более успешными оказались исследования В. Я. Рогальского (1964), который изучал раковые опухоли прямой и сигмовидной кишки. Гетероиммунные сыворотки, которые получали от кроликов при иммунизации их водно-солевыми экстрактами из трех опухолей, адсорбировали антигенами из нормальных органов (печени, почки, селезенки, легкого) до полного исчезновения антител к антигенам этих органов. Адсорбированные сыворотки концентрировали в 7—10 раз и испытывали в реакции Оухтерлони. Полученные сыворотки давали две линии преципитации: с антигеном из опухоли и с экстрактом из слизистой оболочки нормальной кишки. Антитела к антигенам последней удалялись адсорбцией сыворотки водно-солевыми экстрактами из тканей нормальной кишки. Таким образом удалось обнаружить антиген во всех 13 изученных образцах раковых опухолей толстого кишечника. Реакция сыворотки с антигенами из смеси тканей 6—8-недельных человеческих эмбрионов была отрицательной. Эти результаты, как полагают В. Я. Рогальский и Б. С. Синяков (1969), не являются, однако, неоспоримым доказательством в пользу наличия в раковых опухолях антигена, качественно отличного от антигенов слизистой оболочки нормальной кишки. Концентрированный в 35—40 раз антиген из нормальной слизистой оболочки толстой кишки также реагировал с противоопухолевой сывороткой, как и с антигеном из раковой опухоли. Следовательно, антиген находится и в слизистой оболочке нормальной толстой кишки, но в значительно меньшем количестве, чем в опухоли.

P. Gold и S. Freedman (1965) обнаружили, что карциномы толстого кишечника содержат два качественно новых антигена, отсутствующие в нормальных участках толстой кишки тех же больных. Это удалось доказать при помощи сывороток, полученных от кроликов, иммунизированных водно-солевыми экстрактами из смеси карцином толстой кишки, и адсорбированными антигенами из нормального кишечника и эритроцитами. Такой же антиген был найден в злокачественной опухоли желудка, пищевода, поджелудочной железы и их метастазах. Однако дальнейшие ис-

следования показали, что идентичный по своей специфичности антиген находится не только в раковой опухоли желудочно-кишечного тракта взрослых лиц, но и в водно-солевых экстрактах из толстого кишечника эмбриона. Поэтому авторы сделали вывод о том, что обнаруженный ими антиген не является специфическим для раковой опухоли и отнесли его к группе раково-эмбриональных антигенов. Аналогичные результаты получили S. Kleist и P. Burtin (1969). Используя адсорбированную гетероиммунную сыворотку, с помощью иммуноэлектрофореза авторы исследовали 25 раковых опухолей толстой кишки. Они обнаружили в опухоли антиген, отсутствующий в нормальных тканях. Этот антиген, однако, авторы не склонны называть специфическим для опухоли, так как не исключено, что он присутствует и в нормальных тканях, но в весьма малых количествах.

Большое число работ было посвящено поиску специфического антигена в раковых опухолях желудка. Однако, как и в отношении раковых опухолей других локализаций, были получены довольно разноречивые результаты.

З. А. Авенирова и Л. А. Людоговская (1962) в раковой опухоли желудка выявили два антигена, которые отсутствовали в тканях нормального желудка, а также в печени, почке, легких, мышце сердца и поджелудочной железе. Для обнаружения специфических антигенов в реакции иммунопреципитации использовали γ -глобулин, выделенный из адсорбированной гетероиммунной сыворотки. Два специфических антигена в аденокарциноме желудка обнаружила Л. В. Шершульская (1963). Адсорбированная кроличья иммунная сыворотка давала две линии преципитации с водно-солевыми экстрактами из опухоли и не реагировала с антигенами из нормального желудка.

Аналогичные результаты получили В. С. Цветков и Л. А. Людоговская (1964). Для очистки водно-солевого экстракта из раковой ткани от балластных белков использовали препаративный электрофорез, затем его испытывали в реакции иммунопреципитации. Было изучено 40 образцов раковых опухолей желудка, 6 метастазов рака желудка в печень и лимфатические узлы; их сравнивали с препаратами из нормальных тканей (желудка, печени, почки, селезенки). В опухолях желудка определялись, как правило, два антигена, обозначенные авторами как Cr_1 и Cr_2 . Антиген Cr_1 был найден в 23 из 40 раковых опухолей желудка и отсутствовал в слизистой оболочке нормального желудка и других органов. Антиген Cr_2 оказался неспецифичным, поскольку в небольшой концентрации он находился и в селезенке.

Положительные результаты получил С. Tai (1965). Используя гетероиммунную адсорбированную сыворотку в реакции иммунопреципитации, он нашел, что ткани рака желудка содержат антиген, отсутствующий в нормальной слизистой оболочке этого органа. Однако S. Aronson и соавт. (1965) не удалось подтвердить эти данные. Сыворотки кроликов, иммунизированных экстрактами опухоли желудка, утрачивали преципитирующие антитела к опу-

холи после адсорбции их антигенами слизистой оболочки нормального желудка и человеческой плазмы крови. Однако реакция пассивной агглютинации по Бойдену, по данным этих авторов, была положительной.

Г. И. Авдеев и Т. Е. Гош (1967) сообщили, что сыворотки крови кроликов, иммунизированных водно-солевыми экстрактами из опухоли желудка, после истощения их плазмой и лиофилизированными препаратами из тканей нормальных органов, продолжали реагировать с 22 из 27 исследованных образцов опухоли, давая 1—3 линии преципитации, и не реагировали с экстрактами из нормальных органов (желудка, печени, почки, легких, щитовидной железы). Однако в селезенке находился антиген, близкий или идентичный одному из антигенов, характерных для рака желудка. Дальнейшее исследование показало, что и эти два антигена, как и селезеночный антиген, содержатся не только в опухоли, но и в слизистой оболочке толстой кишки, а также в концентрированных препаратах, полученных из слизистой оболочки нормального желудка. На основании этих опытов авторы предположили, что злокачественный процесс сопровождается значительным повышением содержания в опухоли антигенов, которые находятся и в слизистой оболочке нормального желудка, но в значительно меньшем количестве, т. е. по этому признаку, между раковой и нормальной тканями имеется лишь количественная разница, но не качественная.

Л. А. Зильбер и Л. А. Людоговская (1967) сообщили, что им удалось обнаружить в аденокарциномах желудка 4 антигена, обозначенных ими как C_{g1} , C_{g2} , C_{g3} и C_{g4} . Антигены C_{g1} , C_{g3} и C_{g4} отсутствуют в нормальных тканях, а антиген C_{g2} , кроме опухоли, находится и в селезенке. Авторы использовали сыворотки кроликов, которых иммунизировали водно-солевыми экстрактами, приготовленными как из смеси раковых тканей желудка, полученных от различных лиц, так и из индивидуальных образцов опухолей. Сыворотки адсорбировали водно-солевыми экстрактами из нормальных тканей (слизистой оболочки желудка, печени, селезенки), концентрировали и использовали в реакции иммунопреципитации в геле. Антиген C_{g1} был найден в 60%, C_{g2} — в 70%, C_{g3} — в 50% и C_{g4} — в 20% случаев рака желудка. Авторы отметили сходство и различие в антигенном составе многих образцов опухолей желудка, что было подтверждено также и опытами по адсорбции. Оказалось, что антигены C_{g1} и C_{g2} разрушаются при нагревании до 56 °C, а также под действием щелочи, пепсина и трипсина и не разрушаются в ацетоне, эфире, хлороформе, метаноле. На основании этого авторы пришли к выводу, что антигены, определяющие специфичность рака желудка, содержат белковый компонент.

S. Perez-Cuadrado и соавт. (1965) удалось выделить из карциномы печени дезоксирибонуклеопротеид, который содержал специфический антиген, отсутствующий в соответствующих фракциях нормальной печени. Для обнаружения этого антигена ис-

пользовали кроличью иммунную сыворотку, предварительно адсорбированную эритроцитами и антигенами нормальной печени, реакцию пассивной агглютинации частиц латекса, нагруженных антигенами из нормальной и пораженного органа. О наличии специфического антигена в ткани первичного рака печени и метастазов в печень опухолей другой локализации говорилось выше.

Попытки P. Druet и P. Burtin (1967) найти специфический антиген в раковых опухолях почки оказались безуспешными. Иммунные сыворотки, полученные при иммунизации кроликов водно-солевыми экстрактами из ткани злокачественной опухоли почки, после удаления из них побочных антител продолжали реагировать не только с антигенами из опухоли, но и с антигенами нормальной почки, а также с антигенами селезенки и печени. E. Linder (1967) также не удалось серологически отличить нефробласту от нормальной ткани почки у одного и того же больного с помощью реакций иммунопреципитации и иммунофлюоресценции. Другие результаты получил E. Bandhauer (1967). С помощью реакции Оухтерлона он исследовал 10 злокачественных опухолей почек, сравнив их с непораженными участками этих органов, а также и другими нормальными органами (легкие, печень, предстательная железа, яичко, мозг). Сыворотку от кроликов и крыс, иммунизированных водно-солевым экстрактом из опухоли, адсорбировали соответствующими антигенами из нормальных органов для удаления побочных антител. Эти сыворотки давали одну или две слабые линии преципитации только с экстрактом той опухоли, которая использовалась для иммунизации. Автор пришел к заключению об индивидуальной специфичности карцином почек.

Имеются отдельные сообщения о положительных находках антигенов, специфичных для раковых опухолей легких. L. Adelsberger и соавт. (1962), используя кожный тест в опытах на кроликах, отметили антигенные различия между опухолевыми и нормальными тканями легкого. М. Боева (1965) для этой цели применила реакцию анафилаксии с десенсибилизацией, J. Stevenson и E. Naam (1966) — реакцию иммунофлюоресценции, а Ch. Carpenter и соавт. (1966) — реакцию иммунопреципитации. Об обнаружении в тканях рака легких специфического антигена сообщили S. Carvalho и H. Rand (1963), использовавшие для этого реакцию преципитации в геле. Специфические антигены эти авторы обнаружили и в других раковых опухолях (молочной железы, яичника, щитовидной железы, кишечника, шейки матки). Они сообщили также об использовании ими феномена иммунологической толерантности у кроликов для получения сывороток, способных «отличать» меланому печени от нормальной печени, саркому селезенки от нормального органа, костный мозг больных лейкозом от костного мозга здоровых лиц. Следует, однако, отметить, что метод получения специфических сывороток от толерантных животных не вошел в практику, несмотря на большой интерес к этому феномену.

Большое число работ посвящено выявлению специфических антигенов в саркомах. Используя реакцию анафилаксии с десенсибилизацией, Л. В. Шершульская (1951) выявила, что нуклеопротеидная фракция, выделенная из саркомы плечевого пояса, отличается по антигенным свойствам от нуклеопротеидной фракции, полученной из мышечной ткани. В. Н. Калмыкова и А. М. Ерошкина (1959) также отметили разницу между белковой фракцией, выделенной из смеси тканей различных сарком, а также фракций мышечной и соединительной ткани взрослого человека и эмбриона. Эти различия были установлены с помощью реакции анафилаксии и зависели, следовательно, от специфичности антигенов. Об антигенных отличиях сарком от нормальных тканей (мышцы, селезенки, легкого, печени и почки) сообщила С. Ф. Малышева (1963). Автор отметила антигенную неоднородность водно-солевых экстрактов сарком различной локализации и структуры (миогенные, нейрогенные и остеогенные саркомы, фибросаркомы и карциносаркомы).

А. И. Агеенко и И. С. Башкаев (1963, 1964) получили сыворотку, которая после истощающей адсорбции водно-солевыми экстрактами из мышцы селезенки и печени давала четкие линии преципитации с экстрактами саркомы и не реагировала с экстрактами из мышцы, селезенки, почки, легких и печени. Сыворотка реагировала также с саркомами (фибросаркома и две миосаркомы) от трех других больных, что свидетельствует об общности содержащегося в них антигена. Последний не был найден в одном случае хондромиосаркомы. Результаты этих исследований подтвердили В. В. Городилова и С. Ф. Малышева (1970), которые также использовали кроличьи иммунные адсорбированные сыворотки в реакции иммунопреципитации. Они нашли, что различные по своей структуре саркомы содержат 1—2 антигена, отсутствующие в нормальных тканях (мышцы, печени, селезенки, почки, легкого взрослых и эмбрионов человека). Исследованные саркомы содержали как общие, так и отличающиеся друг от друга антигены. Адсорбированная иммунная сыворотка к остеосаркоме реагировала только с саркомой, взятой для иммунизации, и не реагировала с другими саркомами подобного типа или иной структуры, т. е. были отмечены и индивидуальные специфические антигенные свойства. Неоднозначный ответ был получен на вопрос об антигенной специфичности меланом. R. Hiramoto и D. Pressman (1957) использовали реакцию иммунофлюоресценции для обнаружения в меланомах специфического для них антигена, но получили отрицательные результаты. Негативные результаты получили I. Silberberg и соавт. (1966), которые пользовались сыворотками кроликов, иммунизированных гомогенатом злокачественной меланомы человека. Сыворотки после истощающей адсорбции антигенами нормальных тканей не давали специфического свечения с клетками меланомы. Более успешной, однако, явилась работа Г. И. Розенбаум (1964). Применение реакции анафилаксии с десенсибилизацией позволило показать,

что клетки меланомы и ее метастазы содержат антиген, отсутствующий в ряде нормальных тканей, в том числе и в коже. S. Carvalho и H. Rand (1963) с помощью реакции преципитации в геле также выявили различия между меланомой печени и нормальной печенью, как и антигенные различия между саркомой селезенки и нормальной селезенкой.

Изучение антигенных свойств клеток и тканей больных лейкозом проводилось многими исследователями. Однако полученные результаты не столь убедительны и однозначны, как в отношении экспериментального лейкоза, вызванного у животных вирусами. У животных, инфицированных вирусами лейкоза, находят в клетках антигены, отсутствующие у нормальных животных. Это прежде всего антигены самого вируса, фрагменты его наружных и внутренних структур, которые включены в наружные и внутренние структуры лейкозных клеток. Помимо этого, в лейкозных клетках находят вирусиндуцированные антигены. Эти антигены отличаются от антигенов как вируса, так и нормальных клеток, т. е. они возникают в клетках *de novo*.

Специфичность вирусных и клеточных вирусиндуцированных антигенов определяется вирусом. Вирусы, имеющие антигенное родство, например, вирусы Френд, Молони, Раушера, индуцируют в клетках продукцию перекрестно реагирующих антигенов. Антигены такой специфичности отсутствуют в клетках при спонтанных лейкозах, а также при лейкозах, вызванных облучением или химическими канцерогенами. К вирусиндуцированным антигенам относятся и антигены трансплантационного типа. Иммунизация взрослых животных к этим антигенам создает резистентность к прививке соответствующих лейкозных клеток. Индуцированные вирусами лейкоза трансплантационные антигены характеризуются высокой специфичностью. Например, антиген, индуцированный в клетках вирусом Молони, отличается от трансплантационного антигена, индуцированного в клетках вирусом Гросса или другими вирусами. В отличие от экспериментального вирусиндуцированного лейкоза животных решение проблемы антигенной специфичности клеток и тканей при лейкозах человека оказалось более трудным, а полученные результаты были довольно противоречивыми. B. Steinberg и B. Martin (1946) не выявили различий в антигенных свойствах нормальных лейкоцитов и лейкобластов при помощи реакции лейкоагглютинации. Аналогичные результаты получили M. Seligman и соавт. (1955), которые с помощью метода преципитации в геле обнаруживали 3—4 специфических компонента как в нормальных лейкоцитах, так и лейкобластах. Более того, они отметили, что из трех антигенов, обнаруживаемых в лизатах нормальных лейкоцитов, в лизатах лейкобластов находился только один. Это дало основание предположить, что при развитии патологического процесса происходила, по-видимому, утрата лейкобластами некоторых антигенных компонентов, присущих нормальным лейкоцитам.

Л. А. Зильбер и В. А. Парнес (1949, 1950) сообщили, что

реакцией анафилаксии с десенсибилизацией им удалось установить, что клетки крови и ткани (лимфатические узлы, костный мозг, селезенка, печень, почка) больных различными формами острого и хронического лейкоза содержат специфические антигены, отсутствующие в соответствующих нормальных клетках и тканях. О наличии в лейкозных тканях антигенов, не содержащихся в нормальных тканях, сообщили и многие другие исследователи [Раушенбах М. А., 1956; Авдеев Г. И., 1963; Dore J. et al., 1967]. В. А. Парнес (1960) нашла в лейкозных тканях два антигенных компонента, которые определяют эти различия: один общий для всех форм лейкозов человека и другой — характерный для каждой из этих форм. В лейкозных тканях человека В. М. Бергольц и Л. В. Шершульская (1958), Г. А. Пискунова и соавт. (1960) иммунологическими методами обнаружили вирусоподобный агент, который пассировался на куриных эмбрионах и выявлялся в аллантоисной жидкости и в хорионаллантоисной оболочке. А. А. Ракитянская и С. С. Харамоненко (1958) с помощью реакции лейкоагглютинации не смогли дифференцировать антигены лейкоцитов больных миелолейкозом от антигенов лейкоцитов здоровых людей. Применяя реакцию иммунодиффузии в геле, L. Korngold и G. Leeuwen (1957) пришли к выводу о наличии лишь количественных различий в антигенном составе нормальных лейкоцитов и лейкобластов. В лейкозных клетках крови был найден антиген, который отсутствовал в лейкоцитах здоровых доноров, однако этот антиген обнаруживался в селезенке, печени и лимфатических узлах людей, погибших от травм, и не являлся, следовательно, качественно новым для клеток и тканей человека.

П. Н. Косяков, Р. М. Уринсон и В. С. Коростелева (1960) провели сравнительное изучение антигенных свойств лейкоцитов и тканей печени и селезенки, полученных от больных лейкозом, и соответствующих нормальных клеток. Имунные сыворотки к лейкобластам были получены от кроликов, как и сыворотки против раковых опухолей человека и сыворотки против нормальных антигенов. Сыворотка против лейкобластов после адсорбции ее тканями нормальной селезенки сохраняла способность реагировать с водно-солевыми экстрактами как лейкозных, так и нормальных лейкоцитов и в то же время не реагировала с экстрактами из тканей нормальных органов (печени и селезенки) и с экстрактами из раковой опухоли человека. Эти опыты, неоднократно повторяемые, показали, что лейкоциты, полученные как от здоровых лиц, так и от больных лейкозом, содержат антигены, отсутствующие в тканях печени и селезенки, т. е. обладают своей особой, присущей только лейкоцитам, лейкоспецифической антигенной структурой. Установить качественное различие между антигенными свойствами нормальных лейкоцитов и лейкобластов не удалось.

П. Н. Косяков и В. С. Коростелева (1961) сравнили антигенные свойства раковых, саркоматозных и лейкозных тканей человека.

Противораковая сыворотка к опухоли не реагировала с антигенами из нормальных тканей (печень, селезенка) и в то же время давала четко выраженную реакцию с антигеном злокачественной опухоли. Ни один из 6 образцов водно-солевых экстрактов, полученных из лейкоцитов больных лейкозом, с этой сывороткой не реагировал в РСК. Это свидетельствует об отсутствии у них антигенов, специфичных для раковых опухолей человека. Далее было показано, что не только лейкоциты, но и ткани печени и селезенки больных лейкозом не содержат антигенов, свойственных раковым опухолям. В лейкоцитах у больных лейкозом не было найдено и антигена, специфичного для саркомы. Специфическая сыворотка против саркомы человека реагировала только с антигенами из этой опухоли и не реагировала как с антигенами из нормальных тканей (печень, селезенка), так и с антигенами доноров и больных лейкозом. Таким образом, антигены, присущие саркоматозным тканям, отсутствуют в лейкоцитах больных лейкозом.

Вопрос о наличии в клетках и тканях больных гемобластозами специфических антигенов остается еще открытым. Нельзя, однако, исключить, что если будет доказано, что некоторые формы лейкозов у людей вызываются вирусами, то в клетках и тканях этих лиц могут находиться как вирусные, так и вирусиндуцированные антигены, аналогичные антигенам, обнаруживаемым при лейкозе животных.

Выявление в раковых опухолях человека специфических антигенов поставило вопрос о качественном отличии их от эмбриональных антигенов. Необходимость такой дифференцировки диктовалась хорошо установленными фактами антигенной общности злокачественных опухолей и эмбриональных тканей. П. Н. Косыков и В. С. Коростелева (1967) исследовали ткани раковой опухоли (метастаз в печень рака прямой кишки) и селезенки взрослого человека, а также антигены из тканей печени, почки, легкого и мышцы 6-месячного эмбриона. Сыворотка к опухоли до адсорбции реагировала с антигенами из опухоли и селезенки взрослого человека и с антигенами из эмбриональных тканей. Однако после адсорбции селезенкой взрослого человека сыворотка сохраняла антитела только к опухоли и не реагировала с антигенами из эмбриональных тканей. Это свидетельствует о наличии в злокачественной опухоли антигенов, отсутствующих в клетках эмбриона. Подтверждением этому явились результаты избирательной адсорбции противораковых антител. Смесь эмбриональных тканей не извлекала из специфической противоопухолевой сыворотки антител к опухоли, в то время как ткани последней полностью адсорбировали их. Эти опыты свидетельствуют о том, что клетки раковых опухолей содержат антигены, качественно отличающиеся от антигенов тканей эмбриона, т. е. не являются эмбриональными.

Вопрос о химической природе антигенов, определяющих специфичность раковых опухолей человека, остается еще мало изу-

ченным. Специфические антигены злокачественных опухолей человека оказались устойчивы к высокой температуре [Коростелева В. С., Косяков П. Н., 1961].

Противоопухолевая сыворотка, полученная к нативному антигену из опухоли (метастаз рака желудка в печень), после освобождения ее от побочных антител давала положительную РСК не только с антигеном из нативной опухоли, но и с экстрактом из опухолевой ткани, подвергнутой нагреванию до 100 °С в течение 30 мин. Антигены из печени, селезенки, мышцы сердца, легкого и мозга того же больного, как нативные, так и прогретые до 100 °С, в реакцию не вступали. Это свидетельствует о наличии в опухоли специфического антигена, устойчивого к нагреванию до 100 °С, отсутствующего в исследованных органах того же больного. Термостабильность антигена раковой опухоли была подтверждена нами и в опытах по избирательной адсорбции. Клетки опухолей после прогревания их до 100 °С сохраняли способность специфически извлекать антитела из соответствующей сыворотки. Было показано, что опухоли полностью сохраняют антигенные свойства после кипячения. Кролики, иммунизированные водно-солевыми экстрактами из опухоли, прогретой при 100 °С в течение 30 мин, вырабатывали специфические антитела к антигенам кипяченой и нативной опухоли. Однозначные результаты, свидетельствующие об устойчивости специфических антигенов раковых опухолей к высокой температуре, были получены и при изучении опухолей от 5 других лиц. На основании полученных данных было бы, однако, неправомерным утверждать, что термостабильность специфических антигенов присуща всем злокачественным опухолям. Так, специфические антигены раковых опухолей щитовидной железы человека, как показали проведенные нами исследования, не устойчивы к нагреванию. Термолабильными являются и индуцированные вирусами простого герпеса и ретровируса D антигены, обнаруживаемые в некоторых опухолях человека.

Специфические для раковых опухолей человека антигены оказались устойчивыми к действию формалина. Большой интерес представляет изучение и других свойств этих антигенов, в частности, отношение их к липидным растворителям. Как указывалось выше, Е. Witebsky (1930), L. Hirsfeld и соавт. (1930) сообщили о способности антигенов злокачественных опухолей человека переходить в липидные растворы. Однако данные этих исследователей подвергались в свое время сомнению из-за отсутствия строгих доказательств в пользу специфичности сывороток, использованных для индикации опухолевых антигенов. Углеводы, выделенные из опухолей с помощью водно-фенольной экстракции по методу Вестфала, оказались неактивными в РСК с соответствующими специфическими сыворотками.

При изучении специфической активности субстанций, полученных из опухолей экстракцией их этанолом, эфиром или хлороформом, были получены интересные данные [Kosyakov P. N., Ko-

rosteleva V. S., 1967]. Специфическая сыворотка к опухоли давала положительную РСК не только с водно-солевыми экстрактами опухоли (метастаз в печень рака прямой кишки), но и с липидными экстрактами, полученными в результате обработки опухоли этанолом, эфиром и хлороформом. Ацетоновые экстракты специфической активностью не обладали. Для определения специфичности липидов, выделенных из человеческих опухолей, мы одновременно сравнили их с липидами из тканей нормальных органов (селезенка, легкое и мозг) антигена Форссмана (почка морской свинки, эритроциты барана) и липидного (из мышцы сердца) антигена Вассермана.

Сыворотка к опухоли давала положительную реакцию только с нативными антигенами (в водно-солевом растворе) и с антигенами, экстрагированными из раковой опухоли спиртом. Напротив, эта сыворотка не реагировала как с антигенами из тканей мозга и селезенки (водно-солевые и спиртовые экстракты), так и с гетерогенным антигеном, выделенным из почки морской свинки и эритроцитов барана. Органоспецифическая сыворотка к селезенке реагировала только с водно-солевым экстрактом этого органа, а спиртовой экстракт из селезенки органной специфичностью не обладал. Иммуная сыворотка к эритроцитам барана реагировала только с антигенами почки морской свинки эритроцитов барана.

Таким образом, липиды, полученные из злокачественной опухоли, содержали антигенные субстанции, специфичные для опухоли. Липиды, выделенные из мозга и селезенки человека, были свободны от этих антигенов, несмотря на то, что ткани мозга, как известно, весьма богаты липидами. Липиды, специфичные для раковых опухолей, отличались от антигена Форссмана и антигена Вассермана. Связь специфических антигенных детерминант опухолей с липидами была экспериментально подтверждена в опытах по избирательной адсорбции. Ткани злокачественных опухолей, обработанные 2 раза этанолом, а затем один раз эфиром, утрачивали способность извлекать антитела из специфической противоопухолевой сыворотки, липиды же, наоборот, это свойство приобретали. Другие результаты были получены, если опухолевые ткани обезжиривали ацетоном, который, как было описано выше, в отличие от спирта, эфира и хлороформа не экстрагировал специфических антигенов из опухолей. Ткани опухолей, обработанные 2 раза ацетоном, полностью сохраняли способность избирательно извлекать антитела из соответствующей противораковой сыворотки. В ацетоновые же экстракты специфические антигенные детерминанты не переходили.

В отличие от M. Rapport и L. Graf (1961) мы [Косяков П. Н., Коростелева В. С., 1967] показали, что липиды, полученные из человеческих опухолей, качественно отличаются от липидов нормальных тканей и, кроме того, липиды различных опухолей антигенно различны. В проведенных нами экспериментах специфическая сыворотка к опухоли больного Г. (метастаз в печень рака

поджелудочной железы) реагировала с водно-солевым и липидным экстрактами этой опухоли и не реагировала с аналогичными экстрактами опухоли, иммунологически отличной. Наоборот, специфическая сыворотка к опухоли больного В. (метастаз в печень рака молочной железы) реагировала как с водно-солевым экстрактом, так и липидным экстрактом этой опухоли и не реагировала с аналогичными экстрактами другой, иммунологически отличающейся опухоли. В то же время антигенно сходные опухоли содержат и антигенно сходные липиды. Специфическая сыворотка, полученная по отношению к опухоли больного П., реагировала и с водно-солевыми, и с липидным экстрактом этой опухоли, а также с липидным экстрактом из опухоли больного С. Однако она не реагировала с липидными экстрактами нескольких опухолей других больных, что свидетельствует об отсутствии у последних антигена, обнаруженного в опухолях больных П. и С.

Таким образом, антигенная специфичность исследованных нами злокачественных опухолей, их качественное сходство или различие связаны с веществами, растворимыми в этиловом спирте, эфире и хлороформе и не растворимы в ацетоне. Полученные из опухолей специфические липиды являются гаптенами. Будучи высокоактивными и специфичными в серологических реакциях, они не обладали свойством вызывать образование антител. Однако у кроликов, иммунизированных липидными экстрактами в смеси с лошадиной сывороткой, стимулировалась продукция антител, специфичных к опухоли, что определялось после удаления побочных антител методом истощающей адсорбции.

Специфические антигены исследованных нами опухолей человека, как показали исследования, состоят из двух компонентов: белкового носителя и связанного с липидом гаптена, который и определяет специфичность полного антигена злокачественной опухоли. Поскольку липиды сами по себе антигенной специфичностью не обладают, можно думать, что они связаны с определенными углеводами и аминокислотами, которые и формируют специфические структуры опухолевых антигенных детерминант. Последние, как показали наши исследования, не разрушаются под действием протеолитических ферментов (пепсина, трипсина, папаина), устойчивы к высокой (100 °C) температуре, но утрачивают свою активность после слабого кислотного гидролиза. Органоспецифические антигены нормальных органов (печени, селезенки, легкого, мозга) в отличие от антигенов раковых опухолей не переходят в липидные растворы, не устойчивы к высокой (100 °C) температуре и разрушаются протеолитическими ферментами. Однако не все раковые опухоли человека характеризуются описанными выше физико-химическими свойствами. Опухоли щитовидной железы, как показано выше, неустойчивы к высокой температуре и к действию протеолитических ферментов. По физико-химическим свойствам отличаются и вирусиндуцированные антигены, обнаруживаемые в трансформированных клетках, а также в клетках опухолей животных и человека. П. Н. Косяков,

В. С. Коростелева и Р. П. Павлюченкова находили раковые опухоли, специфические антигены которых не экстрагировались этиловым спиртом, разрушались при высокой температуре и являлись, по-видимому, белками. Однако опухоли с такими антигенами встречались редко. Специфичность антигенов опухолей, индуцированных вирусами, как было описано выше, определяется веществами белковой природы в отличие от многих человеческих опухолей спонтанного происхождения, специфику антигенных детерминант которых определяют гликолипиды.

На основании результатов экспериментальных исследований некоторые авторы приходят к выводу, что между антигенами нормальных тканей и антигенами злокачественных опухолей существует только количественное различие, но не качественное. По данным F. Loisiller и соавт. (1965), антигены, определяющие специфичность раковых опухолей молочных желез, содержатся и в нормальных тканях, но в 8—10 раз меньшем количестве. В. Я. Рогальский и Б. С. Сняков (1969) выявили, что антигены нормальной слизистой оболочки толстой кишки, сконцентрированные в 35—40 раз, реагируют с противоопухолевой сывороткой так же, как и антигены из раковой опухоли. Г. И. Авдеев и Т. Е. Гош (1967) пришли к заключению о том, что антигены, определяющие специфичность злокачественной опухоли желудка, содержатся и в слизистой оболочке нормального органа, однако в значительно меньшем количестве. Р. П. Павлюченкова (1972) провела сравнительное изучение серологической активности гликолипидов, выделенных из раковой опухоли и селезенки, полученных от одного и того же индивида.

Из 0,5 г ткани опухоли и 25,0 г селезенки, фиксированных в формалине, готовили этаноловые экстракты в соотношении 1:10. После центрифугирования и выпаривания экстракта к липидному остатку добавляли несколько капель спирта, а затем по 5 мл водно-солевого раствора. Полученные эмульсии испытывали в РСК с соответствующими сыворотками.

Оказалось, что липидный экстракт из опухоли давал интенсивную реакцию РСК с соответствующей сывороткой. Однако полученный таким же способом липидный экстракт из селезенки, взятой для экстрагирования в 50 раз большем количестве, чем количество опухоли, дал отрицательную реакцию. По данным В. С. Коростелевой (1969), спиртовой экстракт из селезенки не реагировал с противоопухолевой сывороткой, будучи взятым в концентрации, в 350 раз большей, чем концентрация липидного экстракта из злокачественной опухоли. Эти данные дают основание полагать, что, если специфические для спонтанных опухолей человека антигены и содержатся в нормальных тканях, то в концентрациях, столь незначительных, что обнаружить их при помощи различных методов не представлялось возможным.

Таково было в основном состояние знаний об антигенной специфичности злокачественных новообразований человека к 70-м гг., когда для исследования применялись гетероиммунные сыворотки, содержащие поликлональные антитела. Большая или меньшая

специфичность сывороток достигалась избирательной истощающей адсорбцией побочных, неспецифических антител. Новый этап в изучении специфических антигенов злокачественных новообразований человека наступил с введением в иммунологическую практику моноклональных антител.

Моноклональные антитела для выявления антигенов опухолей

Гипотеза F. Burnet о том, что каждый клон иммунных плазматических клеток обладает способностью продуцировать антитела только к одной антигенной детерминанте, послужила основанием для получения моноклональных антител и использования их для выявления специфических антигенов.

G. Köhler и C. Milstein (1975) наблюдали, что в результате слияния плазматических клеток селезенки от иммунных мышей с клетками мышиной миеломы возникают гибридные клетки, способные продуцировать специфические антитела. Длительно культивируемые клетки миеломы придают иммунным спленоцитам свойство неограниченно размножаться при сохранении плазмочитами способности секретировать антитела в культуральную жидкость. Введение гибридом в брюшную полость мыши вызывает у последних асцитную форму опухоли с большим содержанием специфических иммуноглобулинов в асцитной жидкости. Таким путем были получены моноклональные антитела к антигенным детерминантам различных вирусов (гриппа, бешенства и др.) [Новохатский А. С., 1983], а также к антигенам нормальных клеток и клеток опухолей. С. Bornstable и соавт. (1978) сообщили о возможности получения моноклональных гетероиммунных антител A_1 и A_2 к групповому антигену А эритроцитов, а также к антигенам системы HLA и использования этих антител для иммуногенетического анализа. Один клон гибридомы продуцировал антитела, которые реагировали с эритроцитами группы A_1 и A_2 , но не давали реакции с эритроцитами группы В и 0. Авторы, к сожалению, не имели в своем распоряжении клонов гибридных клеток, которые бы продуцировали антитела, способные отличать антиген A_1 от антигена A_2 , что удается при помощи нормальных человеческих сывороток α_1 и α_2 .

J. Martinis и C. Croce (1978) получили гибриды соматических клеток, которые продуцировали антитела, специфические к опухолевому антигену Т, индуцированному SV40. Для получения гибридом использовали мышинные клетки миеломы и спленоциты мышей, иммунизированных трансформированными SV40 клетками, содержащими антиген Т. Из 12 гибридом только 4 гибридомы продуцировали антитела к антигену Т. Моноклональные антитела одних гибридом реагировали как с антигеном Т клеток, трансформированных SV40, так и с антигеном Т клеток, трансформированных человеческим паповавирусом (ВК). Феномен сходства антигенов Т, индуцированных обезьяньим и человеческим папова-

вирусами, был установлен ранее при помощи поликлональных антител. Однако оказалось, что моноклональные антитела, секретируемые другими гибридами, давали положительную реакцию иммунофлюоресценции только с антигеном Т клеток, инфицированных SV40, но не ВК. Авторы сделали вывод о том, что различные гибриды продуцируют антитела, способные дифференцировать различные антигенные детерминанты. К сожалению, эти авторы не имели моноклональных антител, реагирующих с антигеном Т (ВК) и не дававших в то же время реакции с антигеном Т (SV40), что служило бы доказательством в пользу качественного различия между антигеном Т (SV40) и антигеном Т (ВК).

Большая серия работ по получению моноклональных антител и использованию их для изучения антигенной специфичности злокачественных новообразований человека была выполнена Н. Koprowski с сотрудниками. Н. Koprowski, Z. Stepkowski и D. Herlyn (1978) получили моноклональные антитела из гибридом, возникших от слияния клеток мышиной миеломы со спленоцитами мышей, иммунизированных клетками культуры человеческой меланомы. Из 29 гибридных культур 9 вырабатывали антимеланомные антитела, которые реагировали в непрямой радиоиммунной реакции с тремя меланомами (690, 691 и 169Н), но не реагировали с другими испытуемыми образцами меланом, а также с клетками злокачественной опухоли толстой кишки и нормальными человеческими клетками. Антитела других гибридных культур были менее специфичными. Они реагировали со всеми меланомами (за исключением одной), а также с антигенами 4 из 5 образцов опухоли толстой кишки и тремя нормальными человеческими культурами клеток.

Таким образом, использование гетероиммунных моноклональных антител дало возможность установить антигенные отличия меланом от раковых и нормальных тканей, обнаружить меланомы, сходные и отличающиеся по антигенным свойствам. Анализ конкурентного связывания моноклональных антител позволил выявить неодинаковые по специфичности эпитопы в различных линиях культуры клеток меланом. Антимеланомные антитела, как было показано, подавляли рост клеток культуры человеческой меланомы у бестимусных мышей. Z. Stepkowski и соавт. (1979) применили моноклональные антитела для исследования антигенов меланом, выделенных непосредственно от больных (ранее изучались клетки культуры меланом).

Объектом исследования были 4 первичных меланомы кожи и 5 метастазов меланом (в лимфатические узлы, печень и кожу). Моноклональные антитела, секретируемые гибридами, получали или из культуральной жидкости, или из асцитной жидкости мышей, которым вводили гибридомы. Антигены выявляли с помощью радиоиммунологического анализа и реакции смешанной гемадсорбции.

Оказалось, что все 9 изученных меланом, полученных от различных больных, более активно связывали антимеланомные анти-

тела, секретируемые гибридами, чем нормальные ткани от тех же индивидов. Клетки невусов (доброкачественные новообразования) моноклональные антитела не связывали. Это свидетельствует о том, что антитела были специфичны для злокачественных меланоцитов. Моноклональные антимиеланомные антитела не связывались с двумя образцами культуры раковых клеток, фибробластами кожи, лимфобластоидными линиями клеток, а также с клетками периферической крови и печени, что свидетельствует о специфичности выделенных моноклональных антител и, следовательно, о специфичности обнаруживаемых ими опухоеспецифических антигенов. Неодинаковое связывание антител клетками меланом, полученных от различных лиц, свидетельствует, по мнению авторов, о существовании в опухолях более чем одной антигенной детерминанты.

Принципиально сходные результаты получили M. Yeh и соавт. (1979), изучавшие с помощью моноклональных антител специфические для меланом антигены. Авторы получили гибриды клеток мышинной миеломы NS-1 со спленоцитами мышей, иммунизированных клетками культуры человеческой меланомы M1804. Были отобраны три гибридомы (3.1; 3.2 и 3.3), которые продуцировали антитела. Для их исследования применяли различные методы: радиоиммунологический анализ, цитотоксический тест, непрямую реакцию иммунофлюоресценции. Антитела всех трех гибридом более сильно реагировали с антигенами меланомы M1804, т. е. с клетками, взятыми для иммунизации, и давали более слабую реакцию с двумя другими меланомами. Однако с 9 остальными аллогенными меланомами реакция отсутствовала, что свидетельствовало о качественном антигенном различии этих новообразований. Антитела гибридом были относительно специфичными, они не реагировали с аутологичными и гетерологичными фибробластами кожи, легких, а также с целым набором аллогенных антигенов: лимфоцитами периферической крови от 68 доноров, лимфоцитами от 12 больных лейкозом, лимфоидными В- и Т-клетками. Это свидетельствовало о том, что гибридомные антитела не были направлены к антигенам гистосовместимости системы HLA-A, В, С или DR (Ia), а также к антигенам системы АВ0 (H). Моноклональные антитела не реагировали с клетками культуры 5 раковых линий, липосаркомы, т. е. были специфичными. Исключением явились антитела гибридомы 3.1, которые давали слабую реакцию и с клетками злокачественной опухоли молочной железы человека. Антитела трех гибридом обладали цитотоксической активностью по отношению к меланоме M1804 в присутствии комплемента. Другие линии клеток меланомы, как и клетки злокачественной опухоли толстой кишки, цитотоксического эффекта не давали. Этот факт еще лишний раз подтверждает существование различных по антигенным свойствам опухолей.

Дальнейшее изучение [Yeh M., Hellström I., Hellström K., 1981] меланом с помощью моноклональных антител показало, что клетки, составляющие одну опухоль, неоднородны по содержанию

специфического антигена. Последний может в них находиться в большем или меньшем количестве или даже полностью отсутствовать. Это так называемые негативные в отношении специфического антигена клоны. Полагают, что некоторые опухоли представляют собой смешанную популяцию антигенпозитивных и антигеннегативных клеток. Причина утраты некоторыми клетками специфического антигена остается неизвестной. Возможно, что этому способствует ионизирующая радиация, мутагенные агенты, включая и химиотерапевтические препараты [Yeh M., Hellström I., Hellström K., 1981].

Моноклональные антитела были применены M. Herlyn и соавт. (1979) для обнаружения специфических антигенов в раковой опухоли толстой кишки человека. После слияния клеток мышиной миеломы со спленоцитами мышей, иммунизированных культурами раковых клеток толстой кишки, были отобраны две гибридомы, секретировавшие специфические антитела. Для обнаружения последних применяли три метода: радиоиммунологический анализ, смешанную гемадсорбцию по A. Espmark и A. Fagreus (1962) и иммуофлюоресценцию. Моноклональные антитела обладали хорошо выраженными специфическими свойствами: они реагировали как с клетками культуры злокачественной опухоли толстой кишки, так и с клетками, полученными непосредственно от больных раком. Моноклональные антитела не реагировали с культурами клеток других новообразований (меланомы, астроцитомы, фибросаркомы), а также с линиями нормальных клеток (фибробластами кожи, почки, легкого) и прилежащих к опухоли тканей. Все 8 из 9 исследованных раковых опухолей обладали общим антигеном и отличались в антигенном отношении от опухолей другой локализации и структуры. Адсорбция гибридомных антител клетками культуры злокачественной опухоли толстой кишки элиминировала их специфическую активность.

Для большей убедительности в специфической направленности антител к раковой опухоли толстой кишки было бы необходимо проведение адсорбции гибридомных антител тканями нативной селезенки, антигены которой, согласно исследованиям П. Н. Косякова и В. С. Коростелевой (1957), имеют наибольшее сходство с антигенами раковых опухолей. Соединительная ткань, а также ткани мышцы, печени и почки проявляют наименьшее сродство с антигенами опухолей и поэтому не могут служить для строгого контроля противоопухолевой специфичности антител. Н. Корговски и соавт. (1979) получили от одной мыши, иммунизированной одной линией культуры клеток злокачественной опухоли толстой кишки, набор гибридом и изучили специфичность продуцируемых ими антител.

Гибридомы получали путем слияния иммунных спленоцитов с клетками мышиной миеломы. Использовали прямой и непрямой радиоиммунологический метод, цитотоксический тест с применением радиоактивного хрома (^{51}Cr). Сравнивали культуры раковых клеток (толстой кишки, молочной железы, легкого), а также культуры клеток саркомы, меланомы, астроцитомы.

нормальных фибробластов и лимфоидных клеток. Из 76 гибридов были отобраны 19, которые продуцировали антитела различной специфичности.

Антитела одних гибридов оказались строго специфичными, они реагировали только с клетками опухоли толстой кишки и не реагировали с клетками мelanомы, астроцитомы, рака молочной железы, легкого, саркомы, нормальными фибробластами. Антитела других гибридов реагировали не только с клетками злокачественной опухоли толстой кишки, но и с клетками мelanомы, а антитела одной гибридомы связывались еще с клетками астроцитомы и злокачественной опухоли молочной железы. В некоторых гибридах содержались антитела к РЭА. По-видимому, по этой причине гибридные антитела иногда связывались с клетками тератоканцином. Антитела одних гибридов реагировали со всеми 8 испытываемыми линиями клеток злокачественной опухоли толстой кишки, антитела других — только с 5 или даже 4 линиями, что свидетельствует о неодинаковой специфической активности гибридных антител. Не исключено, что имеются различия и в антигенных детерминантах раковых клеток. Наличие сходного антигена у различных линий раковых клеток авторы объясняют или индукцией опухолей общим вирусом, или, что более вероятно (по их мнению), реэкспрессией особого эмбрионального антигена, отличающегося от РЭА.

Антитела, полученные из 6 гибридов, были испытаны с помощью цитотоксического теста. В качестве эффекторных клеток использовали суспензию клеток селезенки нормальной мыши, а в качестве клеток-мишеней — сенсibilизированные гибридными антителами опухолевые клетки толстой кишки. Оказалось, что только сенсibilизированные гибридными антителами опухолевые клетки были чувствительными к цитотоксическому действию лимфоцитов, в то время как линии клеток злокачественной опухоли легкого, мelanомы, астроцитомы и фибробластов к этим антителам были нечувствительны и поэтому не подвергались цитотоксическому действию лимфоцитов. Цитотоксический эффект, таким образом, подтверждал наличие в раковых клетках толстой кишки специфических антигенов. Аналогичные результаты получили D. Herlyn и соавт. (1979) при сравнительном изучении действия моноклональных антител к клеткам культуры человеческой мelanомы и клеткам рака толстой кишки в цитотоксической реакции, вызываемой нормальными лимфоцитами. Моноклональные антитела, секретируемые двумя гибридами, были специфичны. Одни из них реагировали (по данным радиоиммунологического анализа) с клетками культуры мelanомы, другие — с клетками опухоли толстой кишки. Более того, специфическое действие моноклональных антител проявилось и в цитотоксической реакции, вызываемой нормальными лимфоцитами селезенки. (Зависимый от антител цитотоксический эффект определяли по выделению ^{51}Cr .)

Большой интерес вызвало сообщение D. Herlyn и соавт. (1980) о возможности *in vitro* подавлять рост клеток раковых опухолей

человека при помощи моноклональных антител. Моноклональные антитела получали из гибридом, возникших в результате слияния клеток мышинной миеломы со спленоцитами мышей, иммунизированных клетками злокачественной опухоли толстой кишки человека. Отбирали гибридомы, секретирующие специфические антитела. Особенно интересной оказалась гибридома 1083-17-1А. Секретируемые ею антитела не только реагировали с клетками опухоли толстой кишки *in vitro*, но и подавляли рост этих клеток *in vivo*. Антитела этой гибридомы относились к субклассу IgG-2a, были специфичны, обладали цитотоксической активностью, реагировали (по данным радиоиммунологического анализа и реакции смешанной гемадсорбции) с клетками культуры 8 различных линий опухоли толстой кишки и не реагировали с клетками 18 других опухолей человека (меланомы, астроцитомы, рак легкого и бронхов), а также с нормальными фибробластами. Моноклональные антитела связывались и со свежесекретируемыми клетками злокачественной опухоли толстой кишки и не реагировали с клетками прилежащей к опухоли слизистой оболочки тех же больных, но реагировали с 4 тератокарциномами. В эксперименте использовали 6—8-недельных бестимусных мышей линии Balb/c, им вводили под кожу шеи 10^7 клеток культуры злокачественной опухоли толстой кишки человека. Моноклональные антитела вводили мышам ежедневно в течение 18 дней. Оказалось, что моноклональные антитела подавляли рост человеческих раковых клеток у бестимусных мышей. Это проявлялось в снижении частоты образования опухолей, увеличении латентного периода: уменьшении объема опухоли. Моноклональные антитела не влияли на рост у животных меланомы или бронхогенных опухолей. Моноклональные антитела связывались *in vivo* с клетками опухоли толстой кишки, но не с клетками легкого или почки животных-носителей опухоли или с клетками других опухолей, имплантированных другим животным.

Механизм специфического противоопухолевого действия моноклональных антител изучен еще недостаточно. Прямой лизис в присутствии комплемента D. Herlyn и соавт. исключают; об этом свидетельствуют и опыты *in vitro*. Авторы предполагают, что рост опухоли подавляет зависимость от антител клеточная цитотоксическая реакция. Поскольку лимфоидные Т-клетки у бестимусных мышей отсутствуют, то в процессе ингибиции опухолевого роста возможно участие естественных киллеров. Моноклональные антитела мышей подавляли рост человеческих раковых клеток у бестимусных мышей, однако будет ли этот феномен иметь место у человека, еще не выяснено.

О способности моноклональных антител вызывать комплемент-зависимую цитотоксическую реакцию клеток раковых опухолей человека сообщили D. Herlyn и Н. Koprowski (1981). Моноклональные антитела получали из асцитной жидкости мышей, которым в брюшную полость были имплантированы гибридомы, секретирующие антитела к клеткам злокачественной опухоли толстой

кишки человека. Клетки-мишени метили ^{51}Cr ; по степени освобождения метки из клеток судили о лизисе. Из 15 были отобраны 4 гибридомы, которые продуцировали IgM-антитела, способные вызывать цитотоксическую реакцию клеток культуры в присутствии комплемента кролика. Моноклональные антитела были специфичными, они проявляли зависимость от комплемента цитотоксическую функцию как в отношении культуры раковых клеток толстой кишки, так и клеток свежесыведенной опухоли. С клетками слизистой оболочки толстой кишки, полученными во время операции, а также с клетками культур других опухолей (меланом, астроцитом, бронхогенного рака) и нормальными фибробластами — реакция была отрицательной.

Специфичность цитотоксической реакции подтверждалась опытами избирательной адсорбции. Моноклональные антитела, адсорбированные клетками злокачественной опухоли толстой кишки, утрачивали свою активность. Наоборот, литическая активность не изменялась, если для адсорбции брали клетки других опухолей или нормальные человеческие клетки. Как и следовало ожидать, литическая активность моноклональных антител коррелировала с их способностью адсорбироваться на клетках раковой опухоли. У бестимусных мышей, которым были имплантированы клетки опухоли толстой кишки человека, моноклональные антитела связывались с клетками опухоли *in vivo*, но не с клетками легкого или почки мышей-носителей опухоли. Авторам этой работы не удалось подтвердить отмеченную ими ранее [Herlyn D. et al., 1980] способность моноклональных антител подавлять рост человеческих раковых клеток, имплантированных бестимусным мышам. Ежедневное введение мышам моноклональных антител в течение 18 дней, начиная с прививки им раковых клеток, было безуспешным. Моноклональные антитела, несмотря на цитотоксическую активность в опытах *in vitro*, не ингибировали рост опухолевых клеток в опытах *in vivo* ни сами по себе, ни в комбинации с комплементом.

Причина расхождения в полученных результатах остается неизвестной. Не исключено, что это зависит от особенностей применявшихся антител. Активными в подавлении роста клеток рака толстой кишки в опытах *in vivo*, как отметили ранее М. Herlyn и соавт. (1980), были моноклональные антитела аллотипа IgG-2a, в опыте же М. Herlyn и Н. Koprowski (1981) использовались гибридомные IgM-антитела. В этой связи большой интерес представляют опыты I. Bernstein и соавт. (1980) по применению моноклональных антител для лечения мышинного лейкоза. Авторы использовали лейкозные клетки SL2, полученные из спонтанной тимомы мышей и поддерживаемые на мышах линии AKR. Эти клетки несут на своей поверхности антиген Thy1.1, по отношению к которому и были получены от мышей линии Balb/c аллогенные моноклональные антитела из гибридомы, возникшей в результате слияния иммунных спленцитов с клетками мышинной миеломы. Авторы пользовались асцитной жидкостью как источником IgG-2a-

антител. Последние в опытах *in vitro* обладали комплементзависимой, а также зависимой от лимфоцитов цитотоксичностью. Введение моноклональных антител в комбинации с комплементом начинали одновременно с подкожной имплантацией лейкозных клеток SL2 и продолжали каждый 3-й день в течение 2 нед. У нелеченых мышей лейкоз лимфомы быстро прогрессировал. У особей, леченных гибридными антителами, наблюдали подавление роста трансплантированных клеток лимфомы и более длительное выживание. Значительный эффект достигался от введения сыворотки (комплемента) кролика. В этом случае у 3 из 8 животных местного образования опухолей не отмечалось. Авторы считают перспективным применение моноклональных антител после оперативного удаления опухоли для предотвращения развития метастазов.

S. Loor и соавт. (1981) использовали моноклональные антитела для обнаружения антигенов, ассоциированных с меланомой человека. Гибридомы получали от слияния спленоцитов мышей, иммунизированных клетками культуры меланомы, с клетками мышиной миеломы. Одна гибридома (5.1) продуцировала IgG-антитела, которые реагировали почти с 50% исследованных линий культуры меланом и раков. Выделенный с помощью этих антител антиген оказался полипептидом с молекулярной массой 240 000. Этот полипептид находился в высокой концентрации и в ткани мозга взрослых людей и эмбрионов, а также в некоторых других тканях. Другая гибридома (6.1) продуцировала IgM-антитела, которые связывались с 50% исследованных меланом и 80% культур клеток рака почки. Антитела этой гибридомы выявляли в меланомах полипептид (молекулярная масса 155 000), который не обнаруживался в некоторых нормальных тканях взрослых людей и эмбрионов. Таким образом, авторам не удалось с помощью гибридных антител обнаружить антигены, ассоциированные с меланомами. Подобный антиген встречался и в клетках некоторых раковых опухолей. К сожалению, был недостаточным набор и нормальных тканей, которые бы контролировали специфичность ассоциированного с опухолями антигена.

Как уже упоминалось, ткани нормальной селезенки должны были бы служить для неперемного контроля специфичности реакции. Из описанных опытов следует также, что гибридные антитела реагировали не со всеми линиями клеток меланомы, свидетельствуя тем самым об антигенных различиях меланом. Это было отмечено и другими исследователями. Кроме того, результаты изучения антигенных свойств перевиваемых культур нельзя полностью «переносить» на опухоли, выделенные непосредственно от больного. Как отмечалось выше, некоторые антигены, например групповые антигены АВ0(Н), могут утрачиваться клетками в процессе культивирования. Об обнаружении ассоциированного с меланомой человека антигена сообщили S. Carrel и соавт. (1980). Гибридомы получали путем слияния клеток мышиной миеломы со спленocyтaми мыши, иммунизированной

ванной фракциями оболочек человеческой меланомы (линия Мс-43). Из 26 гибридом были отобраны три, антитела которых реагировали (в радиоиммунологической реакции) исключительно с клетками меланомы. Антитела двух гибридом открывали общие для меланом антигены, так как они реагировали с 15 из 16 линий клеток этих опухолей. Антитела третьей гибридомы проявляли более узкую специфичность, они реагировали только с 5 из 16 линий клеток меланом. Для дальнейшего доказательства специфичности гибридных антител были проведены опыты по избирательной адсорбции. Клетки меланомы связывали 50% антител, в то время как клетки рака толстой кишки и гипернефромы вызвали незначительное понижение уровня антител. Опыт перекрестной адсорбции ясно показал, что антитела двух клонов гибридом реагируют с различными антигенными детерминантами, локализованными на одной и той же меланомной клетке.

P. Giasomini и соавт. (1983) разработали радиоиммунологический метод с использованием моноклональных антител к двум различным детерминантам высокомолекулярного антигена, ассоциированного с меланомами. Результаты опытов учитывались по количеству связанных моноклональных антител, меченных радиоактивным йодом.

Антиген, ассоциированный с опухолями был обнаружен в 4 меланомах из 8 исследованных. Авторы отметили значительные колебания в количестве антигена в меланомах различных пациентов и неодинаковую его экспрессию в клетках, полученных из разных участков опухоли от одного и того же больного. В экстрактах из нормальных органов (почки, печени, легкого, мозга, скелетных мышц), а также невусов и кожи от 3 доноров ассоциированный с меланомами антиген не был найден. Авторы считают возможным использовать антиген, ассоциированный с меланомами для иммунодиагностики и иммунотерапии этих опухолей. Для этого они рекомендуют пользоваться комбинацией моноклональных антител к различным типам этих антигенов. Авторы подчеркивают преимущества в использовании комбинации моноклональных антител перед моноклональными антителами к одной детерминанте, поскольку это позволяет в определенной мере преодолеть трудности, обусловленные существованием меланом с различной антигенной специфичностью.

A. Morgan и R. Melntyre (1983) сообщили о применении моноклональных антител (метод ЭЛИЗА) для обнаружения специфического для меланом антигена в клеточных культурах и в сыворотках больных. Моноклональное антитело 9.2.27 открывало в клетках меланом антиген с молекулярной массой 280 000. Этот антиген отсутствовал в клетках карцином легкого, молочных желез, лимфобластоидных линиях клеток, но был обнаружен и в одной клеточной линии рака толстой кишки. Авторы сделали попытку определить специфический антиген в сыворотке больных меланомой. Для этого они использовали кроличью поликлональную антисыворотку и моноклональные антитела. Эти два реагента открывали

различные антигенные детерминанты на одной и той же молекуле антигена с молекулярной массой 100 000. Используя разработанную схему постановки иммунопероксидазной реакции, авторам удалось определить повышенный уровень антигена в сыворотке крови пациентов с меланомами в IV стадии процесса.

Большой интерес привлекла к себе хорошо аргументированная работа W. Dippold и соавт. (1980). Авторы применяли моноклональные антитела для выявления специфических антигенов на поверхности клеток человеческой меланомы. Гибридомы получали обычным способом — слиянием спленоцитов мышей, иммунизированных клетками человеческой меланомы (линия SK-Mel-28), с клетками мышиной миеломы.

Было отобрано 18 гибридом, секретировавших антитела, испытаны в различных серологических реакциях, а также в адсорбционных тестах с большим набором как клеточных культур, так и клеток и неклеточных антигенов. Объектом изучения служила 41 линия человеческих клеток (меланомы, раки, астроцитомы, лимфоидные Т- и В-клетки, эмбриональные), а также эпителий почки взрослых людей, фибробласты кожи, меланоциты.

Кроме того, исследовались эритроциты и лейкоциты периферической крови, а также препараты печени и мозга плода и взрослых людей. Моноклональные антитела проверяли также на специфичность с эритроцитами барана и лиофилизированными препаратами почки морской свинки, пневмококковым полисахаридом XIV типа и др. В большинстве случаев проводились серологический анализ и адсорбционные тесты. Для исключения влияния бычьего белка последний не включался в питательные среды в течение 3 пассажей до испытания.

Моноклональные антитела, полученные из 18 гибридом, позволили авторам дифференцировать в меланомах 6 различных антигенных систем и определить их некоторые физико-химические свойства. Два антигена оказались гликопротеинами с молекулярной массой 95 000 (gr 95) и 150 000 (gr 150). Две другие антигенные системы, обозначенные O₅ и R24, имели характеристику термостабильных гликолипидов. Остальные два антигена M₁₉ и R8 были термолабильны, их биохимическая природа еще не определена. Каждый из шести антигенов был представлен в различной степени в разных клетках. Антиген O₅ находился в каждой клетке человеческого происхождения, в том числе и в клетках меланомы. Антигены gr 95, gr 150, M₁₉ и R8 в определенной пропорции были обнаружены в клетках меланом, астроцитом, рака и на клетках нормальной почки. Антиген R24 имел менее широкое распространение. Он находился в меланомах и астроцитомах, в то время как в клетках эпителиального типа, фибробластах и гемопоэтических клетках он отсутствовал.

Антигены gr 95, gr 150, M₁₉ и R8 выявлялись в большинстве меланом, однако в отдельных меланомах они не проявлялись. Гликолипидный термостабильный антиген R24 находился в клетках всех меланом.

На основании полученных результатов авторы пришли к заключению, что ни один из шести антигенов (gp 95, gp 150, M19, R8, R24 и O₅), обнаруженных ими с помощью гибридных антител, не может рассматриваться как специфический для меланомы, поскольку они встречались (в большем или меньшем количестве) и в других клетках, как злокачественных, так и нормальных. Авторы отметили, что прямые серологические тесты на наличие или отсутствие антигена часто менее чувствительны, чем адсорбционные тесты, и поэтому в работе с моноклональными антителами целесообразно применять адсорбционные тесты.

Принципиально сходные результаты получили R. Woodbury и соавт. (1980), которые изучали при помощи моноклональных антител антигенную специфичность меланом. Спленоциты мышей линии Balb/c, иммунизированных клеточной линией меланомы, гибридизировали с клетками мышиной миеломы. Отобранный клон клеток одной гибридомы, секретировавшей антитела определенной специфичности, в количестве 10^7 клеток вводили в брюшную полость мыши для получения антителосодержащей асцитной жидкости. Моноклональные антитела класса IgG-1 метили 125 I и испытывали в радиоиммунологической реакции. Опыты проводились с 25 линиями клеток меланом, 35 линиями клеток других опухолей (рак, саркома), а также с нормальными фибробластами кожи. Как показали исследования, гибридные антитела связывались в значительной степени с 90% исследованных меланом и с 55% других опухолей и не реагировали с тремя линиями лимфобластоидных В-клеток или культурами фибробластов, полученных от 15 доноров. Антиген, определяемый антителами гибридомы, являлся белком с молекулярной массой 97 000 (p97).

Антиген p97 был выявлен с помощью реакции иммунопреципитации и в биопсийном материале меланом (в 2 из 4 случаев) и в одном случае рака молочных желез. Это свидетельствует о том, что данный антиген экспрессируется и *in vitro*. Интенсивность связывания антител различными меланомами была неодинаковой. Если принять, что меланома, взятая для иммунизации, давала 100% адсорбцию антител, то 9 из 25 других меланом избирательно извлекали 40% и больше меченых антител. Ни одна из 35 других опухолей такой интенсивностью связывания не обладала. Однако антиген p97 в небольших количествах находился и в некоторых других опухолях. Нормальные ткани взрослых людей (кожа, мышцы, фасции, легкие, плацента, яичник, фаллопиевы трубы, матка), полученные при хирургических операциях, антигена p97 не содержали. Авторы, однако, не исключают возможности, что и нормальные ткани взрослых людей и эмбрионов содержат этот антиген p97, но в меньшем количестве, чем меланомы. Они полагают, что необходимо дальнейшее изучение различных нормальных тканей на биопсийном материале с применением более чувствительных количественных тестов, таких как

адсорбция, конкуренция и иммунофлюоресценция, прежде чем прийти к заключению о степени опухолевой специфичности.

Моноклональные антитела R. Levy и соавт. (1979) применили для установления антигенных различий между лейкозными и нормальными Т- и В-клетками. Мышей линии Balb/c иммунизировали лимфоидными Т-клетками, полученными от ребенка с острым лимфоидным лейкозом. Иммунные спленоциты вводили внутривенно сингенным мышам, облученным в дозе 6 Дж/кг. Гибридные клетки выращивали в культуре. Из 1200 первичных культур были отобраны две культуры, которые продуцировали антитела, реагирующие в радиоиммунологическом тесте преимущественно с лимфоидными Т-клетками, полученными от больного, и некоторыми популяциями нормальных клеток коркового слоя вилочковой железы. Однако другие нормальные лимфоидные клетки селезенки, лимфатических узлов, костного мозга и периферической крови с моноклональными антителами не реагировали совсем или давали слабоположительную реакцию. Аналогичные результаты были получены и при использовании реакции иммунофлюоресценции со свежемороженными тканями. Гибридные антитела давали слабое свечение с клетками селезенки и лимфатических узлов. Однако они интенсивно реагировали с клетками коркового слоя вилочковой железы, но не мозгового этого органа. Тимус-лейкозный антиген, выделенный из оболочек лейкозных клеток при помощи солюбилизации их детергентами и последующей иммунопреципитации моноклональными антителами, оказался полипептидом с молекулярной массой 28 000. Гибридные антитела позволяли отличать лейкозные Т-клетки от В-клеток того же больного и периферических В-лимфоцитов здорового донора. Моноклональные антитела, как отметили авторы, реагировали с лимфоидными Т-клетками многих, но не всех больных острым лимфолейкозом. Авторы также полагают, что эти антитела могут быть использованы для определения антигена в Т-клетках у больных острым лейкозом в процессе терапии, а также при выявлении ранних признаков болезни и рецидивов.

J. Taylor-Papadimitrow и J. Petersen (1981) получили три гибридомы, антитела которых реагировали с антигенами мембран жировой глобулы молочных желез человека и не реагировали с фибробластами, лимфобластоидными клетками и большим набором линий эпителиальных клеток, полученных не из молочных желез. Спектр специфической активности гибридомных антител был неодинаковым. Две гибридомы продуцировали антитела, которые реагировали с 7 из 8 линий клеточных культур злокачественной опухоли молочной железы. Антитела 3-й гибридомы обладали более узкой специфичностью — они реагировали только с 2 линиями клеток рака молочных желез. Авторы наблюдали иногда слабую реакцию гибридомных антител и с клетками HeLa, HEp-2 и злокачественной опухоли толстой кишки.

Моноклональные антитела к клеткам остеогенной саркомы че-

ловека были получены М. Embleton и соавт. (1981). Спленоциты мышей, иммунизированных этими клетками, гибридизировали с аллогенными клетками мышинной миеломы. Антитела, продуцируемые тремя гибридами, давали сильную реакцию с клетками, взятыми для иммунизации, а также с клетками и другой линии остеогенной саркомы. Однако клетки двух линий реагировали слабо, а остальные 6 клеточных линий сарком дали отрицательную реакцию. Гибридные антитела были относительно специфичными: они не реагировали с фибробластами тех же больных и фибробластами доноров, а также эритроцитами и моноклеарными клетками, что исключало зависимость реакции от групповых антигенов крови и антигенов гистосовместимости. Вместе с тем представляются интересными данные о том, что гибридные антитела, полученные к клеткам остеогенной саркомы, реагировали и с некоторыми линиями культур раковых клеток: толстой кишки, легкого, желчного пузыря, шейки матки и предстательной железы. Однако с другими линиями раковых клеток толстой кишки или легкого моноклональные антитела не реагировали. Авторы пришли к выводу о том, что единого антигена, специфичного для всех остеогенных сарком, не существует. Из 10 исследованных сарком 4 опухоли имели общий антиген, а у 6 опухолей он отсутствовал.

Авторы не подтвердили данные Н. Koprowski и соавт. (1978), Z. Steplewski и соавт. (1979), S. Carrel и соавт. (1980) о том, что опухоли, имеющие сходную гистологическую структуру, содержат общие специфические антигены, определяемые моноклональными антителами. Антигены, обнаруживаемые в остеогенных саркомах, были найдены и в клетках раковых опухолей. Однако М. Embleton и соавт. предположили, что опухоли обладают целым спектром антигенов — одним или несколькими антигенами, определяющими специфичность данной опухоли независимо от гистологической структуры, и антигенами, связанными с последней. Авторы говорят о необходимости использования панели моноклональных антител, способных распознать в опухолях многие различные антигены. Отсюда следует, что с помощью сывороток, содержащих поликлональные антитела, можно получить наиболее полную информацию об антигенном составе опухолевых клеток.

В качестве продуцентов моноклональных антител к антигенам опухолей человека чаще всего использовали спленоциты мышей. Иммунизация же этих животных таким сложным по составу комплексом ксеногенных для них антигенов, как человеческие опухоли, индуцирует появление многочисленных клонов клеток, способных продуцировать антитела различной специфичности. Отобрать из этой смеси клонов клетки, секретирующие антитела определенной специфичности, является не более легкой задачей, чем получение специфических антител из поликлональных сывороток методом избирательной адсорбции.

В отличие от большинства исследователей, которые использо-

вали ксеногенные моноклональные антитела, К. Sikora и J. Phillips (1981) получили моноклональные антитела, продуцируемые собственными человеческими клетками. Лимфоидные клетки, содержащиеся в злокачественной глиоме человека, гибридизировали с клетками мышинной миеломы. В результате были получены 4 гибридомы, которые продуцировали антитела, специфически реагирующие (применялся твердофазовый радиоиммунологический метод) с мембранами клеток собственной глиомы и не давали реакцию с нормальной тканью мозга. Хотя молекулярная природа этих детерминант осталась не выясненной, авторы полагают, что им удалось обнаружить новые антигены, возникшие в клетках глиомы. По-видимому, в глиоме функционировали В-лимфоциты, которые и входили в структуру опухоли. Полученные гибридомы утратили, к сожалению, способность синтезировать иммуноглобулины через 8 нед после гибридизации лимфоидных клеток глиомы с клетками миеломы мыши.

В результате слияния лимфоцитов пациентов с различными злокачественными заболеваниями с клетками человеческой миеломы К. Sikora и соавт. (1983) получили гибридомы, которые секретируют специфические к опухолям моноклональные антитела. Однако, титр последних был невысок. J. Schlom и соавт. (1980) удалось получить стабильные межвидовые гибридомы путем слияния человеческих лимфоцитов от больных раком молочной железы с клетками мышинной миеломы. Гибридомные антитела специфически реагировали с антигенами опухолей этой локализации и их метастазов и не реагировали с эпителиальными клетками нормальной молочной железы. F. Aota и соавт. (1983) сообщили о получении моноклональных антител к антигенам клеток KG-1 миелоидного лейкоза человека. Гибридомные антитела были специфичными, они открывали на клетках KG-1 уникальный антиген и не реагировали с эритроцитами, гранулоцитами, тромбоцитами, моноцитами, Т- и В-лимфоцитами, а также с 33 другими линиями фибробластов. D. Colcher и соавт. (1981) получили 11 образцов моноклональных антител, которые реагировали в RIA с антигенами раковых опухолей молочной железы человека и не давали реакции с нормальными тканями: молочной железы, лимфатических узлов, легкого, селезенки, кожи, почки, печени и др.

C. Thompson и соавт. (1983) сообщили о широком спектре гибридомных антител, полученных в отношении раковых опухолей кишечника человека, что может в некоторых случаях поставить под сомнение вопрос о существовании тумороспецифических антигенов, открываемых моноклональными антителами. Значительную гетерогенность и вариабельность специфических для клеток раковых опухолей молочных желез антигенов отметили P. Hand и соавт. (1983) при помощи моноклональных антител. Из 39 образцов первичных раков молочных желез 13% реагировали с набором 4 типов моноклональных антител, а 10% опухолей с этими антителами дали отрицательную реакцию. По мне-

нию авторов, с этим фактом необходимо считаться при решении проблемы иммунодиагностики и иммунотерапии опухолей.

L. Hellström и соавт. (1983) показали, что клетки меланомы, культивированные в присутствии моноклональных антител — IgG_{2a} или IgG₁, сохраняют специфический для меланомы антиген p97. Однако добавление комплемента к этой культуре приводило к гибели 50—70% клеток, свидетельствуя этим, что опухолевые клетки несут на своей поверхности комплементфиксирующие антитела. Авторы отметили повышение цитотоксичности под действием моноклональных антител к двум разным эпитомам опухолевой клетки. D. Colcher и соавт. (1983) успешно использовали меченые моноклональные антитела для определения локализации человеческих раковых клеток, введенных бестимусным мышам. M. Seto и соавт. (1983) испытали действие моноклональных антител на развитие асцитной опухоли молочных желез мышей. Авторы показали, что наиболее значительное подавление опухолевого роста зависело от γ_{2a} -моноклональных антител, хотя и γ_{2b} - и γ_1 -антитела проявляли ингибирующее действие. Антиопухолевая активность антител, как полагают, связана с функцией макрофагов, поскольку ингибция их активности частицами кремния снижала и антиопухолевое действие антител.

Техника получения человеческих моноклональных антител далеко еще не разработана. Помимо метода гибридизации соматических клеток (слияние клеток миеломы или В-клеточных линий с иммунными В-лимфоцитами человека) [Olsson L., Kaplan, 1980; Croce C. et al., 1980; Chiorazzi N. et al., 1982], сейчас известен также другой метод, основанный на трансформации *in vitro* антителопродуцирующих В-лимфоцитов периферической крови человека под действием ВЭБ. Новый метод получения человеческих линий клеток, продуцирующих моноклональные антитела, был предложен M. Steinitz и соавт. (1977, 1980, 1983). В результате инфицирования ВЭБ сенсibilизированных В-лимфоцитов человека они превращаются в долгоживущие лимфобластоидные линии клеток, способные секретировать в культуральную среду специфические иммуноглобулины.

Существенным моментом описанного метода является обогащение клеточной суспензии специфическими антителопродуцирующими клетками. Получил распространение способ селекции антигенсвязывающих В-лимфоцитов (Ig⁺ клетки) при помощи розеткообразования с эритроцитами, связанными с антигеном [Steinitz M. et al., 1979, 1980; Kozbor D. et al., 1979]. Способ основан на образовании розеток при взаимодействии антигена с субпопуляцией В-клеток, несущих иммуноглобулиновые рецепторы к определенному антигену.

Таким образом, в экспериментах как с поликлональными, так и моноклональными гетероиммунными антителами, применявшимися для обнаружения специфических антигенов в опухолях человека, получены принципиально сходные результаты. С помощью моноклональных антител подтвержден установленный ранее в

опытах со специфическими поликлональными гетероиммунными сыворотками факт появления в клетках злокачественных опухолей человека новых антигенов, отсутствующих в нормальных клетках тех же больных, от которых были получены опухоли. При помощи моноклональных антител был подтвержден также установленный ранее другой, имеющий принципиальное значение, факт, что единого антигена, общего для всех злокачественных новообразований человека, не существует. Есть опухоли сходные и опухоли, отличающиеся по своим специфическим антигенам. Сходство или различие специфических антигенов не зависит от локализации опухоли и ее гистологической структуры. Принципиальным также является выявленный многими исследователями неодинаковый диапазон специфичности антигенов опухолей, индуцированных вирусами и химическими канцерогенами. Антигены опухолей вирусного происхождения характеризуются специфичностью, определяемой вирусом, и представляются сходными в опухолях, индуцированных одним и тем же вирусом у различных видов животных. Напротив, специфичность антигенов опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, определяется клеткой и характеризуется весьма узкой и часто индивидуальной специфичностью, свойственной определенному клону клеток.

Человеческие опухоли «спонтанного» происхождения по диапазону специфичности их антигенов занимают среднее место между опухолями, индуцированными вирусами и химическими канцерогенами. Злокачественные новообразования одних больных содержат общие для них специфические антигены, а в опухолях других больных общих антигенов нет. Неодинакова и иммуногенность опухолей, индуцированных вирусами и химическими канцерогенами для организма опухоленосителя. У носителей опухолей вирусного происхождения обнаруживаются антитела не только к вирусу, но и к новым, индуцированным им антигенам. Наоборот, у носителей опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, антитела к новым антигенам выявляются очень редко. Нет достоверных данных о выработке специфических антител и к антигенам собственной «спонтанной» опухоли у человека. Можно предполагать, что опухоли вирусного происхождения у человека, аналогично тому, что имеет место в экспериментальных условиях, будут стимулировать выработку антител как к вирусу, так и к индуцированному им в клетках новому антигену.

Опухоли, индуцированные химическими канцерогенами, и особенно опухоли «спонтанного» происхождения, будучи слабоиммуногенными для самих носителей опухолей, являются вместе с тем высокоиммуногенными для ксеногенных животных, от которых получают как поликлональные, так и моноклональные гетероиммунные антитела. Причины низкой продукции антител к антигенам собственных опухолей, как химически индуцированных, так и «спонтанных», остаются еще недостаточно изученными. Можно предполагать, что белковые носители гаптенов опухолей

невирусной этиологии мало или ничем иммунологически не отличаются от нормальных белков хозяина и поэтому не распознаются лимфоидными Т-клетками как «чужие». В силу этого лимфоидные В-клетки не вовлекаются в процесс продукции антител к антигенам собственной опухоли. Введение же этих антигенов ксеногенным животным, как показывают многочисленные опыты, стимулируют синтез как поликлональных, так и моноклональных специфических антител. Можно предполагать, что изменение белкового носителя в опухолевом гаптене или замена его более чужеродным антигенным субстратом приведет к стимуляции продукции антител и в организме опухоленосителя.

Большой интерес представляет возможность искусственного получения опухолевых антигенов на основе химической связи их гаптенных (антигенных детерминант) с синтетическими носителями, способными непосредственно взаимодействовать с лимфоидными В-клетками, минуя Т-клетки, как это описано в отношении некоторых неопухолевых антигенов [Петров Р. В., Хантов Р. М., Атауллаханов Р. И., 1983]. Лимфоидные Т-клетки, как известно, широко применяются для выявления клеточного иммунного ответа организма на антигены собственных опухолей, как химически индуцированных, так и «спонтанных». Однако следует отметить, что многообразные клеточные реакции, используемые для обнаружения в опухолях специфических антигенов, далеко не всегда коррелируют с продукцией специфических антител. Обнаружение же последних в организме опухоленосителя явилось бы более достоверным показателем специфической клеточной и гуморальной иммунной реакции организма на антигены собственной опухоли.

ИММУННЫЙ ОТВЕТ ОРГАНИЗМА НА ОПУХОЛЬ

Проблема специфического и неспецифического иммунного ответа организма на возникновение и развитие опухолевых клеток является важнейшей для онкологии. Этой проблеме посвящена огромная литература, накоплено много фактов, создано немало гипотез. Однако и в настоящее время во многих аспектах она не решена, изобилует противоречивыми сведениями, не позволяющими в полной мере использовать иммунологические факторы и механизмы в практике борьбы со злокачественными новообразованиями. Многие исследователи считают, что иммунные реакции являются наиболее важным средством защиты организма от опухолей. При этом они исходят из предположения, что в опухолевых клетках появляются новые антигены, отличающиеся от антигенов нормальных клеток и стимулирующих поэтому иммунный ответ, который и приводит к элиминации опухолевых клеток. Предполагают также, что только редко и по неизвестным пока причинам неопластические клоны клеток могут «избегать» иммунных защитных механизмов и развиваться в клинически распознаваемые опухоли. Большинство же неопластических клеток, как полагают, элиминируется специфическими иммунными реакциями на очень ранней стадии их развития. Иммунные реакции лежат, по-видимому, в основе и наблюдающейся иногда регрессии опухолей.

О существовании иммунных реакций на опухоли свидетельствуют многие факты. Наиболее показательным в этом отношении является феномен специфического трансплантационного иммунитета, изучению которого было посвящено большое число работ. Еще П. Эрлих (1906) отметил, что после рассасывания привитых опухолей животные приобретают специфический иммунитет к последующей трансплантации той же опухоли. L. Gross (1943) показал, что у сингенных мышей трансплантаты не прививаются, если животные были предварительно иммунизированы опухолевыми клетками. R. Prehn и J. Main (1957) сообщили, что мыши, иммунизированные клетками опухоли, которая была индуцирована химическим канцерогеном, приобретают устойчивость к трансплантату опухоли, но не к нормальной коже, взятой от того же животного. Это свидетельствует о появлении в опухолевых клетках антигенов, которых нет в нормальных клетках.

В 1961 г. Н. Sjögren и соавт., К. Habel выявили, что мыши и хомяки в результате инфицирования их вирусом полиомы становятся относительно резистентными к трансплантату опухоли, индуцированной тем же вирусом. Специфическая резистентность к трансплантируемым опухолевым клеткам наблюдалась у животных и в результате инфицирования их онкогенными аденовиру-

сами, SV40, вирусами лейкозов, вирусом Биттнера. Эти исследования свидетельствовали о том, что в опухолях, индуцированных вирусами, возникают новые, трансплантационные антигены, на которые организм отвечает реакцией отторжения трансплантата опухолевых клеток. Трансплантационный иммунитет может вызывать не только вирус, индуцирующий появление в клетках трансплантационных антигенов, но и сами клетки опухоли, клетки, трансформированные вирусом, а также клетки, подвергшиеся литической инфекции. Т. Е. Ключарева (1974) показала, что эмбриональные клетки хомяка через 11—12 дней после инфицирования их SV40 становятся способными создавать резистентность к трансплантации клеток опухолей, вызванных тем же вирусом. Резистентность к опухолевому трансплантату появляется через несколько дней, а иногда даже через несколько часов после введения животным вируса и сохраняется в течение многих месяцев. Приобретаемый организмом иммунитет к трансплантату специфичен и определяется природой вируса, свойствами индуцируемого им антигена.

Трансплантационный иммунитет, как показывают экспериментальные исследования, возникает и к опухолям, индуцированным химическими канцерогенами. Однако степень активности его значительно уступает таковой трансплантационного иммунитета к опухолям, индуцированным вирусами. «Спонтанные» опухоли экспериментальных животных, как и спонтанно трансформированные *in vitro* культуры клеток, оказались значительно менее иммуногенными, чем клетки, трансформированные химическими канцерогенами и особенно вирусами. Саркомы, индуцированные МХА, обладают иммуногенными свойствами при трансплантации их сингенным животным. Степень иммуногенности варьирует от опухоли к опухоли и прививка опухоли не всегда сообщает животному иммунную резистентность. Отсутствие последней часто связывают с наличием в сыворотке крови иммунизированного животного специфических факторов, блокирующих цитотоксическую функцию лимфоцитов [Hellström K., 1969]. Однако R. Baldwin и M. Embleton (1969) объясняют этот феномен отсутствием у некоторых опухолей новых поверхностных антигенов. Отсутствие у некоторых «спонтанных» опухолей (саркомы мышей, аденомы легкого, опухоли молочных желез) способности вызывать резистентность к трансплантату является хорошо известным феноменом. Иммунная реакция на трансплантат такой опухоли у сингенных животных часто отсутствует. Если же невосприимчивость формируется, то она проявляется в очень слабой степени.

Иммунный ответ организма на возникновение и развитие опухоли проявляется в специфических и неспецифических клеточных, гуморальных и общефизиологических реакциях. Специфический иммунный ответ зависит, как известно, от состояния и функции иммунокомпетентных клеток, свойств антигенов, локализованных в раковой клетке и других общефизиологических

факторов и механизмов, влияющих на иммунный процесс. Как установлено еще классической иммунологией, иммунный ответ будет тем более сильным и полноценно выраженным, чем более чужеродным для организма будет антиген. На бактерии, вирусы, токсины и другие далекие в генетическом отношении антигены организм отвечает комплексной реакцией лимфоидных Т- и В-клеток. К антигенам клеток собственных опухолей, возникших «спонтанно» или индуцированных химическими канцерогенами, иммунный ответ обычно выражен слабее и нередко ограничивается реакцией лимфоидных Т-клеток, в то время как функция лимфоидных В-клеток проявляется незначительно. Подтверждением этому служит частое отсутствие специфических антител у больных раком даже и в послеоперационный период, когда возможность адсорбции антител опухолью исключается. Как указывалось выше, опухолевые клетки имеют сложный комплекс антигенов, среди которых количественно преобладают антигены, свойственные нормальным клеткам того же генотипа. Антитела к ним не продуцируются, как не возникает и специфическая клеточная реакция. Однако в опухолевых клетках обнаруживаются новые антигены (вирусиндуцированные, трансплантационные и др.), которые в нормальных клетках того же генотипа отсутствуют. Они возникают *de novo* в трансформированных клетках и могут стимулировать иммунные реакции организма на антигены опухолевых клеток.

Глава 10

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ВОЗНИКНОВЕНИЕМ И РАЗВИТИЕМ ОПУХОЛЕЙ

Концепция об иммунологическом надзоре как комплексе иммунных реакций, направленных на поддержание постоянства внутренней среды организма, нарушаемой проникновением в организм бактерий, токсинов, вирусов и других чужеродных агентов, была обоснована еще классическими исследованиями И. И. Мечникова, П. Эрлиха и их сотрудников и учеников. О значении иммунных реакций в поддержании постоянства внутренней среды (гомеостаза) организма, нарушаемого различными антигенными веществами, писали Н. Ф. Гамалея (1939), Л. А. Зильбер (1959) и др. Концепцию иммунологического надзора П. Эрлих (1908) считал возможным применить и для объяснения возникновения и развития опухолей. Он писал, что в процессе эмбрионального и неонатального развития могут возникать клетки, отличающиеся от нормальных, т. е. опухолевые. Эти клетки остаются неактивными у большинства людей благодаря иммунной системе. Дальнейшее развитие эта концепция получила в работах F. Burnet (1970).

Основываясь на том, что в опухолевых клетках появляются новые антигены, отличающиеся от антигенов нормальных клеток

и распознаваемые иммунокомпетентными клетками как «чужие», «не свои», F. Burnet (1971) высказал предположение о том, что иммунные факторы и механизмы ведут борьбу с опухолевыми клетками, осуществляют функцию иммунного надзора. Эта функция подобна иммунологическому надзору за постоянством внутренней среды организма, нарушаемом проникновением в него вирусов, бактерий, токсинов и других чужеродных агентов. Имеется много оснований полагать, что трансформация клеток происходит довольно часто как в результате «ошибок» при транскрипции ДНК, так и мутаций под действием многих физико-химических и биологических (вирусы) канцерогенных агентов. Согласно теоретическим расчетам [Петров Р. В., 1976], при делении примерно одна на 10^6 клеток становится генетически отличающейся от материнской клетки. Следовательно, в организме человека в каждый данный момент должно быть около $10 \cdot 10^6$ изменившихся клеток, многие из которых обладают потенцией превращения в раковые клетки. Однако число случаев клинически наблюдаемых злокачественных новообразований относительно невелико по сравнению с теоретическими расчетными данными. Очевидно, существуют какие-то механизмы, исправляющие генетические нарушения, которые имеют место как в процессе деления клеток, так и в результате вирусной и физико-химической трансформации. По мнению F. Burnet (1971), главный механизм коррекции генетических нарушений — иммунная система, осуществляющая функцию надзора за генетическим постоянством совокупности соматических клеток.

В настоящее время, однако, известно, что коррекция генетических нарушений происходит не только на клеточном уровне, она осуществляется прежде всего на генетическом уровне посредством специфических репарирующих ферментов, в силу чего до образования клетками новых антигенов дело часто не доходит. Иммунологический надзор, реализуемый иммунокомпетентными клетками, начинает функционировать лишь тогда, когда появляются трансформированные клетки с новыми антигенами, отличающимися от антигенов нормальных клеток.

Иммунный ответ на антигены различных опухолей неодинаков и зависит от степени чужеродности их для организма. Он более сильно выражен в отношении антигенов опухолей вирусного происхождения, когда наблюдаются многообразные реакции клеточного иммунитета, а также продукция антител как к антигенам вируса, так и к антигенам, индуцированным вирусом. Более низкий клеточный и гуморальный иммунный ответ отмечается на антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, и особенно на антигены опухолей «спонтанного» происхождения, когда специфические антитела обнаруживаются сравнительно редко, что свидетельствует о недостаточно активной реакции лимфоидной системы на эти антигены.

Главным аргументом в пользу концепции иммунологического надзора за возникновением опухолей явился факт повышения час-

тоты неоплазий у больных, подвергавшихся иммуносупрессии. R. Hoover и J. Fraumendi (1973) собрали информацию из 30 стран о 6297 больных, которым применяли длительную иммуносупрессию после пересадки почки. Оказалось, что лимфомы у этих больных встречались в 35 раз чаще, чем в контрольной группе, а ретикулярно-клеточные саркомы — в 350 раз чаще, чем ожидалось. Наиболее часто саркомы возникали через год после трансплантации, и повышенный риск их возникновения сохранялся в течение 5 лет и более. Раки кожи и губы наблюдались в 4 раза чаще, чем ожидалось, а другие формы рака встречались чаще в $2\frac{1}{2}$ раза по сравнению с контролем. Подавление функции иммунной системы (тимэктомия у новорожденных, облучение, применение химических иммунодепрессантов, антилимфоцитарная сыворотка) делает экспериментальных животных более чувствительными к возникновению неоплазм. В пользу этого свидетельствуют и клинические наблюдения. Иммунодефицитные состояния атаксия — телеангиэктазия и синдром Вискотта — Олдрича сопровождаются более высокой частотой возникновения опухолей. Увеличение частоты опухолей у лиц пожилого возраста также можно объяснить снижением иммунных реакций по мере старения. Появление у носителя опухоли лимфоцитов-киллеров, а также антител к антигенам некоторых опухолей свидетельствует об иммунной реакции организма на развитие опухоли и, следовательно, функционировании иммунологического надзора в отношении злокачественных новообразований.

Однако имеются факты, которые как бы противоречат концепции иммунологического надзора. Так, у бестимусных (nude) мышей не было отмечено повышения частоты возникновения «спонтанных» опухолей. Под наблюдением J. Rygaard и C. Poulsen (1976) находилось около 6900 бестимусных мышей в течение длительного (7 лет) времени. Опухоли, индуцированные химическими канцерогенами, у этих животных появлялись с той же частотой как и у нормальных особей. Отсутствие вилочковой железы способствовало, однако, появлению опухолей вирусной этиологии. Неонатальная тимэктомия приводила к небольшому увеличению частоты возникновения «спонтанных» опухолей, но у этих животных наблюдалось повышение чувствительности к онкогенным вирусам или вирусиндуцированным опухолям. По-видимому, не все формы злокачественных новообразований находятся под действием иммунологического надзора. Например, саркомы, индуцированные химическими канцерогенами, встречаются одинаково часто как у мышей, обработанных большими дозами антилимфоцитарной сыворотки (АЛС), так и необработанных ею. Гипотеза об иммунологическом надзоре, как полагает R. Prehn (1974), основанная на признании наличия на опухолевых клетках тумороспецифических антигенов, нуждается в серьезном экспериментальном подтверждении. Если эта гипотеза справедлива в отношении опухолей, индуцированных вирусами, когда на клетках опухолей находятся чужеродные для организма антигены,

то антигены такого рода не всегда обнаруживаются в клетках опухолей «спонтанного» происхождения.

Эти факты с несомненностью свидетельствуют о существовании механизмов иммунологического надзора за возникновением опухолей вирусной этиологии. Однако этот механизм представляется менее выраженным в отношении антигенов опухолей, индуцированных химическими канцерогенами и опухолей «спонтанного» происхождения. На возникновение и развитие опухолевых клеток организм отвечает не только специфическими, но и неспецифическими защитными реакциями. Самый древний механизм надзора за постоянством внутренней среды организма — аллогенная ингибция, т. е. подавление роста клеток, отличающихся от нормальных клеток, в том числе и клеток опухолевых. Эта примитивная функция надзора существовала еще задолго до развития специфического иммунитета и она сохраняется на более поздних стадиях развития. Данная функция проявляется как феномен сингенного предпочтения и аллогенной ингибции. Можно предполагать, что аллогенная ингибция развития опухолевых клеток будет тем более выраженной, чем большие различия будут у них с нормальными клетками. Аллогенную ингибицию связывают со всеми клетками, а не только с клетками лимфоретикулярного происхождения. В отличие от реакций специфического иммунитета аллогенная ингибция не устраняется при облучении. Механизмы аллогенной ингибции и сингенного предпочтения остаются еще недостаточно изученными. Однако наибольшее значение в противоопухолевом иммунитете имеют, по-видимому, клетки лимфоидной системы.

Противоопухолевая активность лимфоцитов

N. Mitchison (1950) показал, что специфическая реакция на трансплантат связана с лимфоцитами. Перенос иммунных лимфоцитов (адоптивный иммунитет) в неиммунизированный организм делает последний иммунным к трансплантату. H. Winn (1959) выявил, что рост опухолевых клеток подавляется, если они вводятся сингенному хозяину вместе с лимфоцитами от аллогенного донора, иммунизированного этой опухолью. Сыворотка от иммунизированного животного ингибирующим действием не обладала. G. Klein и соавт. (1960) также отметили, что адоптивный перенос лимфоидных клеток от животного, иммунизированного клетками сингенной саркомы, может подавлять рост опухоли. Сыворотка же этих животных не оказывала значительного действия. Для изучения противоопухолевого иммунитета широкое применение нашли различные клеточные тесты *in vitro*: цитотоксический, ингибция роста колоний опухолевых клеток и др.

T. Yoshida и Ch. Southam (1963) показали, что клетки селезенки от мышей, сенсibilизированных к саркоме, индуцированной химическим канцерогеном, оказывают цитотоксическое действие на клетки культуры той же опухоли. Аналогичные резуль-

таты получили W. Rosenau и D. Morton (1966). Они отметили, что лимфоциты мышей, сенсibilизированных саркомой, индуцированной МХА, обладают способностью разрушать клетки культуры соответствующих опухолей. K. Hellström (1968) получил сходные результаты в опытах на аутологичной системе (лимфоциты и опухоли брали от одного и того же животного). Реакция была специфичной. Лимфоциты мышей-опухоленосителей проявляли цитотоксическую активность. Однако и лимфоциты мышей без опухолей также обладали цитотоксической активностью. Большое число исследований было посвящено изучению роли клеточных факторов в противоопухолевом иммунитете у человека. С помощью цитотоксического теста и реакции подавления роста колоний опухолевых клеток в культуре K. Hellström и I. Hellström (1972—1973) исследовали *in vitro* действие лимфоцитов на клетки злокачественных опухолей легкого, кишечника, молочных желез, нейробластомы, саркомы, злокачественной меланомы. Клетки опухоли и нормальной ткани брали от одного и того же больного и подвергали их действию собственных лимфоцитов. Было установлено, что почти у каждого больного возникает сильная клеточная иммунная реакция на антигены собственных неопластических клеток, но не клеток нормальных. Авторы пришли к заключению о том, что большинство опухолей животных и человека содержат антигены, которые не встречаются в нормальных клетках и тканях. Следовательно, эти антигены могут рассматриваться как опухоеспецифические в отличие от опухолясоциированных антигенов, встречающихся и в нормальных тканях, но в малых количествах. На основании результатов опытов, проведенных *in vitro*, авторы предположили, что аналогичный механизм деструкции опухолевых клеток и ингибции их лимфоцитами имеет место и в организме. Они также предположили, что профилактического и лечебного эффекта можно достичь путем усиления реакций клеточного иммунитета в отношении опухолевых клеток. Подтверждением этому является применение вакцины БЦЖ, повышающей резистентность к опухолям и увеличивающей латентный период их появления. Было отмечено также, что лимфоциты детей с нейробластомами подавляли рост не только аутохтонных опухолевых клеток, но и клеток нейробластом других детей, т. е. наблюдалась перекрестная клеточная реакция. Однако лимфоциты, сенсibilизированные к антигенам нейробластом, не подавляли рост колоний нормальных клеток, взятых от тех же субъектов.

Таким образом, многими исследователями было установлено, что лимфоциты опухоленосителей обладают цитотоксической активностью в отношении собственных опухолевых клеток или клеток опухолей такой же гистологической структуры или этиологии. Ранее предполагали, что лимфоидные клетки от здоровых лиц такой активностью не обладают и поэтому могут служить контролем. Однако стало известно, что лимфоциты некоторых здоровых доноров обладают цитотоксической активностью *in vitro* в отно-

пении опухолевых клеток и даже более выраженной, чем лимфоциты носителей опухолей. Согласно данным К. Hellström (1972), лимфоциты от здоровых субъектов в 5—15% случаев проявляют цитотоксическую активность в отношении как нормальных, так и неопластических клеток-мишеней. Причина такой неспецифической активности лимфоцитов остается неясной. Несомненно, однако, что слабая цитотоксическая реакция лимфоцитов, взятых от здоровых лиц, не может быть исключена.

Исследованиями Н. Cantor и соавт. (1979), R. Herberman и соавт. (1979), R. Kiessling и H. Wigzell (1979) была открыта цитолитическая функция у особой популяции нормальных лимфоцитов, названных естественными киллерами (natural killer — NK), для возникновения которых предварительная иммунизация не является необходимой. Эти клетки в наибольшем количестве находятся в костном мозге и селезенке.

Клетки NK относятся к субпопуляции лимфоцитов. Они не прикрепляются к стеклу, не фагоцитируют, не содержат маркеров Т- и В-клеток. Рецепторы к эритроцитам барана у клеток NK выражены слабо и поэтому розеткообразования они не дают. Возможно, что клетки NK родственны Т-клеткам. У сосунков грызунов клетки NK имеются в малом количестве, затем их число быстро увеличивается и медленно снижается при старении животных. Активность этих клеток находится под генетическим контролем и тесно связана с генами гистосовместимости. Аллогенные клетки лизируются более эффективно, чем ксеногенные. У бестимусных мышей клетки NK содержатся в большом количестве, поэтому полагают, что частота возникновения «спонтанных» опухолей у этих животных не превышает таковую у нормальных мышей. Клетки NK находятся и у неонатально тимэктомированных мышей. На поверхности этих клеток располагаются рецепторы к Fc-области молекулы иммуноглобулина. Эти рецепторы могут быть блокированы антителами, однако цитотоксическая активность при этом не утрачивается. Цитолитическая функция клеток NK не зависит от антител и комплемента.

Считают [Mitchison N., Kinlen L., 1980], что клетки NK выполняют функцию иммунологического надзора за возникновением и развитием опухолевых клеток. Клетки NK обладают широкой специфичностью, они активны в отношении клеток злокачественных опухолей. К цитотоксическому действию этих клеток чувствительны некоторые первичные опухоли и линии клеточных культур. Активность клеток NK не ограничивается опухолевыми клетками, она распространяется и на некоторые типы нормальных клеток. Отмечена связь между активностью клеток NK у мышей и способностью их разрушать внутривенно инокулированные опухолевые клетки, меченные радиоактивным йодом. При некоторых формах супрессии иммунитета частота возникновения опухолей некоторых типов, особенно ретикулоэндотелиальной системы, повышается. Однако при других заболеваниях, также связанных с иммуносупрессией (например, при лепре), увеличение частоты рака не наблюдается. Можно предполагать, что эти различия связаны с неодинаковым действием патологического процесса или иммуносупрессии на клетки NK. Активность клеток NK усиливается интерфероном. R. Herberman и соавт. (1980) показали, что у мышей, чувствительных к канцерогенному действию урета-

на, активность этих клеток снижается при применении уретанового наркоза. Наоборот, у мышей, устойчивых к указанному воздействию, активность клеток НК при уретановом наркозе не изменяется. Канцерогенность уретана коррелировала с его способностью подавлять функцию клеток НК, что и влияло на резистентность организма хозяина к развитию опухоли.

Механизм цитотоксического действия клеток НК еще не изучен. Неизвестно, каким образом клетки НК распознают клетки опухолей, а также и нормальные клетки, являющиеся объектом их цитотоксического действия, и как они осуществляют цитолиз.

В отличие от естественных киллеров (НК) доказано существование иммунных Т-лимфоцитов-киллеров. Эти клетки выполняют важнейшую функцию в отторжении аллогенного трансплантата, а также в лизисе собственных, но измененных в антигенном отношении клеток (например, клеток, инфицированных вирусами, клеток опухолей). Т-лимфоциты животных, сенсibilизированных к вирусу лимфоцитарного хориоменингита, лизируют собственные клетки-мишени, инфицированные этим вирусом [Zinkernagel R. et al., 1974]. Т-киллеры могут проявлять цитотоксическое действие и в отношении сингенных клеток, измененных под действием химических агентов [Shearer G., 1974]. Сенсibilизированные лимфоциты продуцируют лимфотоксины, которые подавляют синтез белков в клетках-мишенях и вызывают их деструкцию. Введение восприимчивым животным смеси опухолевых клеток с иммунными лимфоцитами препятствует образованию опухоли. Это действие лимфоцитов специфично. Лимфоциты цитотоксичны только в отношении опухолевых клеток, но не проявляют активности по отношению к нормальным фибробластам или эпителиальным клеткам носителя опухоли. Нормальные лимфоциты проявляют меньшую активность. Лимфоциты, инфильтрирующие саркому крыс, цитотоксичны для клеток этой опухоли и *in vitro*.

Доказана возможность получения адаптивного иммунитета путем переноса иммунных лимфоцитов. Цитотоксическая активность этих клеток может повышаться или снижаться в зависимости от стадии роста опухоли. У мышей — носителей растущих сарком перитонеальные лимфоциты не проявляли цитотоксического действия. Однако после удаления опухоли (через 2 нед) цитотоксическая активность обнаруживалась. Аналогичный феномен наблюдался и при других опухолях. Иммунные лимфоциты мышей с растущей карциномой молочных желез были менее цитотоксичны, чем лимфоциты животных после удаления опухолей. Клетки опухоли не утрачивали своей активности при смешивании их с клетками селезенки крыс — носителей опухоли. Однако через 2 нед после удаления опухоли клетки селезенки приобретали свойство ингибировать рост опухолевых клеток у крыс. Доказано существование в сыворотке крови факторов, которые могут усиливать или подавлять цитотоксическое действие лимфоцитов. Для проявления феномена цитолиза необходим непосредственный

контакт Т-лимфоцита с мембранами опухолевой клетки. Т-лимфоциты образуют многочисленные цитоплазматические отростки, посредством которых они вступают во взаимодействие с мембраной клетки-мишени, что наглядно показано с помощью электронной микроскопии [Быковская С. Н., Грунтенко Е. В., 1982].

Под действием Т-киллеров в цитоплазме клеток-мишеней увеличивается число лизосом и лизосомоподобных гранул, активируются содержащиеся в них ферменты, наблюдаются разбухание клеток и их гибель. В зоне действия Т-киллеров повышается активность кислой фосфатазы. Повреждение клеток-мишеней связывают с нарушением проницаемости их мембран для электролитов. Один иммунный лимфоцит может повреждать несколько опухолевых клеток. Иммунные сыворотки к антигенам клеточной мембраны могут блокировать цитотоксическое действие лимфоцита. Обработка клеток-мишеней протеазами, так же как и антител, делают их недоступными для сенсibilизированных Т-лимфоцитов. Лимфоциты часто контактируют с другими клетками посредством отростков их мембраны. Сыворотка анти- θ с комплементом лизирует иммунные лимфоциты. Цитотоксическая функция этих клеток не требует дополнительного участия антител. Распознавание антигенов иммунными лимфоцитами специфично, цитотоксический же эффект неспецифичен.

Помимо иммунных лимфоцитов, существуют эффекторные клетки, цитотоксическое действие которых зависит от антител, взаимодействующих с антигенами мембраны опухолевой клетки. Эти лимфоциты получили название клеток К (killer). Лимфоидные клетки К несут на своей поверхности рецепторы для Fc-области молекулы иммуноглобулина. Благодаря этому они могут вступать в тесный контакт с мембраной опухолевой клетки, если последняя несет на своей поверхности фиксированные антитела. Сходные, но не обязательно идентичные рецепторы для Fc-области имеются у макрофагов (для цитофильных антител), у гранулоцитов и тучных клеток (для IgE). Лимфоидные клетки К находятся в перитонеальной полости и селезенке, в небольшом количестве — в лимфатических узлах и в крови, они отсутствуют в вилочковой железе. У мышей эти клетки устойчивы к иммунной сыворотке анти- θ и комплементу, но лизируются сывороткой анти-IgG в присутствии комплемента. Некоторые клетки К имеют рецепторы для C3-компонента комплемента. Клетки К образуют розетки с бараньими эритроцитами, нагруженными антителами, но не фагоцитируют их. Отличаются клетки К и от В-лимфоцитов. Иммунная сыворотка даже в разведении $1:10^6$ может «помогать» клеткам К вызывать зависимое от антител повреждение клеток-мишеней. Всего несколько сотен молекул специфического IgG на одну опухолевую клетку достаточно для их разрушения клетками К. Опухолевые клетки, не обработанные антителами, действие клеток К не подвергаются. Иммунная сыворотка анти-IgG подавляет литическую функцию клеток К.

Противоопухолевая активность макрофагов

В иммунитете организма к клеткам злокачественных новообразований большую роль играют макрофаги: фиксированные гистиоциты паренхиматозных органов и тканей (звездчатые ретикулоэндотелиоциты в печени, клетки микроглии в ткани мозга, отростчатые макрофаги в герминативных центрах и др.), макрофаги серозных полостей и моноциты. Функция макрофагов многообразна. Они участвуют в воспалительных процессах, кроме фагоцитоза — основной их функции, макрофаги принимают непосредственное участие в продукции антител, обладают цитотоксическим действием, образуют интерферон и другие медиаторы иммунитета. Велико значение макрофагов и в противоопухолевом иммунитете. Известный советский исследователь академик А. А. Богомолец не без основания отмечал, что борьба со злокачественными новообразованиями — это борьба за здоровую ретикулоэндотелиальную соединительную ткань. Главная функция макрофагов — фагоцитоз и переваривание захваченных чужеродных и измененных клеток и их фрагментов, комплексов антиген — антитело. Фиксированные макрофаги лимфатических узлов, селезенки, печени, легких, костного мозга, внутренней стенки сосудов и других органов осуществляют важнейшую барьерную функцию. Они очищают кровь и лимфу от микробов и продуктов их жизнедеятельности, от измененных клеток и их фрагментов. В иммунном организме барьерная функция макрофагов значительно повышается. Это зависит как от опсонизирующего действия антител, так и повышения активности самих фагоцитов в иммунном организме. Блокада макрофагов (например, измельченным кварцевым песком, антимакрофагальной сывороткой) подавляет процесс очищения крови.

Связанная с антителами цитолитическая функция макрофагов зависит от наличия у этих клеток рецептора к Fc-области молекул иммуноглобулинов. При их контакте с антигеном клетки посредством Fab-фрагментов остаются свободными Fc-области, к которым и присоединяются макрофаги, что способствует установлению тесного контакта их с клетками-мишенями и последующему цитолизу. У активированных (полученных от иммунных животных) макрофагов повышается метаболическая активность, они быстрее распространяются и более активно захватывают и переваривают микробов и других чужеродных агентов, содержание кислых гидролаз и других деструктивных ферментов увеличивается, возрастает число рецепторов для Fc-области молекул иммуноглобулинов, повышается способность осуществлять тесный контакт с объектом фагоцитоза. Из активированных макрофагов освобождается плазминоген — трипсиноподобный фермент, участвующий в воспалительной реакции. Воспаление служит важнейшей защитной реакцией, а макрофаги в ней играют главную роль.

Фагоцитоз опухолевых клеток макрофагами является хорошо установленным фактом. Клетки, подвергшиеся фагоцитозу, разрушаются. Блокада ретикулоэндотелиальной системы способствует распространению вирусов и росту опухолей. Для опухолей, индуцированных вирусами, большое значение имеет резистентность макрофагов к репликации вирусов. Если макрофаги резистентны к вирусу, то защитные реакции хозяина способны легко ограничить инфекцию в паренхиматозных органах. Активность макрофагов коррелирует с клиническим течением лимфом у хомяков. У животных с быстро метастазирующими опухолями макрофаги в лимфатических узлах представляются малоактивными и незрелыми. Напротив, при росте лимфом, не дающих метастазов, в синусах отмечается значительная гиперплазия активных макрофагов, среди которых виден и фагоцитоз опухолевых клеток.

Активность макрофагов может быть повышена различными стимулирующими агентами: пептоном, зимозаном, липополисахаридами, интерфероном, медиаторами лимфоцитов — фактором, ингибирующим и усиливающим миграцию макрофагов и др. Широко применяют препараты БЦЖ и др. для повышения клеточного иммунитета при опухолевых заболеваниях. В опытах *in vitro* показано, что фагоцитозу макрофагами жизнеспособных опухолевых клеток способствует опсонизация последних изоантителами. Без антител даже макрофаги от иммунизированных животных были не в состоянии захватывать и разрушать живые опухолевые клетки. Убитые же клетки подвергались фагоцитозу даже нормальными макрофагами. Кроме фагоцитоза, как было упомянуто, существуют и другие механизмы, посредством которых макрофаги могут разрушать опухолевые клетки. Это прежде всего их цитотоксическая функция. Макрофаги иммунных мышей могут вызывать деструкцию фибробластов опухоли, т. е. клеток, утративших свойство контактной ингибиции. Однако для нормальных сингенных фибробластов или клеток почки макрофаги не цитотоксичны.

Опыты, проведенные на мышах [Snyderman R. et al., 1976], показали, что неоплазмы могут подавлять способность организма хозяина локализовать макрофаги в воспалительных очагах *in vivo* и, таким образом, препятствовать иммунологическим механизмам разрушения опухолевых клеток. Наличие опухоли у людей сопровождается подавлением хемотаксиса моноцитов. Удаление опухоли хирургическим путем ведет к быстрой утрате депрессии моноцитов, их хемотаксическая активность усиливается. У 54% больных раком отмечалась депрессия хемотаксиса моноцитов *in vitro*. Для пациентов с нормальным хемотаксисом моноцитов прогноз лучше, чем для лиц с подавленной функцией макрофагов. Возможно, что депрессия моноцитов делает организм хозяина менее способным разрушать опухоли. Неоплазмы, по-видимому, могут подавлять миграцию моноцитов. Механизм депрессивного действия опухоли на макрофаги специфичен, так как неопухолевые ткани не подавляют накопления этих клеток в очагах. Уровень

циркулирующих моноцитов у носителей опухолей не снижен, следовательно, депрессивное действие их не зависит от количества клеток. Возможно, что опухоли освобождают низкомолекулярные противовоспалительные вещества, которые препятствуют отторжению аллотрансплантата кожи. Низкомолекулярное вещество, полученное из опухолей мышей, ингибировало накопление макрофагов в опытах *in vitro* и *in vivo*. Диализаты из обработанных ультразвуком мышинных неоплазм, введенные подкожно, подавляли аккумуляцию макрофагов *in vivo*. Аналогичные препараты, полученные из нормальной печени и селезенки, такого эффекта не давали. Следовательно, опухолевые клетки вырабатывают вещества, понижающие функцию макрофагов.

Активность макрофагов, отличающих неопластические клетки от нормальных, не является тумороспецифической, поскольку эти макрофаги цитотоксичны и в отношении клеток, инокулированных токсоплазмами или БЦЖ. По-видимому, макрофаги проявляют цитотоксичность по отношению к измененной поверхности мембран неопластических клеток. Имеются, однако, сообщения, что макрофаги, полученные из брюшной полости иммунизированных животных, часто проявляют и специфическую цитотоксичность *in vitro* и *in vivo*. Перитонеальные макрофаги мышей, иммунизированных к мышинной лимфоме, подавляли рост клеток лимфомы даже у облученных животных. Нормальные же макрофаги не эффективны. Поскольку макрофаги не обладают способностью дифференцировать специфичность антигенов, можно предполагать, что их избирательная активность зависит от цитофильных антител, которые, присоединяясь Fc-областями молекул гамма-глобулина к Fc-рецепторам макрофага, способствуют тесному взаимодействию его с клетками опухолей. Макрофаги могут активироваться цитофильными антителами и приобретать, таким образом, специфическую цитотоксичность. Нормальные макрофаги, активированные цитофильными антителами, сохраняют противоопухолевую активность у облученных животных. Антитела, присоединяясь к антигенам поверхности опухолевых клеток, привлекают к образовавшемуся комплексу посредством Fc-фрагментов макрофаги, которые и разрушают опухолевые клетки.

Механизм цитотоксической функции макрофагов остается еще недостаточно изученным. Некоторые иммунные сыворотки могут подавлять противоопухолевую цитотоксичность нормальных макрофагов. Однако у иммунных макрофагов цитотоксическая активность под действием этой сыворотки усиливается. Комплекс растворимого антигена с антителами может активировать Fc-рецепторы макрофага, однако избыток таких комплексов может насыщать эти рецепторы и лишать макрофаг противоопухолевой активности. Кроме специфических цитофильных антител, активность макрофага могут повышать неспецифические опсопины, а также лимфоидные клетки, полученные от сингенных иммунных животных. Так, нормальные сингенные макрофаги приобретали цитотоксическую активность к клеткам лимфомы после ин-

кубации их с клетками селезенки от иммунных мышей. Природа этого специфического активирующего макрофаг фактора — SMAF (specific macrophage arming factor) еще не выяснена. Идентичен ли он MIF или отличается от него — неизвестно.

Клетки, продуцирующие SMAF, элиминируются сывороткой анти- θ и комплементом и на основании этого они могут быть отнесены к Т-лимфоцитам. Сами эти клетки цитотоксическими свойствами в отношении клеток лимфом не обладают, но продуцируют фактор, специфически активирующий макрофаги. Молекулярная масса SMAF составляет 50 000—60 000, что исключает глобулиновую природу этого фактора. SMAF легко адсорбируется клетками лимфомы, не вызывая при этом их цитотоксичности, однако нормальные сингенные клетки его не адсорбируют. Макрофаги, активированные SMAF, приобретают специфическую цитотоксичность, подобную таковой у антитела. Предполагают, что SMAF является растворимым специфическим рецептором, продуцируемым иммунными Т-клетками, после их контакта с антигеном. Лимфоциты крыс, сенсibilизированных клетками мышиной меланомы, вырабатывают фактор, активирующий макрофаги мыши. Внутривенное введение активированных макрофагов подавляет рост метастазов меланомы в легких мышей.

Специфическая иммунная реакция на вирусы, как и на другие чужеродные антигены, в том числе и антигены опухолей, осуществляется при комплексном взаимодействии лимфоидных Т- и В-клеток, а также макрофагов. Функция иммунокомпетентных клеток контролируется индивидуально-доминантными иммунореактивными генами (I γ -гены), тесно связанными с локусами тканевой совместимости. Под действием этих генов формируются клеточные и гуморальные иммунные реакции организма на любые чужеродные антигены, в том числе и опухолевые. Согласно гипотезе N. Mitchison и соавт. (1974), Т-клетки распознают специфику носителя антигена, а В-лимфоциты, обладая другими рецепторами, распознают антигенные детерминанты полного антигена.

Т-лимфоциты обладают неодинаковыми функциональными свойствами. Существуют Т-клетки, распознающие антигены, и клетки, «помогающие» В-лимфоцитам продуцировать антитела (Т-хелперы). Имеются Т-лимфоциты, выполняющие функцию иммунологической памяти, и клетки, подавляющие иммунный ответ (Т-супрессоры), а также клетки, обладающие цитотоксическими свойствами (Т-киллеры). Взаимодействие между Т- и В-клетками и макрофагами осуществляется посредством молекул специфических рецепторов и различных медиаторов.

Антигены, поступающие в организм, а также антигены, образующиеся в организме, например антигены опухолевых клеток, подвергаются особой переработке макрофагами и взаимодействуют затем с Т-клетками, распознающими специфику носителя антигена. Образовавшийся в результате этого комплекс антигена с рецептором Т-клеток фиксируется Fc-рецепторами макрофагов,

оставляя свободными обращенные во вне структуры их антигенных детерминант, в результате чего последние могут взаимодействовать с молекулярными структурами мембран лимфоидных В-клеток. В этом процессе макрофаги являются как бы своеобразным акцептором, накопителем антигенных детерминант, которые и осуществляют запуск процесса образования антител. Под действием антигенных детерминант лимфоидные В-клетки пролиферируют, растут и превращаются в плазматические клетки, способные к активному синтезу и секреции антител. Макрофаги, кроме того, вырабатывают вещества, активирующие лимфоидные Т- и В-клетки, лимфоциты в свою очередь продуцируют вещества, как усиливающие (MAF), так и подавляющие (MIF) миграцию макрофагов.

Противоопухолевая активность лимфоидных клеток и макрофагов зависит от количественного соотношения их со злокачественными клетками. Клетки иммунной селезенки, взятые в большей пропорции, чем злокачественные клетки, подавляют рост последних. Однако при низком уровне специфических иммунных клеток селезенки, добавленных к опухолевым клеткам, может наблюдаться стимуляция их роста. Несенсибилизированные клетки селезенки, взятые в такой же дозе, как и сенсибилизированные, опухолевый рост не стимулируют, а большие дозы клеток нормальной селезенки могут способствовать опухолевому росту.

Антитела и противоопухолевый иммунитет

Проблема значения антител при развитии злокачественных новообразований не получила еще должного решения. Остается неизвестным, всегда ли больной отвечает специфической гуморальной реакцией на антигены собственной опухоли. Если этот вопрос решается положительно при злокачественных новообразованиях вирусной этиологии, то менее ясным он представляется при развитии опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, и тем более опухолей «спонтанного» происхождения, к которым относится, как известно, большинство опухолей человека. Экспериментально установлено, что у носителей опухолей вирусного происхождения могут обнаруживаться антитела как к вирусным, так и вирусиндуцированным антигенам, локализованным в различных структурах опухолевой клетки: на наружной мембране, в цитоплазме или ядре.

Антигены опухолевых клеток, индуцированных вирусами, обладая большей или меньшей степенью иммуногенности для организма носителя опухоли, стимулируют продукцию антител, обнаруживаемых различными реакциями. Антитела, обладающие цитотоксическими свойствами в отношении собственных лейкозных клеток, найдены у мышей, инфицированных вирусом Гросса. У мышей и крыс высокорезистентных линий обнаружены и естественные антитела к антигенам вируса Гросса. Антитела к антигенам опухолей, инфицированных ДНК- и РНК-содержащими

вирусами, выявлены у многих экспериментальных животных. У людей также найдены антитела к антигенам опухолей, ассоциированных с вирусами. Имеется много оснований считать, что вирус Эпштейна — Барр (ВЭБ) является этиологическим агентом инфекционного мононуклеоза, лимфомы Беркитта и назофарингеального рака у человека. При этих заболеваниях в сыворотке крови людей часто обнаруживают антитела к вирусу, а также к локализованным в клетках вирусным и вирусиндуцированным антигенам. Антиген вирусного капсида (VCA) выявляется реакцией на поверхности продуцирующих вирус лимфобластов и наблюдается через 1—3 дня культивирования биопсийного материала. Антитела к VCA содержатся в высоком титре в сыворотках крови больных лимфомой Беркитта и назофарингеальным раком. Титр антител анти-VCA относительно стабилен в течение всей жизни человека.

В сыворотке крови большинства больных лимфомой Беркитта и назофарингеальным раком обнаруживаются антитела и к вирусному антигену, локализуемому в клеточной мембране лимфобластов. Этот антиген, получивший название мембранного (МА), так же как и VCA, кодируется вирусом и входит в структуру суперкапсида вириона. Человеческие сыворотки позволяют дифференцировать [Henle W., Henle G., 1978] в составе МА два отличающиеся по своей специфичности компонента: ранний (ЕМА) и поздний (LMA). В сыворотке крови могут содержаться антитела к одному или двум мембранным антигенам. У людей, инфицированных ВЭБ, определяются также (и часто в высоком титре) антитела к раннему антигену (ЕА), индуцированному вирусом. Синтез этого антигена в клетке не зависит от репликации вирусной ДНК и не подавляется ингибиторами. В сыворотке крови здоровых лиц антитела анти-ЕА обнаруживаются редко и обычно в низком титре. По данным W. Henle и соавт. (1971), человеческие сыворотки позволяют дифференцировать в клетке два компонента антигена ЕА: ЕА/D и ЕА/R. ЕА/D локализуется диффузно в ядре и цитоплазме инфицированного лимфобласта, ЕА/R — только в цитоплазме.

Сыворотки крови от больных инфекционным мононуклеозом и назофарингеальным раком содержат антитела к ЕА/D, а сыворотки от больных лимфомой Беркитта — антитела к ЕА/R. Повышение титра анти-ЕА/D, наблюдаемое у больных назофарингеальным раком, свидетельствует, по мнению W. Henle и соавт., о прогрессировании этого заболевания и вовлечении в процесс лимфатических узлов. Эти антитела находят обычно у лиц с острыми лимфопролиферативными заболеваниями, индуцированными ВЭБ (инфекционным мононуклеозом, лимфомой Беркитта, назофарингеальным раком). В сыворотке крови больных лимфомой Беркитта и назофарингеальным раком часто выявляют антитела и к ядерному антигену (ЕВНА) клеток, трансформированных ВЭБ. Синтез ЕВНА, обнаруживаемого реакцией иммунофлюоресценции, не зависит от репликации вируса, и антитела являются

первым и часто единственным показателем присутствия генома ВЭБ в геноме клетки. EBNA обнаруживается в эпителиальных клетках нозофарингеального рака, но не в лимфоидных элементах этой опухоли. Наличие анти-EBNA служит признаком персистенции трансформированных клеток в организме. Антитела к вирусным и вирусиндуцированным антигенам трансформированных клеток принимают, несомненно, участие в их деструкции. Однако полной элиминации их не происходит, и клетки могут персистировать на низком уровне в лимфатической системе. Небольшая часть этих клеток, как и в культуре, может время от времени спонтанно превращаться в клетки, продуцирующие вирус. Другие трансформированные клетки постоянно элиминируются антиклеточными иммунными реакциями с последующим освобождением EBNA и стимуляцией продукции анти-EBNA. Т-клетки, обладающие киллерной активностью в отношении трансформированных ВЭБ клеток, наблюдаются среди популяции лейкоцитов от больных инфекционным мононуклеозом в острой фазе заболевания. Первичное инфицирование ВЭБ может не проявляться или вести к сравнительно легкому течению инфекционного мононуклеоза. Это заболевание возникает только при отсутствии вируснейтрализующих антител, т. е. антител к суперкапсиду вируса.

С вирусами семейства *Herpesviridae* ассоциируют и возникновение рака шейки матки у человека. В пользу этой гипотезы приводят много фактов и среди них результаты серологических и эпидемиологических наблюдений. Установлено, что в сыворотке крови больных раком шейки матки чаще, чем у здоровых людей и в более высоком титре, обнаруживаются антитела к вирусу *Herpes simplex* типа 2 (HSV2). В сыворотке крови большинства (95%) таких больных были обнаружены [Hollinshead A. et al., 1972] антитела к растворимому антигену, полученному из мембран раковых клеток. В контрольной группе аналогичные антитела определялись у 25% обследованных. L. Aurelian и B. Schuman (1973), L. Aurelian (1974) сообщили о выявлении в сыворотке крови больных раком шейки матки антител к антигену, индуцированному HSV2. Этот антиген, получивший название AG-4, возникает в инфицированных клетках рано — через 4 ч после их культивирования. У пациентов с инвазивной формой рака шейки матки антитела к AG-4 обнаруживались в 91%, при неинвазивной форме рака — в 68%, а в контрольных сыворотках — в 9% случаев.

Сыворотки крови больных раком легкого, молочной железы, поджелудочной железы, желудка, яичников и других органов антител к AG-4 не содержали. Корреляции между антителами к AG-4 и к HSV2 не отмечено. Антитела к AG-4, как полагают авторы, свидетельствуют об активном росте опухоли и могут иметь диагностическое, а возможно, и прогностическое значение. A. Hollinshead и G. Tarro (1973) также нашли в сыворотке крови больных раком шейки матки антитела, которые реагировали в

РСК как с невирионным антигеном, индуцированным в клетках культуры, так и с растворимым мембранным антигеном, полученным из тканей злокачественной опухоли. Антигены из нормальных тканей и тканей тонкой кишки с этими сыворотками не реагировали. Титр антител к вирусиндуцированным антигенам не коррелировал с титром вируснейтрализующих антител. Контрольные сыворотки дали отрицательную реакцию. А. Sabin и G. Taggo (1973) исследовали 202 сыворотки крови здоровых лиц и больных раком на наличие в них антител к лабильным невирионным антигенам, индуцированным HSV1 и HSV2. В сыворотках крови здоровых людей антитела к этим антигенам не выявлялись, как не обнаруживались они у большой группы пациентов с различными злокачественными новообразованиями. Однако сыворотки крови больных раком губы, рта, носоглотки, почки, мочевого пузыря, предстательной железы и шейки матки давали положительную реакцию. Все 13 сывороток женщин с прогрессирующим раком шейки матки содержали антитела к невирионным антигенам. В последующем А. Sabin (1974) не подтвердил полученные им ранее совместно с G. Taggo результаты как в отношении существования в клетках лабильных невирионных антигенов, индуцированных HSV, так и антител к ним в сыворотке крови больных раком.

Однако исследования других авторов были более успешными. Так, I. Anzai и соавт. (1975) нашли в сыворотке крови больных раком шейки матки антитела к раннему неструктурному протейну γ p134, полученному из инфицированных HSV2 клеток. Сыворотки крови людей контрольной группы и больных раком молочных желез были менее активны. M. Notter и J. Docherty (1976) обнаружили в сыворотке крови 78% больных раком шейки матки антитела к AG-4, контрольные сыворотки реагировали только в 13% случаев. Сыворотки крови от больных с другими формами рака не отличались от контрольных. L. Aurelian и соавт. (1981) исследовали сыворотки крови 1325 больных на наличие антител к AG-4 или ICP10, которые, по данным авторов, были идентичны. Сыворотки крови пациентов с инвазивной формой рака шейки матки в 72,7% случаев реагировали в РСК с этими антигенами. Антитела относились к IgM. Контрольные сыворотки давали положительную реакцию в 11,7%, а сыворотки больных раком другой локализации — в 7,7% случаев. Сыворотки к антигену ICP10 (AG-4) нейтрализовывали инфекционную активность вируса, но только в присутствии комплемента или антиглобулина.

Таким образом, эти исследования показали, что у носителей опухолей, ассоциированных с вирусами герпеса, обнаруживаются антитела как к вирусным, так и вирусиндуцированным антигенам, локализованным в различных структурах опухолевой клетки — мембране, цитоплазме, ядре.

Менее изученным представляется вопрос о наличии антител у носителей опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, и особенно опухолей «спонтанного» происхождения. В на-

шу задачу не входит анализ большого числа экспериментальных работ, посвященных поиску антител у животных — носителей опухолей, индуцированных химическими канцерогенами. Отметим лишь, что результаты этих исследований крайне противоречивы. Так, Ю. А. Уманский (1974) пришел к заключению, что в процессе роста опухолей, индуцированных у мышей МХА, обнаруживаются антитела, реагирующие с бластомными клетками (применялись цитотоксический тест и реакция мембранной флюоресценции). Подобные антитела находились, однако, и в сыворотке крови 58,3% контрольных мышей линии C57/BL. При росте опухоли титр антител возрастал по сравнению с контролем. Наоборот, J. Brown и соавт. (1978) не удалось обнаружить антитела к антигенам опухолей, индуцированных МХА. Было установлено, что мыши линии Balb/c, иммунизированные сингенной фибросаркомой, индуцированной МХА, не вырабатывают антител к антигенам этой опухоли, несмотря на то, что животные приобретали способность отторгать летальные дозы опухолевых клеток. Эти опыты показали, что трансплантационный иммунитет не всегда сопровождается продукцией специфических антител.

Аналогичные результаты были получены и другими авторами, изучавшими зависимость трансплантационного иммунитета от специфических антител. Сыворотки, полученные от иммунных животных, часто не давали реакции с антигенами опухолей, индуцированных МХА, или, наоборот, давали перекрестные реакции со многими опухолями. Наличие эндогенных вирусов у мышей могло быть причиной расхождения между клеточными и серологическими реакциями. Антигены вирусов лейкоза могут часто обнаруживаться в химически индуцированных опухолях, чем и можно объяснить перекрестные реакции антител, возникших у мышей под действием канцерогенов. Как показали исследования J. Brown и соавт. (1978), опухоли, индуцированные МХА и содержавшие индивидуальный трансплантационный антиген, при отсутствии вируса лейкоза не стимулировали продукции как противовирусных, так и противоопухолевых антител. Последние не могли быть открыты ни реакцией цитолиза, зависящего от комплемента, ни реакцией с ^{125}I -протеином А. Обнаружение антител к вирусу, но не к трансплантационному антигену свидетельствует о том, что последний является слабым стимулятором продукции антител у носителя опухоли.

Противоречивыми оказались и результаты многочисленных попыток обнаружить у людей антитела к антигенам опухолей, не находящихся, по-видимому, в ассоциации с известными в настоящее время вирусами. J. Graham и R. Graham (1955) нашли в сыворотке крови 25% обследованных пациентов со злокачественными новообразованиями (рак желудка, молочной железы, мочевого пузыря, остеогенной саркомы) антитела, которые реагировали в РСК в титре 1:16—1:128 с антигенами собственной опухоли. Н. В. Нарциссов и соавт. (1970) сообщили, что сыворотки крови больных раком желудка, легких и молочной железы в 47% слу-

чаев (117 обследованных) давали положительную РСК с антигенами как собственных опухолей, так и опухолей от других лиц. Испытуемые сыворотки реагировали, однако, и с антигенами из нормальных тканей, но менее активно. С антигенами из опухолей реагировали также сыворотки, полученные от лиц с различными хроническими заболеваниями: гепатитом, тиреоидитом, нефритом, сифилисом. Это ставило под сомнение происхождение антител как ответной специфической иммунной реакции организма на возникновение и развитие опухоли.

В сыворотке крови больных злокачественной меланомой D. Morton и соавт. (1968) обнаружили антитела как к антигенам аутологических клеток, так и клеток аллогенной меланомы (SK-Mel-1), выращенных в культуре. Для обнаружения антител были использованы различные реакции: РСК, иммунофлюоресценция, цитотоксический тест. Следует, однако, отметить, что антитела к клеткам меланомы были найдены в 20% случаев в сыворотке крови здоровых людей. Объясняя этот феномен, авторы предположили, что злокачественные меланомы различных больных содержат общий опухолевый антиген, который обусловлен вирусом. Однако встречались сыворотки, которые реагировали в цитотоксическом тесте преимущественно с клетками аутологичной меланомы, но не с клетками меланомы от других больных.

Сыворотки крови от лиц с локализованной меланомой содержали антитела, у больных с генерализованной или прогрессирующей меланомой антитела обнаруживались редко. От кроликов, иммунизированных экстрактами меланом, активных сывороток получить не удалось. Однако от приматов были получены активные сыворотки. После истощения нормальными тканями сыворотки сохраняли способность реагировать в цитотоксическом тесте и реакции иммунофлюоресценции с клетками меланом. Эти клетки адсорбировали антитела, а клетки других опухолей таким свойством не обладали. Как сообщили K. Hellström и I. Hellström (1972), сыворотки крови некоторых больных меланомой во время ремиссии могли потенцировать цитотоксическую активность лимфоцитов в отношении меланомных клеток-мишеней. D. Morton и R. Malmgren (1968) обнаружили антитела у больных различными формами сарком к антигенам клеток культуры человеческой саркомы SA-1 (РСК, иммунофлюоресценция, цитотоксический тест).

Антитела больных остеосаркомой реагировали не только с антигенами аутологичной опухоли, но и с антигенами опухолей от других больных, а иногда и с клетками меланомы. Однако особый интерес представляет тот факт, что антитела к антигенам саркоматозных клеток были найдены в сыворотках крови 29% доноров и 85% здоровых членов семей, в которых были больные остеосаркомами. Эти факты связывают с вирусом, который, как полагают, находится в клетках саркомы и широко циркулирует среди населения [Morton D., Malmgren R., 1968]. О способности организма человека вырабатывать антитела к антигенам собствен-

ной опухоли убедительно свидетельствуют данные К. Sikora и Т. Phillips (1981). Авторы получили гибридомы из лимфоидных клеток злокачественной глиомы человека и клеток миеломы мыши. Из 18 клонов были отобраны 4 клон, которые продуцировали антитела, реагирующие с антигенами собственных глиомных клеток, но не с антигенами нормальных тканей мозга. Источником антител явились, по-видимому, собственные иммунные В-лимфоциты, что свидетельствовало о способности аутологичной иммунной системы специфически дифференцировать антигены злокачественной глиомы от антигенов нормальных тканей мозга.

Эти исследования, таким образом, показали, что при злокачественных новообразованиях, ассоциированных с вирусами, у носителей опухолей обнаруживаются антитела к вирусным и вирусиндуцированным антигенам, локализованным в опухолевой клетке. Описаны случаи обнаружения антител у больных злокачественной меланомой, саркомой, злокачественной глиомой. Однако имеется много оснований предполагать, что и эти новообразования были также ассоциированы с вирусами. Прежде всего об этом свидетельствует общность специфических антигенов, обнаруживаемых в клетках меланом, полученных от различных лиц. Однако при большинстве других злокачественных новообразований (например, раков различной локализации) убедительных данных о продукции антител к антигенам собственной опухоли не получено. На антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, и особенно, опухолей «спонтанного» происхождения иммунный ответ часто бывает неполным и проявляется главным образом клеточными реакциями, в то время как гуморальный ответ — продукция антител — может отсутствовать. Образование антител служит показателем наиболее полно выраженной специфической иммунной реакции, в которой участвуют лимфоидные Т- и В-клетки и макрофаги. Макрофаги и лимфоидные Т-клетки как филогенетически более древние, могут функционировать и без участия лимфоидных В-клеток. Например, реакция на трансплантационные антигены опухолей не сопровождается продукцией антител.

Отсутствие специфических антител к антигенам опухолей, не ассоциированных с вирусами, не нашло еще должного объяснения. По-видимому, дело заключается не только в адсорбции антител циркулирующими в крови растворимыми опухолевыми антигенами, поскольку после оперативного удаления опухоли и благоприятного исхода болезни антитела все же не обнаруживаются. Имеется больше оснований предполагать, что у носителей опухолей, не ассоциированных с вирусами, специфический иммунный ответ или отсутствует совсем, или проявляется в очень слабой степени. Причина этого феномена изучена недостаточно. Показано [Косяков П. Н., Коростелева В. С., 1965], что специфические антигены большинства исследованных раковых опухолей человека состоят из носителя белковой природы и связанного с ним гликолипидного гаптена, определяющего специфичность полного антигена. Введение такого полноценного антигена кроликам

стимулировало продукцию антител, а введение одного лишь гаптена постоянно давало отрицательные результаты. Присоединение к гликолипидному гаптenu лошадиной сыворотки превращало неполноценный антиген в полноценный. Исходя из этих фактов, можно предположить, что отсутствие антител в организме многих онкологических больных является следствием того, что белковый носитель гликолипидного гаптена не распознается как «чужой» своими клетками лимфоидной системы (Т-клетками), в силу чего и не инициируется биосинтез специфических антител. Как показали проведенные нами исследования, с помощью ксеногенных (кроличьих) иммунных сывороток в каждой раковой опухоли удастся обнаружить специфические антигены, отличающиеся от антигенов нормальных тканей того же индивида. Однако антитела к антигенам злокачественных новообразований, не связанных с вирусами, у носителя опухоли выявляются чрезвычайно редко, что свидетельствует о низких иммуногенных потенциях опухоли для ее хозяина.

Злокачественные новообразования, ассоциированные с ВЭБ, вирусами герпеса, папова, ретровирусом D, в отличие от опухолей «спонтанного» происхождения обладают хорошо выраженными иммуногенными потенциями: они индуцируют у носителя опухоли как клеточные реакции, так и продукцию антител.

Антигены опухолей, ассоциированных с вирусами, являются белками, кодируемыми вирусами, белковый же носитель гликолипидного гаптена, определяющего специфичность многих «спонтанных» раковых опухолей, кодируется клеткой. Может быть этим объясняется неодинаковая чужеродность, а, следовательно, и иммуногенность опухолей спонтанного происхождения и опухолей, ассоциированных с вирусами. Исходя из этих соображений, можно утверждать, что специфический иммунологический надзор функционирует лишь в отношении тех раковых клеток, которые содержат новые для организма чужеродные антигены. Функция иммунологического надзора более выражена в отношении клеток, трансформированных вирусами, и менее выражена, а часто и совсем отсутствует в отношении опухолей спонтанного происхождения. Этим можно объяснить разноречивые суждения о функции иммунологического надзора в отношении клеток злокачественных новообразований: одни исследователи распространяют его функцию на все опухоли без исключения, другие отмечают ограниченность его действия.

Вопрос о значении антител в противоопухолевом иммунитете еще не решен. Как известно, антитела выполняют важную защитную функцию в отношении вирусов, бактерий и токсинов животного и растительного происхождения. Специфические иммуноглобулины, присоединяясь к вирусам, нейтрализуют их, делают неспособными проникать в чувствительные клетки, ускоряют процесс деструкции вирионов, освобождают организм от вирусных белков. Аналогичную защитную функцию выполняют антитела и в отношении бактерий. Они нейтрализуют их токсигенную актив-

ность, проявляют микробицидное действие, опсонизируют бактерии, делают их более доступными фагоцитозу, ускоряют процессы деструкции бактериальных антигенов и освобождения от них организма. Все имеющиеся факты свидетельствуют о том, что под действием антител снижается жизнеспособность вирусов и бактерий, т. е. проявляется хорошо выраженное защитное специфическое действие антител. Защитная функция антител наблюдается и в отношении любых чужеродных антигенов, корпускулярных и растворимых, поступающих в организм. Специфические антитела — всегда защита от вирусов, бактерий, токсинов и других чужеродных антигенов, несмотря на то, что комплексы антиген — антитело могут иногда стать причиной патологии, как и аутоантитела к антигенам собственных нормальных клеток и тканей.

Более сложные взаимоотношения наблюдаются в организме при взаимодействии антител с антигенами опухолевых клеток. Имеются факты, свидетельствующие о том, что противоопухолевые антитела могут проявлять различную и нередко диаметрально противоположную функцию. В одних случаях они ингибируют рост опухолевых клеток, способствуют элиминации их из организма путем как цитотоксического действия при участии комплекса, так и активации зависимой от антител противоопухолевой функции лимфоидных К-клеток. В других случаях иммунные сыворотки вызывают не подавление, а наоборот усиление (enhancing) роста опухолевых клеток, т. е. выполняют функцию, которую никак нельзя отнести к категории защитных. Феномен усиления был отмечен еще А. Casey (1941), который сообщил, что сывороточные антитела могут защищать трансплантируемые опухолевые клетки в организме чужеродного реципиента и способствовать усилению роста опухоли.

Феномен иммунологического усиления роста опухолей

Этот феномен был более полно изучен N. Kaliss и N. Malomut (1952), которые и ввели термин «immunologic enhancement». Авторы отмечали, что трансплантация опухолевых клеток, смешанных *in vitro* с аллогенными антителами, может приводить при определенных условиях к возникновению опухолей, в то время как без антител опухоли не развивались. Феномен иммунологического усиления роста трансплантированных опухолевых клеток, обработанных гипериммунными сыворотками, был подтвержден и многими другими исследователями в опытах *in vitro* и *in vivo*. З. И. Ровнова (1958, 1959) показала, что специфическая противоопухолевая сыворотка с большой концентрацией антител (в разведении 1:10) вызывает резкое снижение онкогенных потенций опухолевых клеток асцитной формы аденокарциномы Эрлиха. Наоборот, прививка мышам опухолевых клеток, обработанных гетерологичными антителами в низкой концентрации (разведение 1:60), вызывала статистически достоверное усиление роста опухоли. Аналогичный феномен наблюдался и на клетках

саркомы М-1 у крыс. Малые дозы ксеногенных антител стимулировали рост опухоли, большие, наоборот, подавляли. Данные о стимулирующем действии низких доз специфической противоопухолевой сыворотки были подтверждены и в опытах *in vivo*. Введение мышам разведенной кроличьей иммунной сыворотки (малые дозы) стимулировало рост асцитной опухоли Эрлиха и ускоряло гибель мышей. Большие дозы концентрированной сыворотки тормозили рост опухоли.

Феномен усиления роста при помощи иммунных сывороток был воспроизведен на опухолях различного происхождения. Иммунного усиления роста опухоли можно достичь не только пассивным переносом сыворотки, но и введением клеток лимфатических узлов или селезенки животного, иммунизированного опухолевой тканью. Этот феномен наблюдался и при введении иммунной сыворотки против нормальных тканей, например, селезенки мышей, генетически тождественной с опухолью по генам H-2. О стимулирующем действии антител на функцию и рост опухолевых клеток сообщили W. Shearer и соавт. (1973). Они показали, что линии опухолевых клеток (изучали клетки HeLa, Пер-2 и др.), обработанные иммунными ксеногенными сыворотками, в десятки раз более активно инкорпорируют меченые предшественники ДНК по сравнению с клетками, обработанными нормальным глобулином. Клетки, стимулированные антителами, размножались и росли более быстро и жили дольше контрольных клеток. Стимулирующий эффект наблюдался только при низкой концентрации антител, при высокой концентрации их отмечалось цитотоксическое действие. Усиливающий рост опухолевых клеток фактор, содержащийся в кроличьей сыворотке, являлся антителом *per se*. Авторы предположили, что и феномен усиления роста опухоли может быть связан с действием низкой концентрации антител на опухолевые клетки.

В этой связи уместно напомнить высказанное еще в 1899 г. И. И. Мечниковым предположение о возможности стимуляции функции органа небольшими дозами органоспецифической сыворотки и угнетении ее высокими дозами. Таким образом, действие специфических антител на опухолевые клетки может проявляться неодинаково. При высокой концентрации антител они могут оказывать цитотоксическое действие при участии комплемента, опсонизировать опухолевые клетки, специфически активировать цитотоксическую функцию лимфоидных клеток. При низкой концентрации, наоборот, антитела могут стимулировать функцию и рост опухолевых клеток.

К. Hellström и соавт. (1972) отметили связь между блокирующей активностью сыворотки и ростом опухоли. У мышей, инфицированных вирусом Молони, такая активность сыворотки сохранялась до тех пор, пока опухоли росли, и исчезала, если опухоль регрессировала. При рассасывании опухоли в сыворотке крови животных появлялись цитотоксические антитела, а блокирующие антитела исчезали. Трансплантация мышам саркомы, индуциро-

ванной МХА, приводит к возникновению как клеточного иммунитета, так и блокирующих антител приблизительно через неделю после прививки. Появление блокирующих антител предшествует развитию пальпируемой опухоли. Сыворотки крови людей с прогрессивно растущими опухолями почти постоянно содержат факторы, блокирующие функцию иммунных лимфоцитов. Эти факторы индивидуально специфичны, они активны только в отношении собственных иммунных лимфоцитов и опухолевых антигенов. После успешного лечения блокирующий фактор в сыворотке не выявляется, хотя иммунные лимфоциты еще сохраняют противоопухолевую активность. Вопрос о механизме стимулирующего действия антител на опухолевые клетки остается еще недостаточно изученным. Наиболее популярной и на первых порах широко принятой была гипотеза [Kaliss N., 1959; Möller E., 1963], согласно которой стимуляция роста опухоли под действием иммунных сывороток зависит от наличия в них антител, блокирующих рецепторы опухолевых клеток и тем самым предохраняющих их от цитотоксического действия эффекторных лимфоцитов.

К Hellström (1969) предположил, что гуморальные факторы *in vivo* могут интерферировать с клеточными факторами иммунитета, позволяя тем самым опухоли избегать иммунологического надзора. Действительно, в опытах на животных, а затем и в наблюдениях на человеке было установлено (Hellström K., 1974), что сыворотка крови носителей опухолей содержит факторы, которые способны интерферировать с клеточными иммунными реакциями, подавляют их активность. Цитотоксическое, повреждающее действие гуморальных антител чаще наблюдается при опухолях, индуцированных вирусами и значительно реже при опухолях, индуцированных химическими или физическими канцерогенами. Более того, E. Klein и H. Sjögren (1960) отметили, что иммунные сыворотки к саркоме, индуцированной МХА, не влияют на клетки этой опухоли и не предотвращают появления опухолей, вызванных этим же агентом. Для проявления цитотоксического действия антител, как полагают, необходима определенная критическая пространственная концентрация антигенных детерминант на поверхности опухолевой клетки. Если концентрация антигенных детерминант мала для присоединения Fab-фрагментов, то и Fc-рецепторы не обеспечивают присоединения достаточного количества комплемента. Предполагают, что в этом случае клетки-мишени более резистентны к цитотоксическому действию антител и последние могут усилить рост опухоли. Аналогичную гипотезу развивает и W. Linscott (1970), который также полагает, что действие IgG зависит от плотности антигенных детерминант, локализованных на поверхности опухолевой клетки. При низкой плотности антигенных детерминант IgG вызывают усиление роста клеток, при высокой — их цитолиз. По мнению Ю. А. Уманского (1974), Fc-рецепторы молекул IgG, расположенные далеко друг от друга, труднее присоединяют комплемент

и поэтому цитолиз не происходит. Чем выше концентрация антигенных детерминант на поверхности опухолевой клетки, как это, например, имеет место на клетках бластом, индуцированных вирусами, тем они чувствительнее к цитотоксическому действию.

Феномен блокады рецепторов опухолевой клетки объясняют и особенностью действия различных субклассов иммуноглобулинов. IgG_{γ_1} не способны фиксировать комплемент. Связываясь с клеткой, они препятствуют адсорбции IgG_{γ_2} , которые фиксируют комплемент и оказывают поэтому цитотоксическое действие. Следовательно, IgG_{γ_1} блокируют функцию IgG_{γ_2} , а вместе с тем и цитотоксическое действие на антигены. Однако признанию только за антителами способности блокировать функцию лимфоцитов, токсичных в отношении опухолевых клеток противоречили некоторые факты. Блокирующая способность сыворотки крови человека или животных — носителей опухолей быстро исчезала после удаления опухоли, что не соответствовало известным иммунологическим закономерностям. Например, сыворотка, предохранявшая клетки гепатомы от цитотоксического действия сенсибилизированных лимфоцитов, утрачивала свою активность через 72 ч после хирургического удаления опухоли. Более того, после удаления опухоли сыворотка приобретала деблокирующее свойство.

Кроме антител, в сыворотке крови носителей опухолей могут находиться в большем или меньшем количестве растворимые опухолевые антигены и комплексы их с антителами. Все эти специфические факторы, разумеется, не безразличны для роста и развития опухолевых клеток, для иммунитета. Н. Sjögren (1971) и К. Hellström (1973) показали, что, помимо антител, блокирующим действием обладают комплексы антитела с антигеном. Более того, Н. Sjögren пришел к выводу, что даже один антиген сам по себе может вызывать блокаду лимфоцитов.

Были получены прямые доказательства в пользу того, что в блокирующем эффекте цитотоксического действия лимфоцитов участвует комплекс антиген — антитело. Сыворотка крови от крыс — носителей гепатомы после удаления растущей опухоли утрачивала блокирующие свойства, но приобретала цитотоксические свойства. Прибавление к такой сыворотке антигена в достаточном количестве сообщало сыворотке блокирующие свойства. Имунные комплексы более эффективно блокируют опухолевый антиген, чем антитело.

Предполагают, что антиген в иммунном комплексе играет специфическую роль в подавлении реактивности лимфоцитов. Блокирующее действие сыворотки крысы — носителя гепатомы может быть устранено прибавлением иммунной сыворотки или сыворотки, взятой у животных после оперативного удаления опухоли. Эти опыты свидетельствуют о том, что циркулирующий в крови растворимый опухолевый антиген играет важную роль в специфическом клеточном противоопухолевом иммунитете. Цитотоксическая функция периферических лимфоцитов крови может быть специфически подавлена в результате их контакта с соот-

ветствующим опухолевым антигеном. Большой интерес представляют работы J. Nepom, I. Hellström и K. Hellström (1974), которые изучали природу блокирующего фактора в сыворотке крови опухоленосителей. Они использовали аффинную хроматографию с антителами к опухоли, индуцированной МХА. Было показано, что блокирующий фактор, содержащийся в сыворотке крови мышей с растущими опухолями, является гликопротеином с молекулярной массой 56 000, а не иммуноглобулином, как предполагали ранее. Авторы приводят данные в пользу того, что специфический блокирующий фактор является растворимым антигеном. Об этом свидетельствуют быстрое снижение блокирующей активности сыворотки после удаления опухоли, а также одинаковая специфичность блокирующего фактора и трансплантационного антигена. Способность ингибировать активность лимфоцитов была установлена не только для сывороток опухоленосителей, но и для сывороток лиц с неопухолевыми заболеваниями (множественный склероз, сифилис, гепатит). В феномене блокады комплекс не участвует.

Растворимые опухолевые антигены и комплексы их с антителами могут соединяться с иммунными лимфоцитами и таким образом блокировать их способность взаимодействовать с опухолевыми клетками. Не исключена, как полагают цитированные выше авторы, и активация супрессорных клеток, присутствующих *in vivo*. Следовательно, блокада лимфоидных клеток ведет к усилению роста опухоли.

Цитотоксичность периферических лимфоцитов крови больных меланомой может быть подавлена экстрактами из меланомы, но не экстрактами из слизистой оболочки нормальной толстой кишки. В свою очередь экстракты из меланомы не ингибируют цитотоксическую функцию лимфоцитов больных раком толстой кишки. Ингибирующие факторы могут быть элюированы с лимфоцитов повторным отмыванием. Доказано, что ингибирующие факторы находятся в сыворотке крови носителя опухоли.

Вместе с утратой блокирующих свойств сыворотки приобретают способность устранять блокирующий эффект других сывороток. Оказалось возможным разделить блокирующую сыворотку носителя опухоли на два компонента, один из которых имел молекулярную массу более 100 000 и содержал иммуноглобулин, а другой, свободный от него компонент, имел меньшую молекулярную массу. Малый компонент блокировал цитотоксическую функцию лимфоцитов, но не клеток-мишеней. Комплекс большого и малого компонентов приобретал способность блокировать как клетки-мишени, так и цитотоксическую функцию лимфоцитов. H. Sjögren (1971) и R. Baldwin (1974) считают, что блокада лимфоцитов может осуществляться как комплексом антиген — антитело, так и свободным антигеном, причем блокада лимфоцитов имеет большее значение, чем блокада клеток-мишеней. H. Sjögren (1971) установил, что сыворотки крови крыс с растущими опухолями, индуцированными вирусом полиомы, могут блокировать

функцию иммунных лимфоцитов. Для устранения такого действия сыворотки носителя опухоли достаточно хирургического удаления опухоли, разрушения радиацией, химиотерапевтическими средствами, т. е. способов, ведущих к устранению источника опухолевого антигена. К. Hellström (1974) считает, что, если правильна гипотеза о блокирующем факторе сыворотки комплексом антиген — антитело, то при добавлении антител к блокирующему фактору последний может утратить свою активность. Действительно, сыворотки, содержащие антитела к опухолевым антигенам, часто проявляют деблокирующие свойства. Иммунные лимфоциты, не способные убивать опухолевые клетки в присутствии блокирующего фактора, восстанавливают свою активность в присутствии деблокирующего фактора сыворотки, полученной от здоровых лиц. Предполагают, что деблокирующий фактор — это антитела. Спленэктомия замедляет появление блокирующих факторов в сыворотке.

Клеточные и гуморальные иммунные реакции — это не только защита организма от возникновения и развития опухолей. При определенных условиях они могут и стимулировать опухолевый рост, как это следует из цитированных выше работ. Оспаривая гипотезу R. Prehn (1971) об иммуностимуляции опухолевого роста, обычно исходят из общих представлений о значении иммунных реакций как защитных. Трудно было представить, что эволюционно сложившийся защитный механизм стимулировал рост опухолевых клеток. Однако имеющиеся факты не позволяют исключить такую возможность, о чем сообщили R. Prehn и H. Outzen (1980). Слабая иммунная реакция, вызываемая введением небольшой дозы иммунных спленоцитов, может стимулировать опухолевый рост. Аналогичный феномен отмечен в опытах *in vitro* и *in vivo* и при применении ксеногенных антител в небольшом титре. Предполагают, что лимфотоксин в небольших количествах может стимулировать пролиферацию клеток. При определенных условиях это может иметь место и под действием макрофагов и естественных киллеров (клеток NK). Если клеточные и гуморальные реакции могут стимулировать гиперплазию нормальных тканей, то нет никаких оснований отрицать такую возможность при определенных условиях и для опухолей.

Представленные выше факты и теоретические соображения диктуют необходимость весьма осторожного подхода к применению противоопухолевых сывороток и вакцин с целью лечения злокачественных новообразований.

Часть IV

ИММУНОЛОГИЯ В РЕШЕНИИ ТЕОРЕТИЧЕСКИХ И ПРАКТИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

В решении многих теоретических и практических проблем современной медицины иммунология сыграла выдающуюся роль. Нет ни одной медицинской дисциплины, в которую бы она не внесла существенного вклада. Это относится как к инфекционной, так и к неинфекционной патологии, к решению многих проблем патогенеза, специфической диагностики, профилактики и терапии. Большое место заняла иммунология и в решении теоретических и практических проблем злокачественных новообразований. Иммунологические методы благодаря их исключительной специфичности и высокой чувствительности позволили положительно решить вопрос о качественном антигенном сходстве и различии нормальных и опухолевых клеток. В раковых клетках были найдены такие же антигены системы ABO (H), HLA, Rh, MN и другие, какие находятся и в нормальных клетках того же индивида, от которого опухоль происходит. Эти факты свидетельствуют о том, что клетки злокачественных новообразований человека, приобретая новые для них морфологические и биологические особенности, сохраняют в то же время способность синтезировать различные антигенные вещества, присущие и нормальным клеткам того же генотипа. Вероятно, этим можно объяснить то, что организм носителя опухоли отвечает весьма слабой иммунной реакцией на появление и развитие опухоли, поскольку многие содержащиеся в опухолевой клетке антигены представляются полностью идентичными антигенам нормальных клеток и не распознаются иммунокомпетентными клетками хозяина как «чужие».

Вместе с тем было показано, что содержание некоторых антигенов, например, групповых A и B, в клетках раковых опухолей, особенно в их метастазах, т. е. клетках быстро растущих, может быть снижено, в результате чего определение групповой дифференцировки опухолей становится затруднительным. Сообщения некоторых авторов [Hakkinen I., 1970; Denk H., Tarpeiner G. et al., 1974] о появлении в клетках отдельных образцов раковых опухолей человека антигенов A или B, несовместимых с группой крови носителя опухоли, остаются экспериментально малообоснованными. Не доказано, что при злокачественном процессе в организме появляются не свойственные данному генотипу гликозилтрансферазы, которые и осуществляют синтез антигенов A или B, несовместимых с группой крови опухоленосителя. Не исключено, что результаты, полученные этими авторами, основаны на неспецифическом связывании антител анти-A или анти-B клетками испытываемых тканей, — феномен нередко наблюдаемый: в том

числе и при проведении судебно-медицинских экспертиз. Этот феномен чаще проявляется при применении иммунных сывороток анти-А и реже — при использовании нормальных сывороток.

Таким образом, вопрос о появлении в клетках раковых опухолей человека групповых антигенов А или В, несовместимых с группой крови пациента, не может считаться решенным и нуждается в дальнейшем изучении. Имеется больше оснований полагать, что в раковых клетках не происходит появления антигенов А или В, несовместимых с группой крови больного. Иногда отмечается лишь снижение их количества. М. Tellem и соавт. (1963) предположили, что отсутствие в некоторых образцах опухолей групповых антигенов А и В является следствием быстрого появления в опухоли новых генераций клеток, не достигших функциональной и биохимической дифференцировки. Наличие групповых антигенов А и В в клетках опухолей коррелирует с благоприятным прогнозом течения заболевания, а их отсутствие свидетельствует об агрессивных потенциях опухоли [Limas C. et al., 1979]. Вместе с тем иммунологический анализ показал, что в клетках злокачественных опухолей может повышаться содержание некоторых антигенов (РЭА при раке толстой кишки и АФП при первичном раке печени), а также наблюдаться полная или частичная утрата опухолевыми клетками органоспецифических антигенов. Гетерогенный антиген Форссмана, отсутствующий в нормальных клетках и тканях человека, не возникает и в раковых клетках. S. Nakomori и соавт. (1977) не исключает того, что антиген, иногда обнаруживаемый в гликолипидах, полученных из раковых опухолей желудочно-кишечного тракта, и принимаемый за антиген Форссмана, в действительности является «А-подобным» антигеном, имеющим серологическое сходство с гетерогенным антигеном.

В отличие от антигенов М и N, которые находятся как в опухолевых, так и нормальных клетках, антиген Т (Томсена) и T_n, обнаруживаются только в клетках злокачественных опухолей. Этот факт дал основание G. Springer и соавт. (1976) отнести антигены Т и T_n к канцероассоциированным и высказать гипотезу о том, что их появление — результат неполного потребления этих веществ-предшественников для синтеза антигенов М и N в раковых клетках или следствием ускорения деградации нормальных компонентов клеток. На основании проведенных ими исследований авторы считают, что антиген Т и антитела анти-Т, титр которых у раковых больных снижен, могут использоваться для диагностики, прогноза течения заболевания и, возможно, профилактики и терапии некоторых солидных форм рака.

Вместе с тем антигенный анализ показал, что в клетках злокачественных новообразований возникают и новые антигены, отсутствующие в нормальных клетках. К настоящему времени известны три категории новых антигенов, обнаруживаемых в клетках злокачественных опухолей: антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, антигены новообразова-

ний, индуцированных вирусами и антигены опухолей «спонтанного» происхождения. Специфичность антигенов опухолей, индуцированных вирусами, определяется природой вируса и не зависит от аллогенных и даже ксеногенных различий животных — носителей опухолей. Наоборот, специфичность антигенов опухолей, индуцированных химическими канцерогенами, характеризуется весьма узкой и даже индивидуальной специфичностью вне зависимости от структуры канцерогена. Опухоли «спонтанного» происхождения по специфичности обнаруживаемых в них антигенов занимают как бы промежуточное положение. Среди них встречаются опухоли, специфические антигены которых сходны или даже идентичны (антигены опухолей, ассоциируемых с вирусами герпеса, папова и др.). Однако чаще встречаются опухоли, отличающиеся по антигенным свойствам, аналогично опухолям, индуцированным химическими канцерогенами у животных.

Разумеется, что характер узкой или, наоборот, более широкой специфичности антигенов опухолей человека не может еще служить бесспорным доказательством в пользу этиологической роли того или другого агента. Однако эти факты не могут быть игнорированы при решении такой сложнейшей задачи, как проблема этиологии злокачественных новообразований человека. Для ее решения привлекаются многие отрасли знаний. Однако иммунологический аспект, т. е. изучение специфических для опухоли антигенов и иммунного ответа на них и прежде всего специфических антител, вносит наиболее весомый вклад в решение важнейшей для современной биологии и медицины проблемы.

В опухолях сходной этиологии, очевидно, должны присутствовать идентичные или близкородственные опухолеспецифические антигены. Экспрессия общего специфического антигена в опухолях, различающихся по гистологическому типу и локализации, может свидетельствовать о присутствии в них одного и того же вируса, который мог явиться этиологическим агентом, обусловившим возникновение этих новообразований. Ассоциированные с вирусами опухолеспецифические антигены представляют собой либо структурные вирусные белки, либо новые невирусные антигены, образование которых контролируется вирусным геномом. Обнаружение в опухолях новых, специфических для опухолей антигенов открыло возможность использования их для решения теоретических и практических проблем онкологии. Поскольку получить прямые доказательства в пользу причастности вирусов к возникновению опухолей у людей не представляется возможным, экспрессия новых антигенов является одним из косвенных признаков участия вирусов в происхождении некоторых злокачественных новообразований. Вирусиндуцированные новые антигены могут служить в качестве генетических маркеров, подтверждающих функционирование вирусного генома в опухолевой клетке.

Опухолеспецифические антигены, кодируемые онкогенными ДНК-содержащими вирусами животных группы папова — это

невирионные, очевидно, полифункциональные белки, появляющиеся на ранних стадиях продуктивной инфекции и при трансформации. Функции этих антигенов в инфицированных и трансформированных вирусом клетках окончательно не установлены. Участие антигенов Т вируса полиомы и SV40 в вирусном канцерогенезе достаточно хорошо аргументировано. При помощи ts-A-мутантов паповавирусов была установлена связь между трансформированным фенотипом и экспрессией вирусного гена А. Однако в последнее время оспаривается необходимость этих антигенов для поддержания трансформированного фенотипа.

С помощью антисывороток к антигену Т SV40 от хомяково-опухоленосителей в клетках менингиом человека были обнаружены антигены, подобные антигену Т этого вируса. Работы многих исследователей свидетельствуют в пользу существования возможной этиологической связи между SV40, а также родственными ему вирусами человека (BK, JC и др.) и некоторыми новообразованиями у людей. Тем не менее вопрос о значении паповавирусов в происхождении опухолей у человека в настоящее время остается еще открытым.

Имеются все основания предполагать этиологическую роль ВЭБ в происхождении лимфомы Беркитта и назофарингеальной карциномы. Вирусы группы герпеса и ВЭБ, в частности, широко распространены в человеческой популяции и нередко вызывают латентнопротекающие инфекции. ВЭБ считается возбудителем инфекционного мононуклеоза. Опухоли, ассоциированные с этим вирусом, возникают не у широкого круга лиц, а лишь у отдельных индивидуумов. Однако не учитывать значения ВЭБ в появлении опухолей нет оснований, поскольку доказана стабильная ассоциация антигенных и генетических маркеров этого вируса с канцерогенезом. По-видимому, в этом случае надо иметь в виду и другие возможные этиопатогенетические факторы. Так, при лимфоме Беркитта часто наблюдаются нарушения генетического аппарата клетки, а именно транслокации 8-й хромосомы. Кроме того, малярийная инфекция нередко служит сопутствующим фактором африканской лимфомы Беркитта. Показано, что опухоли с наибольшей частотой возникают у лиц с иммунодефицитами. Это может быть связано с гипореактивностью в отношении неопластически измененных вирусом мембран клеток, которые являются наиболее вероятной мишенью для иммунных реакций. Полагают, что персистенция генома ВЭБ в опухолях не связана с интеграцией его с геномом клетки хозяина [Zur Hausen H., Schulte-Holthausen H., 1975]. Однако М. Epstein (1978) считает, что каждая опухолевая клетка содержит по крайней мере одну молекулу вирусной ДНК, которая линейно интегрирована с геномом клетки и детерминирует экспрессию некоторых новых антигенов.

Присутствие вирусных геномов в клетках лимфомы Беркитта обычно проявляется синтезом ядерного и мембранного антигенов — EBNA и MA. EBNA содержится во всех лимфобластоидных клетках, несущих вирусный геном, причем присутствие этого анти-

гена не зависит от продукции самого вируса. Между EBNA и антигенами Т/паповавирусов прослеживается очевидное сходство. Аналогично антигенам Т, EBNA синтезируется в условиях репрессии большей части вирусного генома; он также является белком, имеющим сродство к ДНК. На этиологическую связь между ВЭБ и африканской лимфомой Беркитта указывают также данные серологических и эпидемиологических исследований. У больных с этими новообразованиями обычно находят повышенные титры антител к различным вирусиндуцированным антигенам. Так, по сравнению с контрольными здоровыми лицами у этих больных наблюдаются повышенные титры антител к вирусу, EBNA и МА. Иммунный ответ на некоторые вирусиндуцированные антигены может иметь прогностическую ценность, поскольку отмечена корреляция между титрами антител и клиническим состоянием больного. Ремиссии сопровождаются, как правило, стойким увеличением содержания антител к мембранному антигену, однако титры их резко снижаются перед наступлением рецидива, тогда как титры антител к R-компоненту раннего антигена (EA/R) при этом обычно возрастают.

Вирусный геном и EBNA обнаруживаются не только в лимфобластоидных, но и в эпителиальных клетках назофарингеального рака. При этом заболевании титры антител к вирусдетерминированным антигенам варьируют в зависимости от клинической стадии болезни. Например, считается характерным повышение титров антител к VCA по мере прогрессирования процесса от I к V стадии. Анти-EA/D могут быть весьма полезны при наблюдении за течением болезни и эффективностью терапии. Так, антитела к EA/D отсутствуют на I стадии болезни, появляясь лишь при более глубоко зашедшем процессе. После хирургического вмешательства или лучевой терапии зарегистрировано снижение титров анти-EA/D, анти-VCA, а также антител к растворимому компоненту фиксирующему опухолевому антигену.

Имеется много фактов в пользу возможной этиологической роли HSV1 и HSV2 в происхождении плоскоклеточных раковых опухолей головы и шеи, а также шейки матки. Это основывается на данных серологического и эпидемиологического анализа, обнаружении вирусспецифических нуклеиновых кислот и индуцированных вирусом антигенов в клетках новообразований. Вирусные нуклеиновые кислоты можно определить в клетках опухолей, индуцированных адено- и паповавирусами, а также ВЭБ. Однако лишь немногим исследователям удавалось выявить последовательности HSV в опухолях человека [Frenkel N. et al., 1972; Roizman B., Frenkel N., 1973]. Сравнительно чаще, хотя и не регулярно, обнаруживались фрагмент(ы) генома HSV (присутствующие лишь в количестве 1—3,5 копий на клетку) в трансформированных инактивированным вирусом клетках. Однако при изучении экспрессии вирусного генома в клетках раковых опухолей шейки матки с помощью гибридизации *in situ* обнаружена вирусспецифическая РНК в 35—67% исследованных опухолей

[McDougall J. et al., 1980; Eglin R., 1981; Maitland N. et al., 1981; McDougall J. et al., 1982]. Эти результаты, по мнению D. Galloway и J. McDougall (1983), могут свидетельствовать либо о существовании каких-то еще других этиологических факторов, либо об утрате во многих случаях вирусных нуклеотидных последовательностей. Между тем РНК-транскрипты, обнаруженные в опухолях, оказались гомологичны последовательностям вирусного генома, участвующим в трансформации клеток *in vitro*. Кроме того, при помощи блот-гибридизации по Саутерну авторы нашли ДНК HSV2 в 3 из 9 исследованных образцов, полученных из раковых опухолей шейки матки в инвазивной стадии.

Эти исследователи обратили внимание на то, что во всех положительных образцах определялись различные, но не постоянные фрагменты генома. На этом основании авторы подвергают сомнению тезис о необходимости присутствия какой-либо определенной последовательности генома HSV2 в клетках опухолей. Однако делать такой вывод пока еще нет основания, поскольку авторы располагали небольшим количеством исследованного материала, а также в связи с данными, полученными в опытах по трансфекции ДНК из раковых опухолей человека [Косякова Н. П., Посевая Т. А., 1980]. В результате этих исследований было показано, что в раковых опухолях женщин часто присутствует участок генома HSV, кодирующий синтез нового, раннего антигена этого вируса. Кроме того, привлекает внимание то обстоятельство, что последовательности (Bgl-II-N и Bgl-II-J), найденные в опухолях D. Galloway и J. McDougall, относятся к районам, способным трансформировать клетки в экспериментальных условиях.

Трансформирующие участки идентифицированы для HSV1 и HSV2. Так, трансформирующий фрагмент HSV1 расположен в пределах координат 0,31—0,42. Известно, что этот район кодирует белок VP143, который обычно определяется в трансформированных HSV клетках и раковых опухолях женской половой сферы.

Для HSV2 найдены два различных участка генома, обладающие трансформирующей активностью. Трансформирующий фрагмент Bgl-II-N (333) локализован между 0,58 и 0,63 единицами карты генома и кодирует ранний белок 35—38 K, который обнаруживается в трансформированных HSV2 клетках хомяка [Suh M. et al., 1980; Suh M., 1982]. D. Galloway и соавт. (1982) не удалось, однако, обнаружить этот белок в трансформированных линиях клеток. Вторым трансформирующим фрагментом HSV2 — Bgl-II-C — расположен в позиции между 0,43 и 0,58 единицами карты. Последовательности этого фрагмента способны вызывать образование долгоживущих линий клеток и сообщать им онкогенные свойства. В трансформированных Bgl-II-C клетках, по-видимому, этот трансформирующий фрагмент сохраняется и, кроме того, регулярно наблюдается экспрессия белка ICP10 (AG-4), ассоциированного с раковыми опухолями человека.

Некоторые районы генома HSV экспрессируются с наиболь-

шей частотой в трансформированных *in vitro* и опухолевых клетках. L. Aurelian и соавт. (1981) показали, что для индукции морфологической трансформации клеток необходима экспрессия ранних функций HSV2. В клетках, трансформированных *in vitro* инактивированным ультрафиолетом вирусом, обычно присутствуют ранние белки — VP143, ICP10 и др.

Доказательством ассоциации HSV2 с раковыми опухолями шейки матки человека может служить определение в клетках опухолей ранних вирусиндуцированных антигенов, тогда как вирусные белки в опухолях обычно обнаруживаются с большими трудностями. Эти антигены появляются на ранних этапах продуктивной инфекции (к 2—4 ч) и синтезируются в отсутствие репликации вирусной ДНК и созревания вирионов. К категории ранних белков, ассоциированных с опухолями, может быть отнесен ряд антигенов — AG-4, NV-TAA, VP143 и новый антиген, описанный П. Н. Косяковым и соавт. (1978). AG-4 относится к наиболее ранним белкам (IE или α -белкам). Он появляется на ранних сроках при продуктивной инфекции и часто обнаруживается в клетках раковых опухолей шейки матки у человека. Как отмечалось выше, этот антиген экспрессируется в клетках, неопластически трансформированных *in vitro* Bgl-II-C-фрагментом. Тем не менее его роль в поддержании трансформации еще не установлена. В реакции иммунофлюоресценции с помощью антисыворотки к VP143. J. Melnick и соавт. (1976) исследовали образцы раковых опухолей шейки матки и нормальные эпителиальные клетки. В 3 из 21 клеточной линии, полученных из карцином в инвазивной стадии, в околоядерной зоне был обнаружен VP143, тогда как вирус не выявили ни в одном из исследованных образцов.

П. Н. Косяковым с сотрудниками (1978—1982) установлено, что HSV1 и HSV2 индуцируют образование общего раннего, очевидно, невирионного нового антигена, который также обнаруживается в раковых опухолях шейки и тела матки, яичников и некоторых других. В опытах по трансфекции было показано, что образцы ДНК из опухолей, положительных на новый антиген, содержат генетическую информацию, кодирующую синтез этого антигена, при этом вирусные антигены определялись лишь в единичных случаях. В то же время ДНК из нормальных тканей шейки матки не индуцировала синтез этого антигена. Был сделан вывод о том, что в некоторых раковых опухолях присутствует участок генома HSV, кодирующий новый опухолеспецифический антиген. Таким образом, обнаружение такого антигена позволило использовать его в качестве маркера, доказывающего присутствие вирусного генома в опухолях человека. Дальнейшее изучение этого антигена позволит установить возможную связь или, напротив, дифференцировать его от других известных вирусиндуцированных антигенов, ассоциированных с опухолями и, кроме того, уточнить его роль в канцерогенезе и иммунологическом надзоре за опухолью.

Другим доказательством в пользу этиологической роли HSV в возникновении опухолей у человека служит обнаружение антител у онкологических больных. При серологических и эпидемиологических исследованиях были обнаружены комплементфиксирующие антитела к опухолеассоциированному AG-4 у больных с раковыми опухолями шейки матки. Показано, что антитела к AG-4 относятся к IgM (19S), на основании чего они отличаются от нейтрализующих антител, направленных к вирусу. Анти-AG-4 не реагируют с интактными вирионами HSV2 (штамм G) [Augerlian L. et al., 1976].

Отмечена иммунологическая реактивность сывороток крови лиц с карциномами головы и шеи и раковыми опухолями половых органов с опухолеассоциированным невирионным антигеном — NV-TAA [Sabin A., Tarro G., 1973]. С помощью твердофазового радиоиммунологического метода J. Melnick и соавт. (1976) обнаружили антитела к VP 143 у женщин с карциномой шейки матки.

В последнее время приобрела популярность гипотеза, предполагающая «hit-and-run» механизм трансформации, опосредованной HSV. Согласно этой гипотезе, HSV инициирует трансформацию, но не участвует в поддержании трансформированного состояния. В качестве подтверждения этой гипотезы приводятся факты, свидетельствующие о том, что в трансформированных *in vitro* клетках и тканях раковых опухолей шейки матки не всегда удается обнаружить постоянный набор нуклеотидных последовательностей HSV и экспрессию антигена, необходимого, очевидно, для поддержания трансформированного фенотипа. Так, в клетках, трансформированных *in vitro* специфическими трансформирующими фрагментами, непостоянно обнаруживались вирусные последовательности, использовавшиеся для индукции трансформации [Galloway D. et al., 1982]. Оказались безуспешными попытки определить нуклеотидные последовательности в клетках, трансформированных Bgl-II-J-фрагментом HSV1. Последовательности трансформирующего участка длиной в 2,1 килобазы Bgl-II-N-фрагмента, кодирующие белок 35—38 K, не были найдены в клетках, трансформированных этим фрагментом.

Развиваемая D. Galloway и J. McDougall гипотеза «hit-and-run» не согласуется с результатами иммунологических исследований. В трансформированных вирусом и опухолевых клетках постоянно обнаруживаются антигены, специфичность которых определяется вирусом. Более того, в трансформированных HSV клетках и некоторых опухолях человека содержится генетическая информация, кодирующая синтез нового антигена [Косякова Н. П., Посевая Т. А., 1980].

Закономерный интерес вызывает изучение клеточных онкогенов (с-онс), которые, являясь, по-видимому, нормальными генами, участвующими в процессах клеточного роста и дифференцировки, могут быть аномально активированы, что, возможно, и обуславливает их участие в онкогенезе.

Предполагают существование различных механизмов активации с-опс. В настоящее время наибольшей популярностью пользуется гипотеза возникновения опухолей, объясняющая активацию с-опс транспозицией ДНК.

В одних системах отмечена интеграция вирусного промотора вблизи с-опс, в других — локализация с-опс в районе опухоле-специфических транслокаций. Так, оказалось, что хромосомные транслокации типичны для клеток многих опухолей, в частности, лимфомы Беркитта $t(8; 14)$ $t(8; 2)$ $t(8; 22)$. Установлено, что в дистальном участке донорской хромосомы 8 расположен с-тус. Кроме того, стало известно, что реципиентная хромосома 14 несет иммуноглобулиновые гены тяжелых цепей, а хромосомы 2 и 22 — гены χ и λ соответственно. На этом основании заключили, что с-тус активируется в результате транспозиции, попадая под влияние функционально активного Ig-локуса [Klein G., Lenoir G., 1982; Klein G., 1983]. Однако участие ВЭБ в возникновении хромосомных перестроек не доказано. Тем не менее такая возможность не исключается для других вирусов (ALV, HSV). Допускают, что HSV способен индуцировать с-опс либо при помощи вирускодируемого белка, который «запускает» экспрессию с-опс, либо путем встраивания рядом с клеточным онкогеном вирусных промоторных последовательностей, которые активируют экспрессию с-опс в трансформированных и опухолевых клетках. Кроме того, получила также признание гипотеза, объясняющая туморогенный потенциал HSV с точки зрения их мутагенной активности. В этом случае трансформация рассматривается как результат активной рекомбинации вирусных последовательностей с ДНК клетки. Также в плане мутагенных свойств вирусов решающая роль может принадлежать вирускодируемым ферментам (ДНК полимеразе, тимидинкиназе, щелочной экзонуклеазе и др.).

Не исключено, что механизм онкогенеза носит многоступенчатый характер, когда поэтапно «включаются» вирусные и клеточные онкогены. Однако тот или иной ответ на вопрос о патогенетических механизмах канцерогенеза не умаляет важности проблемы изучения роли ряда вирусов в происхождении некоторых опухолей человека. Независимо от решения вопроса о механизме реализации онкогенных потенций HSV, ВЭБ ассоциированные с опухолями вирусиндуцированные антигены не утрачивают своего значения для решения теоретических и практических вопросов онкологии. Особое внимание должно быть сосредоточено на изучении ранних вирусных функций, которые, как было показано, участвуют в инициации трансформации, а также вызывают хромосомные нарушения [O'Neill F., Rapp F., 1971; Aurelian L., et al., 1981]. Кроме того, некоторые из ранних антигенов могут иметь значение в противоопухолевом иммунитете. Вирусиндуцированные антигены, расположенные на клеточной поверхности, являются мишенью для иммунологических реакций организма хозяина, способных вызвать элиминацию клеток опухоли.

Накапливаются факты, свидетельствующие об ассоциации ретровирусов D с некоторыми злокачественными новообразованиями человека. В раковых опухолях молочных желез у 20% обследованных женщин был найден индуцированный этим вирусом антиген, который отсутствовал в нормальных тканях. Более того, в опытах по трансфекции доказано, что специфичность антигена, обнаруживаемого в некоторых опухолях человека, определяется геномом ретровируса D. Большой интерес вызвали работы R. Gallo и соавт. (1980—1983), J. Hinuma и соавт. (1982) по обнаружению вируса, ассоциированного с Т-клеточными формами лимфом и лейкозов человека (HTLV). Этот вирус отличается от известных ретровирусов птиц и животных, за исключением некоторого сходства с вирусом лейкоза крупного рогатого скота. Установлено, что HTLV может трансформировать лимфоциты *in vitro*. В сыворотке крови больных с Т-клеточными лимфомами найдены антитела, реагирующие с р24 HTLV. Антитела были выявлены также и у близких (некровных) родственников этих больных, что может указывать на горизонтальную передачу возбудителя, тогда как в сыворотках крови здоровых людей антитела к р24 не обнаружены [Kalyanaraman V. et al., 1981]. Японские исследователи сообщили о существовании гуморального иммунного ответа на р24 HTLV и у здоровых лиц, находившихся в тесном контакте с больными Т-клеточным лейкозом. Этот факт свидетельствует о широком распространении вируса в человеческой популяции в некоторых эндемичных по этому заболеванию регионах. Связь HTLV с лейкозами и лимфомами человека продолжает оставаться в центре внимания исследователей.

Вirusиндуцированные антигены имеют большое значение для специфической диагностики, профилактики и терапии злокачественных новообразований. Использование опухолеспецифических вирусиндуцированных, а также опухолеассоциированных эмбриональных антигенов (РЭА, АФП) в целях диагностики таких заболеваний человека уже получило распространение в практике медицины. Применение современных высокочувствительных и специфических методов исследования, в частности, радиоиммунологического и иммуноферментного, позволяет определять чрезвычайно малые количества антигенных маркеров в тканях и сыворотке крови. Эти методы приобретают большое значение для ранней диагностики рака. Кроме того, их применение для обнаружения антител к вирусиндуцированным антигенам повышает эффективность комплексного обследования больных. Довольно широко используются тесты на РЭА и АФП. Тест на РЭА применяют для диагностики некоторых злокачественных новообразований человека, преимущественно аденокарцином органов пищеварительного тракта, а тест на АФП — для диагностики первичного рака печени и тератоканцином яичка и яичников. Ввиду того что опухоле-эмбриональные антигены, в частности РЭА, могут присутствовать и в норме, и при некоторых неопухолевых заболеваниях (например, воспалительных и репаративных состояниях), при злокаче-

венных процессах следует учитывать возрастание количества антигена до цифр, которые могут рассматриваться как диагностические. Опухольэмбриональные антигены могут быть весьма полезны для диагностики рака среди больших групп населения с повышенным риском заболевания, для дифференциации злокачественных и доброкачественных опухолей, наблюдения за течением болезни и эффективностью терапии, выявления метастазов.

Антигены, локализованные на поверхности лейкоцитов, широко используются для идентификации субпопуляций этих клеток, характеризующих различные формы гемобластоза. Маркерами Т-клеток могут служить антигены Huly-1, HTLA-1, HTA-1, Thy-1,2; JRA, OKT-1,4, а для В-клеток — HBLA. Для идентификации лейкоцитов широко применяют и другие дифференцировочные рецепторы.

Иммунопрофилактика и иммуногерация злокачественных новообразований человека базируются на данных экспериментальных исследований. Трудности в этой области заключаются в том, что не расшифрованы этиологические факторы и патогенетические механизмы онкогенеза у человека. При этом очевидна необходимость продолжения дальнейших исследований с использованием экспериментальных моделей. Конечный результат взаимоотношений организма хозяина с опухолью вирусной природы в определенной мере может зависеть от иммунного ответа на вирусные и вирусиндуцированные опухолеспецифические антигены.

Принципиально возможна, по-видимому, профилактическая активная иммунизация против новообразований человека при помощи препаратов вирусных или вирусиндуцированных белков. Однако такой подход остается пока еще недостаточно разработанным, поскольку не доказан этиологический характер ассоциации некоторых опухолей с вирусами, участие которых в возникновении опухолей «подозревается».

Не исключена, однако, возможность положительного эффекта вакцинации вирусом простого герпеса для предупреждения возникновения раковых опухолей шейки матки. Этот метод получил распространение в опытах на животных, у которых иммунизация онкогенным вирусом в отдельных случаях создает эффективную противоопухолевую защиту. Так, успешно осуществляется вакцинация против герпесвируса болезни Марека. Предложены разнообразные варианты вакцин против ретровирусов лейкозов и сарком кошек, а также крупного рогатого скота. Для этого используют инаktivированные вирусы или отдельные структурные белковые компоненты вирионов. Достигнуты определенные успехи по созданию вакцины против горизонтально передающегося ретровируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС). Эти вакцины «строятся» на основе внутренних белков и гликопротеида вирусной оболочки gp71. Ретровирус лейкоза кошек (FeLV), вызывающий лейкоз и лимфосаркомы у этих животных, так же как и ВЛКРС, передается горизонтально. Представляет интерес изучение взаимоотношений этого вируса с организмом опухоленосителя,

несколько FeLV-индуцированные лимфосаркомы могут служить удобной экспериментальной моделью опухолей подобного типа у человека, тем более, что уже известен ретровирус типа C, ассоциированный с Т-клеточным лейкозом и лимфомами человека. Для иммунопрофилактики лейкоза кошек была предложена протективная вакцина, состоящая из вирусных антигенов (p27, p12 и p15, gp70), а также мембранного антигена опухолевых клеток — FOCMA [Mathes L. et al., 1980].

Иммунные реакции организма на опухоль направлены не только против самого вируса, но и на антигены наружных мембран опухолевых клеток, индуцированных вирусом (например, LYDMA в системе ВЭБ, FOCMA в системе FeLV). Поскольку в лимфосаркомах, индуцированных FeLV, вирус часто не образуется («вирус-негативные опухоли»), но экспрессируется FOCMA, то оправдана активная иммунизация с использованием в качестве вакцины препарата, содержащего FOCMA. Препарат вирусиндуцированного антигена подобного рода может применяться для вакцинации коров против лейкоза, вызываемого ретровирусом лейкоза крупного рогатого скота.

Менее изученным представляется вопрос о возможности и эффективности активной иммунизации против «спонтанных» новообразований человека. В качестве вакцин использовались аутологичные, сингенные или аллогенные опухолевые клетки, инактивированные тем или иным способом (облучение, обработка формалином, нейраминидазой и др.), а также экстракты из опухолей и очищенные антигены мембраны опухолевой клетки. Применение аутологичных вакцин из клеток саркомы в сочетании с вакциной БЦЖ для лечения сарком человека в отдельных случаях приводило к быстрому увеличению количества цитолитических и комплементсвязывающих антител, направленных к общему поверхностному антигену саркоматозных клеток человека. Однако стойкого улучшения клинического состояния достигнуть не удалось [Wood W., Morton D., 1971]. Из 17 пациентов с остеосаркомой, иммунизированных аллогенными опухолевыми клетками и вакциной БЦЖ в послеоперационном периоде, трое больных прожили в течение 3 лет, тогда как ни один из 12 неиммунизированных больных не дожил до этого срока [Townsend C., Eilber F., 1975].

Попытками преодолеть пониженную иммунологическую реактивность организма на антигены многих спонтанных опухолей являются эксперименты по модификации опухолевых антигенов, соединению их с хорошо распознаваемыми иммунокомпетентными клетками антигенами. В частности, было предложено повышать иммуногенные свойства слабоантигенных опухолевых клеток путем заражения их неонкогенными вирусами («вирусная гетерогенизация») [Свет-Молдавский Г. Я. и др., 1970].

Можно предполагать, что создание противоопухолевых вакцин с использованием синтетических носителей, способных повышать иммунные потенции опухолевых антигенов, откроет возможность

специфической профилактики опухолей и в особенности предупреждения возникновения метастазов в послеоперационном периоде [Петров Р. В. и др., 1982].

Установлено, что главную функцию в противоопухолевой защите организма выполняют клеточные факторы. На этом основании адоптивный перенос сенсibilизированных лимфоцитов можно считать теоретически обоснованным методом иммунотерапии, однако практические результаты в этой области пока недостаточны. Адоптивный перенос лимфоцитов ограничивается преимущественно сферой экспериментальных исследований. Адоптивная иммунизация может быть осуществлена либо при помощи передачи аутологичных лимфоцитов, взятых на стадии ремиссии, либо сенсibilизированных аллогенных лимфоцитов доноров, которые были иммунизированы инактивированными клетками опухоли больного, либо лимфоцитов онкологических больных, находящихся в стадии ремиссии.

В опытах на мышях линии АКР с трансплантированным лейкозом было показано, что введение животным иммунных аллогенных клеток селезенки наряду с химиотерапией давало положительный терапевтический эффект [Putman D. et al., 1978]. Однако внутривенное или внутрибрюшинное введение реципиенту аллогенных живых иммунокомпетентных лимфоцитов, взятых от иммунного донора, может вызвать клеточную иммунную реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Использование в адоптивной иммунотерапии вместо живых лимфоцитов медиаторов клеточного иммунитета или лимфокинов (фактор переноса, лимфотоксин и др.) позволит избежать РТПХ. Фактор переноса освобождается иммунными лимфоцитами после контакта со специфическим антигеном. Его обычно получают от доноров с регрессировавшими новообразованиями и от здоровых лиц, которые могли приобрести иммунологическую реактивность к клеткам опухолей в результате тесного контакта с опухоленосителями. Фактор переноса при введении его реципиентам-опухоленосителям вызывает увеличение популяции иммунных лимфоцитов, индуцирует образование MIF. При этом фактор переноса действует в качестве инициатора, стимулирующего образование иммунных лимфоцитов из нормальных клеток реципиента, в то время как MIF функционирует как эффектор.

Нельзя недооценивать значения и гуморальных факторов в противоопухолевом иммунитете. Установлено, что течение злокачественного процесса у кошек, зараженных FeLV или FeSV, определяется гуморальным иммунным ответом на FOCMA. Отмечена прямая связь между тяжестью опухолевого процесса и титрами антител к FOCMA, который экспрессировался на клетках меланомы глаз у котят, экспериментально инфицированных FeSV. В сыворотках 7 из 8 животных с непрогрессировавшими опухолями были найдены анти-FOCMA, которые отсутствовали у животных с прогрессирующей формой болезни. На этом основании J. Niederkorn и соавт. (1980) заключили, что антитела к FOCMA

могут «защитить» кошек от возникновения опухолей, индуцированных FeSV.

Пассивная иммунотерапия при помощи специфических антител к FOCMA была применена при диссеминированной форме фибросаркомы, индуцированной FeSV, а также при лимфосаркомах у кошек. F. De Noronha и соавт. (1980) наблюдали полную регрессию FeSV-индуцированных фибросарком в 11 из 21 случая в результате пассивного введения анти-FOCMA-антител, которые были эффективны даже спустя 2 нед после инфицирования животных FeSV. Полагают, что в этих случаях регрессия опухолей была обусловлена цитолитическими антителами, роль которых еще недостаточно хорошо изучена. W. Hardy и соавт. (1980) также придерживаются мнения о том, что антитела к FOCMA могут служить средством специфической иммунотерапии лимфосарком кошек. По данным S. Cotter и соавт. (1980), пассивная иммунотерапия кошек с лимфомами средостения с помощью сывороток, содержащих антитела к FOCMA (в комбинации с химиотерапией), приводила к увеличению выживаемости и средней продолжительности ремиссий.

Получение моноклональных антител открыло возможность использования их для специфической диагностики, профилактики и терапии злокачественных новообразований и прежде всего лейкозов. J. Ritz и соавт. (1981) получили моноклональные антитела, которые давали положительную реакцию иммунофлюоресценции (непрямой тест) с лимфобластами, полученными от больных острым лимфобластозным лейкозом. Эти антитела не реагировали с нормальными клетками: мононуклеарами периферической крови, очищенными Т- и В-клетками, моноцитами, гранулоцитами, тромбоцитами, тимоцитами, клетками селезенки и костного мозга. Не было отмечено реакции и с клетками человеческого эмбриона. В микроцитотоксическом тесте с освобождением ^{51}Cr было показано, что мышиные моноклональные антитела в присутствии кроличьего комплемента дают лизис лимфобластов больных острым лимфобластозным лейкозом. Моноклональные антитела использовали и для серотерапии: их введение приводило к снижению уровня циркулирующих лимфобластов на 90% в течение часа. Однако несмотря на повторное введение моноклональных антител, лимфобласты продолжали персистировать в периферической крови и костном мозге. Резистентность некоторых лейкозных клеток к действию этих антител связана, по мнению авторов, с изменением поверхностных антигенов клеток-мишеней, что и ограничивает эффект серотерапии. Не исключено, однако, что активность ксеногенных моноклональных иммуноглобулинов подавляют и антитела, возникающие у реципиента.

Для топодиагностики солидных опухолей и их метастазов весьма перспективным может быть использование моноклональных антител, маркированных радиоактивными изотопами (радиоиммунолокализация). Моноклональные антитела, соединенные с изотопной меткой (например ^{131}I) или с токсинами и различными

химиопрепаратами, открывают возможность использовать их в качестве «транспортного» средства, обеспечивающего избирательную доставку их к опухоли. Т. Bumol и O. Wang (1983) получили конъюгат дифтерийного токсина с моноклональными антителами к одному из поверхностных антигенов клеток человеческой меланомы. Оказалось, что при введении этого конъюгата бестимусным мышам у животных подавлялся рост трансплантированных клеток меланомы. Однако добиться полной регрессии опухоли не удалось, хотя в опытах наблюдались как цитотоксический эффект, так и ингибция синтеза протеинов клетками меланомы.

В настоящее время неспецифическая иммуностимуляция остается реальным и относительно эффективным способом иммунотерапии злокачественных новообразований человека. В комбинации с другими видами лечения этот метод способствует улучшению течения острого миелоидного лейкоза, злокачественной меланомы и других онкологических заболеваний.

Из неспецифических методов стимуляции наиболее широко применяются вакцина БЦЖ, *Corinebacterium parvum* и некоторые другие бактериальные вакцины, механизм противоопухолевого действия которых заключается в стимуляции клеточных и, возможно, гуморальных факторов иммунитета. По-видимому, за счет выделения сенсibilизированными лимфоцитами неспецифического МАФ БЦЖ активирует макрофаги. В случае злокачественной меланомы эффективность БЦЖ, возможно, не ограничивается лишь неспецифической иммуностимуляцией, поскольку было отмечено, что клетки меланомы и БЦЖ содержат общий антиген клеточной поверхности. Иммунизация БЦЖ в таком случае может рассматриваться также как средство специфической противоопухолевой защиты. Для иммуностимуляции могут быть использованы как живые бактерии БЦЖ, их продукты, так и убитые вакцины, эндотоксин, которые обычно вводят *per os*, путем скарификации, непосредственно в опухоль и другими способами. У больных острым миелолейкозом в результате химио- и иммунотерапии БЦЖ повторные ремиссии отмечались чаще, чем у больных, получавших только химиотерапевтические препараты [Galton D. et al., 1977; Harris R., Zuhrie S., 1977]. R. Crispin и S. Rosenthal (1976) проанализировали смертность от лейкоза и других злокачественных заболеваний в период 1957—1969 гг. у 85 356 людей, вакцинированных в детстве БЦЖ, и 534 870 невакцинированных лиц. Оказалось, что смертность в первой группе составила 1,17, а во второй группе — 4,39 на 100 000 человек. Исходя из этих данных, авторы рекомендуют проводить повторные ревакцинации БЦЖ с интервалом 1—2 года.

Неспецифическая иммуностимуляция бактериальными токсинами из *Streptococcus piogenes* и *Serratia marcescens*, вводимыми непосредственно в опухоль, применяется при различных формах злокачественных лимфом. Наряду с бактериальными препаратами используют химические иммуностимуляторы, повышающие реак-

тивность лимфоцитов и макрофагов, способствующие созреванию Т-лимфоцитов из клеток-предшественников, и др.

Иммунология внесла большой вклад в решение многих теоретических проблем злокачественного роста. Однако использование иммунологических факторов и механизмов в практике борьбы с опухолями пока еще не дало желаемых результатов. Имеются, однако, основания полагать, что дальнейшее совершенствование иммунологических методов изучения специфических для опухолей антигенов и иммунного ответа на них организма откроют возможность более эффективно решать проблему специфической диагностики, профилактики и терапии злокачественных новообразований человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммунология представила огромный экспериментальный материал, свидетельствующий о том, что клетки злокачественных опухолей содержат специфические для них антигены. Причиной трудности в дифференцировке опухолевых и нормальных клеток, как известно, в настоящее время является весьма сложный комплекс общих для опухолевых и нормальных клеток генетически детерминируемых антигенов. Сюда относятся антигены, определяющие видовую специфичность, антигены гистосовместимости системы HLA, групповые антигены многих систем и другие, идентичные для нормальных и опухолевых клеток человека. Доказать серологически наличие в этой общей массе антигенов веществ, определяющих специфичность раковых клеток, не всегда удается еще и потому, что опухолевые антигены составляют незначительную часть комплекса клеточных антигенов.

Наличие специфических антигенов в клетках опухолей, индуцированных вирусами, сомнений не вызывает, поскольку доказана роль ряда вирусов в возникновении и развитии злокачественных новообразований. Имеются доказательства тому, что существует ассоциация отдельных вирусов (паповавирусов человека, ВЭБ, HSV1 и HSV2, HTLV, ретровирус D и др.) с онкологическими процессами у человека.

Представители семейства герпесвирусов в наибольшей степени могут считаться причастными к возникновению злокачественных опухолей человека.

Большой интерес вызвало открытие нового вируса, обозначенного HTLV-1 — онкогенного ретровируса С-типа, вызывающего Т-клеточные лейкозы и лимфомы у человека (злокачественные процессы OKT4+Т клеток) [Poiesz B. et al., 1980; Hinuma J. et al., 1981]. В отличие от В-тропного ВЭБ HTLV-1 обладает способностью трансформировать нормальные Т-клетки. Еще более проблематична связь вируса HTLV-3/LAV, открытого в лабораториях L. Montagnier и R. Gallo [Barré-Sinoussi F. et al., 1983; Gallo R. et al., 1984; Popovic M. et al., 1984] с опухолевыми процессами (саркома Капоши). HTLV-3/LAV рассматривается в качестве предполагаемого возбудителя редко встречающегося заболевания, так называемого AIDS-приобретенного иммунодефицитного синдрома. Этот вирус обладает инфекционными, иммунодепрессивными (угнетает клеточный иммунитет) и онкогенными (саркома Капоши) свойствами.

Вирусиндуцированные антигены отражают факт присутствия в клетке вирусного генома и могут быть использованы для доказательства возможной вирусной природы опухолей животных и человека. Присутствие вирусиндуцированных антигенов в транс-

блюдается большая индивидуальность антигенных свойств, опухоли, индуцированные одним и тем же вирусом вне зависимости от их локализации, обладают единым специфическим антигеном, в связи с чем и открывается возможность применения более универсальных препаратов иммунотоксичных, действующих на многие опухоли одной и той же вирусной природы.

Однако вопрос о существовании специфических антигенов в человеческих опухолях спонтанного происхождения не получил еще согласного ответа, особенно в отношении иммуногенности опухоли для самого больного. Применение чувствительных методов иммунологического анализа и в особенности использование моноклональных антител позволило подтвердить установленный ранее при помощи поликлональных антител факт наличия в опухолевых клетках человека антигенов, отсутствующих в нормальных клетках. Об этом свидетельствуют также и работы последних лет,

L. Papsidero, G. Croghan и соавт. (1983) сообщили о получении моноклональных антител к двум различным линиям: MCF-7 и SKBR-3 клеток рака молочных желез человека.

Опыты показали, что специфичность моноклональных антител, полученных по отношению к двум различным линиям клеток рака молочных желез была неодинакова. Моноклональные антитела M7/105 связывались максимально (на 100%) антигенами клеток, взятых для иммунизации, в то время как с двумя другими линиями, MCF-7 и BT-20 раковых клеток молочных желез, они реагировали только соответственно на 2 и 5%. Наоборот, моноклональные антитела F36/22 реагировали с этими двумя линиями клеток на 99—100%. Гибридомные антитела были относительно специфичны. После адсорбции их фибробластами, лимфобластоидными клетками и эритроцитами они не утрачивали способности реагировать с антигенами клеток рака молочных желез. Гибридомные антитела реагировали также в небольшой степени и с клетками рака толстой кишки и поджелудочной железы, а антитела одного из моноклонов в иммунопероксидазном тесте открывали эпитопы и на нормальных клетках, и клетках доброкачественных опухолей молочных желез.

Таким образом, применение моноклональных антител представило новое подтверждение установленного ранее при помощи поликлональных антител факта существования опухолей со сходными и качественно различными специфическими антигенами вне зависимости от локализации карцином. На основании проведенных исследований авторы пришли к выводу, что существование опухолей со сходными и качественно отличными антигенами затрудняет использование моноклональных антител в диагностических и терапевтических целях, а также в качестве вектора для доставки химиопрепаратов к опухолевым клеткам.

Моноклональные антитела хорошо реагируют с антигенами аутологической опухоли. В реакции с другими же опухолями моноклональные антитела будут эффективны лишь постольку, поскольку они будут соответствовать специфическим антигенным

детерминантам опухолевых клеток. В этом отношении более перспективно применение моноклональных антител в целях диагностики и терапии опухолей вирусной этиологии.

Об антигенной неоднородности меланом сообщили I. Hellström и J. Garrigue (1983). Моноклональные антитела, полученные от двух гибридом «48.7» и «96.5», реагировали (иммунопероксидазный тест) с 9 образцами меланом из 25 исследованных, 7 окрашивались только антителами «48.7» и 6 — только моноклональными антителами «96.5». Три меланомы ни с одним из двух типов моноклональных антител не реагировали. Антигенную неоднородность меланом отметили и P. Natali и соавт. (1983). Они показали, что образцы, полученные от одного и того же пациента (первичная опухоль и ее метастазы), могут значительно отличаться по их способности реагировать с набором моноклональных антител (применялась реакция иммунофлюоресценции). Авторы считают, что комбинация моноклональных антител по отношению к антигенам, ассоциированным с меланомой, даст больший эффект, чем антитела, полученные только от одной гибридомы. Аналогичный феномен описали C. Thompson и S. Jones (1983). В результате иммунизации мыши линией клеток рака толстой кишки авторы получили клоны, которые продуцировали различные по своей специфичности моноклональные антитела. Антитела одних гибридом реагировали только с опухолевыми клетками, взятыми для иммунизации, другие же моноклональные антитела реагировали, кроме того, и с клетками рака молочных желез и почки.

Об антигенных различиях раковых опухолей молочных желез человека сообщили также P. Hand и соавт. (1983), которые использовали моноклональные антитела, полученные по отношению к метастазам опухолей в печень. При помощи иммунопероксидазного теста было обследовано 39 первичных карцином молочных желез и показано наличие в них целого спектра тумороассоциированных антигенов. Моноклональные антитела четырех гибридом реагировали с 13% опухолей, в то время как 10% карцином давали отрицательную реакцию. Остальные 30 опухолей подразделялись на несколько подгрупп: одни реагировали с некоторыми моноклональными антителами, другие — нет. Моноклональные антитела привлекают к себе большое внимание не только тем, что они могут быть использованы для идентификации антигенов бактерий, вирусов, нормальных и опухолевых клеток, но и тем, что их можно применить в целях профилактики и терапии злокачественных новообразований.

C. Bumol и Q. Wang (1983) сообщили о возможности подавления роста клеток человеческой меланомы у бестимусных мышей при помощи моноклональных антител. Опыты показали, что моноклональные антитела, как сами по себе, так и в конъюгации с дифтерийным токсином, давали серологическую реакцию с клетками меланомы. Однако только конъюгированные с дифтерийным токсином моноклональные антитела могли *in vitro* постоянно ингибировать синтез протеина клетками культуры меланомы и оказывать

цитотоксическое действие. В опытах же *in vivo* моноклональные антитела, как сами по себе, так и конъюгированные с дифтерийным токсином, оказывали одинаковое действие — они ингибировали в значительной степени рост клеток человеческой меланомы, введенной бестимусным мышам. На основании этих данных авторы пришли к заключению о том, что в организме в отличие от клеток культуры существуют механизмы, помогающие моноклональным антителам подавлять рост клеток меланомы. Вместе с тем опыты показали, что моноклональные антитела, в том числе и конъюгированные с дифтерийным токсином, не приводили к полной регрессии опухолей у бестимусных мышей.

Моноклональные антитела, меченные радиоактивным йодом, были использованы [Colcher D., Zalutsky M., 1983] для определения локализации человеческих опухолевых (рак молочных желез) клеток, трансплантированных бестимусным мышам. Опыты показали возможность обнаружения опухолевого трансплантата размером, меньшем, чем 0,4 см. Лучшие результаты были получены через 4 дня после введения мышам опухолевых клеток. В растущих опухолях находилось больше антигенов на поверхности клеток. Для локализации антител, как полагают авторы, имеют значение степень васкуляризации опухоли, различия в экспрессии антигенов и их гетерогенность, а также специфичность моноклональных антител. Моноклональные антитела «B6.2», которыми пользовались авторы, реагировали с 75% первичных раков молочных желез и их метастазов, в то время как 25% опухолей той же локализации не реагировали, т. е., очевидно, обладали другой антигенной специфичностью. Антитела не связывались с нераковыми клетками, но реагировали с циркулирующими полиморфноядерными лейкоцитами. С клетками нормальных лимфатических узлов моноклональные антитела «B6.2» не реагировали. На основании этого авторы высказали предположение о возможности использования меченых моноклональных антител для выявления метастазов, а также для контроля за лечением.

Таким образом, исследования, проведенные с помощью как поликлональных, так и моноклональных антител, позволили дать положительный ответ на вопрос о существовании в клетках раковых опухолей человека специфических антигенов.

Вторым важным результатом этих исследований является факт неодинаковой антигенной специфичности раковых опухолей человека, что было отмечено еще в 1957 г. [В. С. Коростелева, П. Н. Косяков]. За исключением опухолей, ассоциированных с вирусами, единого специфического для всех опухолей человека антигена не существует. Опухоли одних лиц вне зависимости от локализации и структуры карцином могут содержать сходные специфические антигены, опухоли же других — иметь антигены, качественно отличающиеся. Антигенное сходство и различие не зависят от локализации спонтанных опухолей, их гистологической структуры и групповой принадлежности по системе АВ0 (Н).

Наличие в опухолях специфических антигенов, отличающихся

от антигенов нормальных клеток, не свидетельствует еще об иммуногенности опухолей для организма-носителя опухоли. Нередко полагают, что появление в организме нового опухолевого антигена автоматически включает функцию иммунокомпетентных клеток направленную на элиминацию этого антигена, а вместе с ним и опухолевой клетки. Однако, как показывают исследования, специфический иммунный ответ на появление опухоли у человека не всегда имеет место. Он постоянно наблюдается в отношении опухолей, индуцированных вирусами, например, ВЭБ, HSV. Антитела, ассоциированные с вирусом простого герпеса, были обнаружены [Косяков П. Н., Посева Т. А. и др., 1984] в сыворотках хомяков-носителей опухолей, возникших в результате инокуляции животным трансформированных HSV1 клеток хомяка. Сыворотки хомяков-носителей, взятые в сравнительно ранние (через 12 дней) сроки появления опухоли, давали слабую реакцию в РСК и РИА с вирусиндуцированным и опухолевым антигеном. Через 30 дней после появления опухоли серологическая активность повышалась, а через 60 дней, когда опухоль достигала больших размеров, титр антител значительно падал, и в сыворотке обнаруживались комплексы антиген—антитело.

При опухолях спонтанного происхождения в отличие от опухолей, индуцированных вирусами, обнаружить антитела к антигенам собственных опухолей, как правило, удается редко даже при использовании современных чувствительных методов исследования.

По-видимому, во многих случаях спонтанного рака человека, антитела к содержащемуся в опухолевых клетках антигену не образуются. Причины относительной ареактивности клеток В в отношении антигенов собственной опухоли остаются неизученными. Известно, однако, что иммунокомпетентные клетки животных (кроликов, мышей и др.) хорошо реагируют продукцией антител на ксеногенные для них специфические антигены опухолей человека.

Отсутствие специфической иммунной реакции на антигены собственной опухоли, что часто наблюдается при неоплазиях спонтанного (невирусного) происхождения, снижает уровень активной защиты организма от развивающейся бластомы. В этих условиях продолжают, однако, функционировать неспецифические факторы иммунитета: макрофаги, естественные киллеры (NK), механизмы аллогенной ингибиции.

В книге представлен большой фактический материал, свидетельствующий о наличии в опухолевых клетках человека антигенов, сходных с антигенами нормальных клеток, и антигенов, специфичных для опухолей, которые и составляют основу специфического противоопухолевого иммунитета. Поднятые в связи с этим некоторые теоретические вопросы представляются дискуссионными и нуждаются в дальнейшем их фактическом обосновании,

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- (Абелев Г. И.) *Abelev G. I.* Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors. — *Adv. Cancer Res.*, 1971, vol. 14, p. 295—358.
- Абелев Г. И., Цветков В. С., Бирюлина Т. И. и др. Оценка применения высокочувствительных методов определения α -фетопротеина для диагностики гепатоцеллюлярного рака и тератобластом. — *Бюлл. exper. биол.*, 1971, № 4, с. 75—81.
- Авдеев Г. И., Гош Т. Е. Изучение некоторых антигенов рака желудка человека. — *Вопр. онкол.*, 1967, 13, 4, с. 32.
- Агеев А. И. Механизмы вирусного онкогенеза. — М.: Медицина, 1978. — 383 с.
- Бердинских М. С., Павлюченкова Р. П., Киселева А. С. и др. Антиген Томсена в нормальных тканях и опухолях человека. — *Бюлл. exper. биол.*, 1983, № 3, с. 59—61.
- Быковская С. Н., Грунтенко Е. В. Т-лимфоциты в противоопухолевом иммунитете. — Новосибирск: Наука, 1982. — 270 с.
- Быковский А. Ф., Клицупова Н. В., Миллер Г. Г. и др. Онкогенные вирусы: Атлас. — М.: Медицина, 1983. — 223 с.
- Городилова В. В., Малышева С. Ф. Изучение антигенной структуры сарком человека методом преципитации в агаре. — *Вопр. онкол.*, 1970, т. 16, № 8, с. 48.
- Дейчман Г. И. Современные концепции иммунологических взаимоотношений опухоли и организма. — В кн.: Опухолевый рост как проблема биологии развития. — М.: Наука, 1979, с. 208—230.
- Дейчман Г. И., Ключарева Т. Е., Кашкина Л. М. и др. Изучение связи между злокачественной трансформацией клеток *in vitro* и экспрессией на клеточной мембране TSTA (SV40). — В кн.: Вирусы рака и лейкоза. — М., 1978, с. 152—153.
- Жданов В. М., Мазуренко Н. Н., Букринская А. Г. и др. Интеграция и экспрессия генома онкорнавирусов типа D в перевиваемых клетках. — *Вопр. онкол.*, 1975, т. 21, № 8, с. 64—68.
- Жданов В. М., Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. и др. Выделение лейковируса из культуры клеток человеческого происхождения. — *Вопр. вирусол.*, 1972, № 4, с. 419—427.
- Зильбер Л. А. Вирусогенетическая теория возникновения опухолей. — М.: Наука, 1968. — 286 с.
- Зильбер Л. А., Ирлин И. С., Киселев Ф. Л. Эволюция вирусогенетической теории возникновения опухолей. — М.: Наука, 1975. — 344 с.
- Зотиков Е. А. Антигенные системы человека и гомеостаз. — М.: Наука, 1982. — 236 с.
- Ильин К. В., Быковский А. Ф., Жданов В. М. Онкорнавирус типа В из клеток карциномы гортани человека. — *Вопр. вирусол.*, 1972, № 4, с. 494—499.
- Ключарева Т. Е., Дейчман Г. И. Растворимые трансплантационные и видовоспецифические антигены, слущивающиеся с поверхности опухолевых клеток. — *Вест. АМН СССР*, 1978, № 2, с. 59—63.
- Коростелева В. С., Косяков П. Н. Существует ли единый антиген, специфичный для всех раковых опухолей человека. — *Бюлл. exper. биол.*, 1957, № 4, с. 83—87.
- Коростелева В. С., Павлюченкова Р. П., Косякова Н. П. и др. Новые антигены в перевиваемых клеточных линиях и опухолях человека. — *Вопр. вирусол.*, 1974, № 6, с. 708—712.
- Косяков П. Н. Изоантигены и изоантитела человека в норме и патологии. — М.: Медицина, 1974. — 360 с.
- Косяков П. Н., Павлюченкова Р. П., Кулакова А. М., Косякова Н. П. Антиген, индуцированный ретровирусом D, в опухолях человека. — *Вопр. вирусол.*, 1981, № 3, с. 324—327.

- Косяков П. Н., Посевая Т. А., Косякова Н. П., Баринский И. Ф. Вирусиндуцированный антиген в клетках, инфицированных вирусом обычного герпеса. — *Вопр. вирусол.*, 1980, № 3, с. 291—294.
- Косякова Н. П., Павлюченкова Р. П. ДНК из инфицированных ретровирусом D клеток и из опухолей человека — индуктор синтеза нового невирионного антигена. — *Вопр. вирусол.*, 1982, № 2, с. 102.
- Косякова Н. П., Посевая Т. А. ДНК из инфицированных вирусом простого герпеса клеток и опухолей человека как индуктор синтеза нового невирионного антигена. — *Вопр. вирусол.*, 1980, № 5, с. 577—579.
- Косякова Н. П., Павлюченкова Р. П., Посевая Т. А. Обнаружение в клетках антигена, индуцированного онкорнавирусом D, методом смешанной геммадсорбции. — *Вопр. вирусол.*, 1980, № 3, с. 351—354.
- Мутагенез и репарация в системе вирус — клетка. / Под ред. Г. Д. Засухиной. — М.: Наука, 1983. — 232 с.
- Павлюченкова Р. П., Косякова Н. П. Выявление новых антигенов, индуцируемых ретровирусом D, количественным микрометодом фиксации комплекта и использованием радиоактивного хрома. — *Вопр. вирусол.*, 1980, № 5, с. 580—583.
- Павлюченкова Р. П., Коростелева В. С., Косяков П. Н. Специфические антигены в раковых клетках человека. — *Вопр. онкол.*, 1970, т. 16, № 6, с. 38—44.
- Петров Р. В., Хаитов Р. М., Атауллаханов Р. И. Иммуногенетика и искусственные антигены. — М.: Медицина, 1983. — 255 с.
- Посевая Т. А., Косякова Н. П. Получение моноспецифических сывороток к онкорнавирусам и ассоциированным с ними антигенам перевиваемых клеток человека. — *Вопр. вирусол.*, 1976, № 1, с. 18—22.
- Посевая Т. А., Косякова Н. П., Царева А. А., Новохацкий А. С. Ассоциированный с онкорнавирусом D антиген в культивируемых клетках человека и животных. — *Вопр. вирусол.*, 1978, № 6, с. 714—717.
- Ровнова З. И. Изучение действия иммуноспецифической сыворотки на развитие саркомы М-1 крыс. — *Бюлл. eksper. биол.*, 1959, т. 47, № 1, с. 56—62.
- Ровнова З. И. Влияние иммуноспецифической сыворотки на рост асцитной опухоли Эрлиха. — *Вопр. онкол.*, 1959, т. 5, № 3, с. 332.
- Рогольский В. Я. Изучение антигенных различий раковой и нормальной ткани прямой кишки. — *Бюлл. eksper. биол.*, 1964, т. 58, № 10, с. 82—84.
- (Свет-Молдавский Г. Я., Лиознер А. Л., Мхеидзе Д. М.) Svet-Moldavsky G. J., Liozner A. L., Mkhaidze D. M. Tumor-induced skin heterogenization. II. Virus causing the phenomenon. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1970, v. 45, p. 475.
- Уманский Ю. А. Иммунологическая реактивность при раке. — Киев: Здоров'я, 1974. — 240 с.

- Adams A., Lindahl T. EBV genomes with properties of circular DNA molecules in carrier cells. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1975, vol. 72, p. 1477—1481.
- Anderson J., Martin R., Chang C. et al. Nuclear preparation of SV40-transformed cells contain tumor specific transplantation antigen activity. — *Virology*, 1977, vol. 76, p. 420—425.
- Anglin J., Lerner M., Nordquist R. Blood group-like activity released by human mammary carcinoma cells in culture. — *Nature*, 1977, vol. 269, p. 254—255.
- Aurelian L., Strnad B., Smith M. Immunodiagnostic potential of a virus-coded tumor-associated antigen (AG-4) in cervical cancer. — *Cancer*, 1977, vol. 39, p. 1834—1849.
- Avni A., Haikin H., Feuchtwanger M. et al. Antibody pattern to human cytomegalovirus in patients with adenocarcinoma of the colon. — *Intervirology*, 1981, vol. 16, p. 244—249.
- Bahr G. F., Mikel U., Klein G. Localization and quantitation of EBV-associated nuclear antigen (EBNA) in Raji cells. — *Beitr. Path.*, 1975, vol. 155, p. 72—78.
- Baldwin R., Embleton M., Prise M., Robins A. Immunity in the tumor-bearing host and its modification by serum factors. — *Cancer*, 1974, vol. 34, p. 1452.

- Bali J., Magous R., Lecou C., Mousseron-Canet M. Presence of blood group Hantigen on a carcinoembryonic antigen, and its enzymatic modification into blood group A and B specificities. — *Cancer Res.*, 1976, vol. 36, p. 2124—2129.
- Barnekow A., Boschek C., Ziemiecki A., Bauer H. Occurrence of pp 60^{src} and its kinase activity on the outer cell surface and in the culture medium of Rous sarcoma virus-transformed chick embryo cells. — *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1981, vol. 99, p. 75—76.
- Bauer H., Ignjatovic J., Rubsamen H., Hayami M. Transformation-associated cell surface antigens in virus and chemically transformed avian cells. — *Med. Microbiol. Immunol.*, 1977, vol. 164, p. 197—205.
- Bauer H., Kurth R., Gelderblom H. Immunologic properties of cell surface antigens induced by RNA tumor viruses. — In: *Fundamental aspects of neoplasia*,/Ed. A. Gottlieb, O. Plescia, D. Bishop. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 1975, p. 81—88.
- Bayliss G., Wolf H. The regulated expression of Epstein-Barr virus. III. Proteins specified by EBV during the lytic cycle. — *J. Gen. Virol.*, 1981, vol. 56, p. 105—118.
- Beemon K., Hunter T. Characterization of Rous sarcoma virus src gene products synthesized in vitro. — *J. Virol.*, 1978, vol. 28, p. 551—566.
- Beemon K., Hunter T., Sefton B. M. Polymorphism of avian sarcoma virus src proteins. — *J. Virol.*, 1979, vol. 30, p. 190—200.
- Bernstein I., Tam M., Nowinski R. Mouse leukemia: therapy with monoclonal antibodies against a thymus differentiation antigen. — *Science*, 1980, vol. 207, p. 68—71.
- Beth E., Cikes M., Schloen L. et al. Interspecies-species- and type-specific T antigenic determinants of human papovaviruses (JC and BK) and of simian virus 40. — *Cancer*, 1977, vol. 20, p. 551—559.
- Biquard J.-M., Aupoix M. 5-Bromodeoxyuridine induces expression of a tumour-specific surface antigen on normal avian cells. — *Nature*, 1978, vol. 272, p. 284—286.
- Birkenmeier E., Chiu N., Radonovich M. et al. Regulation of simian virus 40 early and late gene transcription without viral DNA replication. — *J. Virol.*, 1979, vol. 29, p. 983—989.
- Bishop J., Varmus H. Functions and origins of retroviral transforming genes. — In: *RNA tumor viruses*. New York: Cold Spring Harbor. Lab., 1982, p. 999—1036.
- Black P. H., Rowe W. P., Turner H. C., Huebner R. J. A specific complement-fixing antigen present in SV40 tumor and transformed cells. — In: *Biol. DNA tumor viruses*. New York-London: Plenum press, 1976, p. 67—75.
- Blair D., McClements W., Vande Woude G. Use of retroviral sequences in cotransfection to activate and rescue an onc gene. — In: *Eukaryotic viral vectors*. New York: Cold Spring Harbor Lab., 1982, p. 153—157.
- Břicháček B., Hirsch I., Zavadova H. et al. Absence of cytomegalovirus DNA from adenocarcinoma of the colon. — *Intervirology*, 1980, vol. 14, p. 223—227.
- Brichacek B., Suchankova A., Hirsch I. et al. Presence of Epstein-Barr virus DNA in tonsillar tissues. — *Acta virol.*, 1981, vol. 25, p. 361—370.
- Brown J., Klitzman J., Hellsröm I. et al. Antibody response of mice to chemically induced tumors. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, p. 955—958.
- Brugge J. S., Collett M. S., Siddiqui A. et al. Detection of the viral sarcoma gene product in cells infected with various strains of avian sarcoma virus and of a related protein in uninfected chicken cells. — *J. Virol.*, 1979, vol. 29, p. 1196—1203.
- Carrel S., Accolla R., Carmagnola A. et al. Common human melanoma-associated antigen(s) detected by monoclonal antibodies. — *Cancer Res.*, 1980, vol. 40, p. 2523.
- Carrol R., Goldfine S., Melero J. Antiserum to polyacrylamide gel-purified simian virus 40 T antigen. — *Virology*, 1978, vol. 87, p. 194—198.
- Castro J., Hunt R., Lacne E., Medawar P. Implication of fetal antigen theory for fatal transplantation. — *Cancer Res.*, 1974, vol. 34, p. 2055—2060.

- Chang C., Anderson J., Martin R. Mora P. Expression of tumor-specific transplantation antigen in cell lines transformed by wild-type or tsA mutant simian virus 40. — *J. Virol.*, 1977, vol. 22, p. 281—289.
- Chang E., Gonda M., Ellis R. et al. Human genome contains four genes homologous to transforming genes of Harvey and Kirsten murine sarcoma viruses. — *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 1982, vol. 79, p. 4848—4852.
- Chen A., Essex M., Mikami T. et al. The expression of transformation-related proteins in cat cells. — In: Feline leukemia virus. *Proc. 3rd Intern. Meet.* New York, 1980, p. 441—455.
- Chen I., Wilhelmsen K., Temin H. Structure and expression of c-rel, the cellular homologue to the oncogene of reticuloendotheliosis virus strain T. — *J. Virol.*, 1983, vol. 45, p. 104—113.
- Chessin L., Branison S., Herschornk. Studies on the A, B, O (H) blood groups on human cells in culture. — *Blood*, 1965, vol. 25, p. 944—953.
- Choi N., Shettigara P., Abu-Zeid H., Nelson N. Herpesvirus infection and cervical anaplasia. A seroepidemiological study. — *Int. J. Cancer*, 1977, vol. 19, p. 167—171.
- Christensen J., Brockman W. Effects of large and small T antigens on DNA synthesis and cell division in simian virus 40-transformed BALD/c 3T3 cells. — *J. Virol.*, 1982, vol. 44, p. 574—585.
- Coffin J., Varmus H., Bishop J. et al. Proposal for naming host cell-derived inserts in retrovirus genomes. — *J. Virol.*, 1981, vol. 40, p. 953—957.
- Coggin J., Anderson N. Embryonic and fetal antigens in cancer cells. — In: *Developmental aspects of carcinogenesis and immunity*/Ed. T. King. — New York Acad. Press, 1974, p. 173—185.
- Collett M. S., Erikson E., Erikson R. L. Structural analysis of the avian sarcoma virus transforming protein: sites of phosphorylation. — *J. Virol.*, 1979, vol. 29, p. 770—781.
- Comoglio P. M., Bertini M., Prat M. Tumor-specific and tumor-associated membrane antigens of Rous sarcoma virus transformed hamster fibroblasts. — *Int. J. Cancer*, 1978, vol. 22, p. 45—62.
- Comoglio P. M., Prat M., Bertini M. A virus-induced nonviral antigen specific for transformation at the surface of RSV-transformed fibroblasts. — *Nature*, 1978, vol. 273, p. 381—383.
- Cooper A., Brown M., Kirch M., Rule A. Relationship of carcinoembryonic antigen to blood substances A and i: evidence that the antigenic sites are on different molecules. — *J. Immunol.*, 1974, vol. 113, p. 1246—1251.
- Cooper G. M., Neiman P. E. Transforming genes of neoplasms induced by avian lymphoid leukosis viruses. — *Nature*, 1980, vol. 287, p. 656—659.
- Cooper H., Haesler W. Blood group substances as tumor antigens in the distal colon. — *Amer. J. Clin. Pathol.*, 1978, vol. 69, p. 594—598.
- Cotter S., Essex M., McLane M. et al. Chemotherapy and passive immunotherapy in naturally occurring feline mediastinal lymphoma. — In: Feline leukemia virus. *Proc. 3rd Intern. Meet.* New York, 1980, p. 219—225.
- Crawford L., Leppard K., Lane D., Harlow E. Cellular proteins reactive with monoclonal antibodies directed against simian virus 40 T-antigen. — *J. Virol.*, 1982, vol. 42, p. 612—620.
- Dalianis T., Mangusson G., Ito Y., Klein G. Immunization against the polyoma virus-induced tumor-specific transplantation antigen by early region mutants of the virus. — *J. Virol.*, 1982, vol. 43, p. 772—777.
- D'Alisa R., Gershey E. Simian virus 40 T antigen binds to host cell chromosomes. — *Nature*, 1978, vol. 274, p. 164—166.
- Dalla Favera R., Gelmann E., Martinotti S. et al. Cloning and characterization of different human sequences related to the one gene (v-myc) of avian myelocytomatosis virus (MC29). — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1982, vol. 79, p. 6497—6501.
- Davidsohn I. The loss of blood group antigens A, B and H from cancer cells. — *Immunodiagn. Cancer*, pt. I, 1979, p. 644.
- Denk H., Tappeiner G., Holzner J. Blood group substances (BG) as carcino-fetal antigens in carcinomas of the distal colon. — *Eur. J. Cancer*, 1974, vol. 10, p. 487.

- De Noronha F., Grant C., Essex M., Bolognesi D. Passive immune serotherapy protects cats from disseminated FeSV-induced fibrosarcomas. — In: Feline leukemia virus. Proc. 3rd Intern. Meet. New York, 1980, p. 253—260.
- Deppert W., Pates R. Cell surface location of simian virus 40-specific proteins on HeLa cells infected with adenovirus type 2-simian virus 40 hybrid viruses Ad2+ND1 and Ad2+ND2. — J. Virol., 1979, vol. 31, p. 522—536.
- Diosi P., David C. An immunological approach to the infectious mononucleosis syndrome. — Rev. roum. med. Ser. virol., 1981, vol. 32, p. 171—173.
- Dippold W., Lloyd K., Li L. et al. Cell surface antigens of human malignant melanoma: definition of six antigenic systems with mouse monoclonal antibodies. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1980, vol. 77, p. 6114—6118.
- Docherty J., Subak-Sharpe J., Preston Ch. Identification of a virus-specific polypeptide associated with a transforming fragment (BgIII-N) of HSV type 2 DNA. — J. Virol., 1981, vol. 40, p. 126—132.
- Dougherty R. M. A comparison of human papovavirus T antigens. — J. Gen. Virol., 1976, vol. 33, p. 61.
- Dreesman G., Matson D., Courtney R. et al. Detection of herpesvirus type-specific antibody by a micro solid phase radioimmunoassay. — Intervirology, 1979, vol. 12, p. 115—119.
- Duesberg P., Wang Lu-Hai, Mellon P. et al. The genetic map of Rous sarcoma virus. — In: Seak book cancer. Chicago—London, 1978, p. 414—415.
- Embleton M., Gunn B., Byers V., Baldwin R. Antitumour reactions of monoclonal antibody against a human osteogenic-sarcoma cell line. — Brit. J. Cancer, 1981, vol. 43, p. 582—587.
- Epstein M. A. Epstein-Barr virus as the cause of a human cancer. — Nature, 1978, vol. 274, p. 740.
- Epstein M. Persistence of Epstein-Barr virus infection. — In: Virus Persistence, 23rd Symp. Soc. Gen. Microbiol. — Cambridge, 1982, p. 169—183.
- Erikson E., Collett M. S., Erikson R. L. In vitro synthesis of a functional avian sarcoma virus transforming-gene product. — Nature, 1978, vol. 274, p. 919—921.
- Essex M., Sliski A., Worley M. et al. Significance of the feline oncornavirus-associated cell-membrane antigen (FOCMA) in the natural history of feline leukemia. — In: Viruses natur. occurring cancers. Book A. New York: Cold Spring Harbor Lab., 1980, p. 589—602.
- Falkson H., Van Der Watt I., Falkson G. et al. Carcinoembryonic antigen in patients with breast cancer. — Cancer, 1978, vol. 42, p. 1308—1313.
- Farrell M., Mautyjarvi R., Pagano I. T antigen of BK papovavirus in infected and transformed cells. — J. Virol., 1978, vol. 25, p. 871—877.
- Feizi T. The I and T antigens on certain normal and pathologic tissues. — Rev. Fr. Transf. Immuno-hemat., 1978, vol. 21, p. 165—174.
- Fiers W., Contreras R., Haegeman G. et al. Complete nucleotide sequence of SV40 DNA. — Nature, 1978, vol. 273, p. 113—120.
- Fiori M., di Mayorka G. Occurrence of BK virus DNA in DNA obtained from certain human tumors. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1976, vol. 73, p. 4662.
- Flannery V., Courtney R., Schaffer P. Expression of an early, nonstructural antigen of herpes simplex virus in cells transformed in vitro by herpes simplex virus. — J. Virol., 1977, vol. 21, p. 284—291.
- Fleckenstein B., Muller I., Werner J. The presence of herpesvirus saimiri genomes in virus-transformed cells. — Int. J. Cancer, 1977, vol. 19, p. 546—554.
- Franchini G., Gelmann E., Dalla Favera R. et al. Human gene (c-fes) related to the onc sequence of Snyder-Theilen feline sarcoma virus. — Mol. Cell Biol., 1982, vol. 2, p. 1014—1019.
- Franchini G., Wong-Staal F., Dalla Favera R., Gallo R. Isolation and characterization of the human onc gene related to the transforming gene (v-fes) of the Snyder-Theilen feline sarcoma virus. — In: RNA tumor viruses. New York: Cold Spring Harbor, Lab., 1982, p. 70.
- Frenkel N., Roizman B., Cassai E., Nahmias A. A DNA fragment of herpes simplex 2 and its transcription in human cervical cancer tissue. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, vol. 69, p. 3784—3789.

- Frenkel N., Locker H., Cox B. et al. Herpes simplex virus DNA in transformed cells: sequence complexity in five hamster cell lines and one derived hamster tumor. — *J. Virol.*, 1976, v. 18, p. 885—893.
- Fung Yuen-Kai T., Crittenden L., Kung Hsing-Jien. Orientation and position of avian leukosis virus DNA relative to the cellular oncogene c-myc in B-lymphoma tumors of highly susceptible 151_sx7₂ chickens. — *J. Virol.*, 1982, vol. 44, p. 742—746.
- Fung Yuen-Kai T., Fadly A., Crittenden L., Kung Hsing-Jien. Avian lymphoid leukosis virus infection and DNA integration in the preleukotic bursal tissues: a comparative study of susceptible and resistant lines. — *Virology*, 1982, vol. 119, p. 411—421.
- Galloway D., McDougall J. The oncogenic potential of herpes simplex viruses: evidence for a "hit-and-run" mechanism. — *Nature*, 1983, vol. 302, p. 21—24.
- Galloway D., Goldstein L., Lewis J. Identification of proteins encoded by a fragment of herpes simplex virus type 2 DNA that has transforming activity. — *J. Virol.*, 1982, vol. 42, p. 530—537.
- Geder L., Rapp F. Evidence for nuclear antigens in cytomegalovirus-transformed human cells. — *Nature*, 1977, vol. 265, p. 184.
- Geissler E., Scherneck S., Waehlté H. et al. Further studies on the relationship of SV40-like viruses to human tumors. — In: *Viruses natur, occurring cancers*. Book A. New York: Cold Spring Harbor. Lab., 1980, p. 343—356.
- Gergely L., Czeglédy J., Vácsi L. Early nuclear antigen as DNA-binding protein in cytomegalovirus-infected cells. — *Intervirology*, 1980, vol. 13, p. 352—356.
- Gibson W. Structural and nonstructural proteins of strain colburn cytomegalovirus. — *Virology*, 1981, vol. 111, p. 516—537.
- Gibson W. Immediate-early proteins of human cytomegalovirus strains Ad 169, Davis and Towne differ in electrophoretic mobility. — *Virology*, 1981, vol. 112, p. 350—354.
- Gilman S., Docherty J., Clarke A., Ralis W. Reaction patterns of herpes simplex virus type 1 and type 2 proteins with sera of patients with uterine cervical carcinoma and matched controls. — *Cancer Res.*, 1980, vol. 40, p. 4640—4647.
- Girardi A., Reppucci P., Dierlam P. et al. Prevention of simian virus 40 tumors by hamster fetal tissues: influence of parity status of donor females on immunogenicity of fetal tissues and on immune cell cytotoxicity. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1973, vol. 70, p. 183—186.
- Gold J., Gold P. The blood group A-like site on the carcinoembryonic antigen. — *Cancer Res.*, 1973, vol. 33, p. 2821—2824.
- Gold P., Freedman S. Specific carcinoembryonic antigen of the human digestive system. — *J. Exp. Med.*, 1965, vol. 122, p. 467—481.
- Griffin J., Light S., Livingston D. Measurements of the molecular size of the simian virus 40 large T antigen. — *J. Virol.*, 1978, vol. 27, p. 218—226.
- Habel K. Specific complement-fixing antigens in polyoma tumors and transformed cells. — *Virology*, 1965, vol. 25, p. 55—61.
- Häkkinen I. A-like blood group antigen in gastric cancer cells of patients in blood groups O or B. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1970, vol. 44, p. 1183.
- Häkkinen I., Raunio V., Virtanen S., Kohonen J. Blood group activities in water-soluble glycoproteins and in microsomal fractions of gastric mucosa in peptic ulcer and gastric cancer patients. — *Clin. Exp. Immunol.*, 1969, vol. 4, p. 149—157.
- Hakomori S., Kobata A. Blood group antigens. — In: *The Antigens*/Ed. M. Sela. New York: Acad Press, 1974, vol. 2, p. 79.
- Hakomori S., Wang S. Isoantigenic expression of Forssman glycolipid in human gastric and colonic mucosa: its possible identity with "A-like antigen" in human cancer. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1977, vol. 74, p. 3023.
- Halpern C., Hayward W., Hanafusa H. Characterization of some isolates of newly recovered avian sarcoma virus. — *J. Virol.*, 1979, vol. 29, p. 91—101.
- Hanafusa H. Cell Transformation by RNA tumor viruses. — In: *Comprehensive virol*/Ed. H. Fraenkel-Conrat, R. Waggner. New York—London, 1977, vol. 9, p. 401—483.

- Hardy W. The virology, immunology and epidemiology of the feline leukemia virus. — In: Feline leukemia virus, Proc. 3rd Intern. Meet. New York, 1980, p. 33—78.
- Hardy W., Mac Ewen E., Hayes A., Zuckerman E. FOCMA antibody as specific immunotherapy for lymphosarcoma of pet cats. — In: Feline leukemia virus, Proc. 3rd Intern. Meet. New York, 1980, p. 227—233.
- Harlow Ed., Pim D., Crawford L. Complex of simian virus 40 large-T antigen and host 53 000-molecular-weight protein in monkey cells. — J. Virol., 1981, vol. 37, p. 564—573.
- Harris J., Sinkovics J. The Immunology of malignant disease. 2nd ed. — Saint Louis: C. V. Mosby Company, 1976. — 606 p.
- Hashiro G., Horikami S., Loh P. Cytomegalovirus isolations from cell cultures of human adenocarcinomas of the colon. — Intervirology, 1979, vol. 12, p. 84—88.
- Hay R. T., Hay J. Properties of herpesvirus-induced "immediate early" polypeptides. — Virology, 1980, vol. 104, p. 230—234.
- Hellström I., Hellström K. Demonstration of cell-mediated immunity to human neoplasms of various histological types. — Int. J. Cancer, 1971, vol. 7, p. 1.
- Hellström K., Hellström I. Immunologic defenses against cancer. — In: Immunology/Ed. R. Good, D. Fischer. New York—London: Acad. Press., 1972, p. 209.
- Henle W., Henle G. Epstein-Barr virus and human malignancies. — Cancer, 1974, vol. 34, p. 1368.
- Henle W., Henle G. Evidence for an etiologic relation of the Epstein-Barr virus to human malignancies. — Laryngoscope, 1977, vol. 87, p. 467—473.
- Henning R., Lange-Mutschler J., Deppert W. SV40-transformed cells express SV40 T antigen-related antigens on the cell surface. — Virology, 1981, vol. 108, p. 325—337.
- Herlyn D., Koprowski H. Monoclonal anticolon carcinoma antibodies in complement-dependent cytotoxicity. — Int. J. Cancer, 1981, vol. 27, p. 769.
- Herlyn D., Herlyn M., Steplewski Z., Koprowski H. Monoclonal antibodies in cell-mediated cytotoxicity against human melanoma and colorectal carcinoma. — Eur. J. Immunol., 1979, vol. 9, p. 657.
- Herlyn D., Steplewski Z., Herlyn M., Koprowski H. Inhibition of growth of colorectal carcinoma in mice by monoclonal antibody. — Cancer Res., 1980, vol. 40, p. 717.
- Herlyn M., Steplewski Z., Herlyn D., Koprowski H. Colorectal carcinoma-specific antigen: detection by means of monoclonal antibodies. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, vol. 76, p. 1438.
- Hirai K., Saito Ch., Yamanishi K. The presence of herpes simplex virus DNA in hamster embryo cells transformed by a temperature sensitive mutant, TS-4. — Biken J., 1979, vol. 22, p. 99—102.
- Hiscott J., Defendi V. Simian virus 40 gene A regulation of cellular DNA synthesis. II. In nonpermissive cells. — J. Virol., 1981, vol. 37, p. 802—812.
- Hogan-Ryan A., Fennelly J., Jones M. et al. Serum sialic acid and CEA concentrations in human breast cancer. — Brit. J. Cancer, 1980, vol. 41, p. 587—592.
- Höglman C. Blood group antigens on human cells in tissue culture. The effect of prolonged cultivation. — Exp. Cell. Res., 1960, vol. 21, p. 137—143.
- Hollinshead A., Tarro G., Foster W. Studies of tumor-specific and herpesvirus nonviral antigens. — Cancer Res., 1974, vol. 34, p. 1122—1125.
- Hollinshead A., Tarro G., Rawls W., Chretien P. Characterization of herpesvirus nonviral antigens: relation to squamous cell carcinomas. — In: Viral immunodiagnosis/Ed. E. Kurstak, R. Morisset. New York: Acad. Press, 1974, p. 301—317.
- Hoover R., Fraumendi J. Risk of cancer in renal-transplant recipients. — Lancet, 1973, vol. 1, N 7820, p. 55.
- Huebner R. J., Rowe W. P., Turner H. C., Lane W. T. Specific adenovirus complement fixing antigens in virus-free hamster and rat tumors. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1963, vol. 50, p. 378—389.

- Irie R. Oncofetal antigen (OFA-1): a human tumor-associated fetal antigen immunogenic in man. — In: Serologic analysis of human cancer/Ed. S. Rosenberg, New York: Acad. Press, 1980, p. 493—513.
- Ito Y. Polyoma virus-specific 55K protein isolated from plasma membrane of productively infected cells is virus-coded and important for cell transformation. — *Virology*, 1979, vol. 98, p. 261—266.
- Ito Y., Nigel S., Beverly E., Griffin J. Middle T antigen as primary inducer of full expression of the phenotype of transformation by polyoma virus. — *J. Virol.*, 1980, v. 35, p. 219—232.
- Jamamoto N., Okada M., Koyanagi Y. et al. Transformation of human leukocytes by cocultivation with an adult T cell leukemia virus producer cell line. — *Science*, 1982, vol. 217, p. 737—739.
- Jariwalla R., Aurelian L., Ts'O P. Tumorigenic transformation induced by a specific fragment of DNA from herpes simplex virus type 2. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1980, vol. 77, p. 2279—2289.
- Jay G., Jay F. T., Chang C. et al. Tumor-specific transplantation antigen: use of the Ad2+ND₁ hybrid virus to identify the protein responsible for simian virus 40 tumor rejection and its genetic origin. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, p. 3055—3059.
- Jones P., Sze L., Liu P. et al. Prolonged survival for melanoma patients with elevated IgM antibody to oncofetal antigen. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1981, vol. 66, p. 249—254.
- Ju G., Hishinuma F., Skalka A. Nucleotide sequence analysis of avian retroviruses: structural similarities with transposable elements. — *Fed. Proc.*, 1982, vol. 41, p. 2651—2659.
- Kamine J., Buchanan J. M. Cell-free synthesis of two proteins unique to RNA of transforming virions of Rous sarcoma virus. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1977, vol. 74, p. 2011—2015.
- Kawanami J. The appearance of Forssman hapten in human tumor. — *J. Biochem.*, 1972, vol. 72, p. 783—785.
- Kay H., Wallace D. A and B antigens of tumors arising from urinary epithelium. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1961, vol. 26, p. 1349—1359.
- Kelly T., Nathans D. The genome of simian virus 40. — *Adv. Virus Res.*, 1977, vol. 21, p. 85—173.
- Khoury G., May E. Regulation of early and late simian virus 40 transcription: overproduction of early RNA in the absence of a functional T-antigen. — *J. Virol.*, 1977, vol. 23, p. 167—176.
- Khoury G., Lai C.-J., Solomon D. et al. The human papovaviruses and their potential role in human diseases. — In: *Origins of human cancer*. Book B. New York: Cold Spring Lab., 1977, p. 971—988.
- Klein G., Vonka V. Brief Communication: Relationship between Epstein-Barr virus-determined complement-fixing antigen and nuclear antigen detected by anticomplement fluorescence. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1974, vol. 53, p. 1645—1660.
- Klein G., Dombos L., Gothoskar B. Sensitivity of Epstein-Barr virus producer and nonproducer human lymphoblastoid cell lines to superinfection with EB virus. — *Int. J. Cancer*, 1972, vol. 10, p. 44—57.
- Kobata A., Grollman E., Ginsburg V. An enzymic basis for blood type A in humans. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, vol. 124, p. 609—612.
- Koprowski H., Steplewski Z., Herlyn D., Herlyn M. Study of antibodies against human melanoma produced by somatic cell hybrids. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, p. 3405—3409.
- Koprowski H., Steplewski Z., Mitchell K. et al. Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. — *Som. Cell Genet.*, 1979, vol. 5, p. 957—971.
- Krupey J., Wilson T., Freedman S., Gold P. The preparation of purified carcinoembryonic antigen of the human digestive system from large quantities of tumor tissue. — *Immunochemistry*, 1972, vol. 9, p. 617—622.
- Kurth R., Bosch V., Bolognesi D. Polypeptides of endogenous avian C-type viruses: their detection in the plasma membrane of normal and infected cells. — *Virology*, 1977, vol. 78, p. 511—521.

- Kurth R., Friis R., Wyke J., Bauer H. Expression of tumor-specific surface antigens on cells infected with temperature sensitive mutants of avian sarcoma virus. — *Virology*, 1975, vol. 64, p. 400—408.
- Lane D. Immunochemical detection of specific interactions and relations between SV40 large T antigen and host cell proteins. — *Eur. J. Cell Biol.*, 1980, vol. 22, p. 526.
- Lane D., Crawford L. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. — *Nature*, 1979, vol. 278, p. 261—263.
- Lanford R. E., Butel J. S. Antigenic relationship of SV40 early proteins to purified large T polypeptide. — *Virology*, 1979, vol. 97, p. 295—306.
- Langbeheim H., Shin T., Scolnick E. Identification of a normal vertebrate cell protein related to the p21 src of Harvey murine sarcoma virus. — *Virology*, 1980, vol. 106, p. 292—300.
- Lange-Mutschler J., Deppert W., Henning R. SV40-tumor-antigen related molecules are localized on the surface of SV40-transformed cells. — *Zbl. Bakteriolog., Abt. 1A*, 1980, Bd 246, S. 2.
- Law L. W., Appella E., Henriksen O., Rogers M. Some biological and biochemical properties of soluble tumor antigens. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1976, vol. 276, p. 11—25.
- Ledinko N. Transformation-specific antigen induced by oncogenic human adenovirus. — *Nature*, 1978, vol. 274, p. 812—813.
- Lengerova A. The expression of normal histocompatibility antigens in tumor cells. — *Adv. Cancer Res.*, 1972, vol. 16, p. 235.
- Lennox E. The antigens of chemically induced tumors. — In: *Progress Immunol.* 4th Int. Congr. Immunol. London, 1980, p. 659.
- Levine P. Biological and clinical significance of differences between RBC membrane (Rh) and non-membrane (ABH, MN, P) antigenic sites illegitimate ABO, MN(T), P(Tj) antigens in malignancy. — *Rev. Fr. Transf. Immunohemat.*, 1976, vol. 19, p. 213—229.
- Levy R., Dilley J., Fox R., Warnke R. A human thymus-leukemia antigen defined by hybridoma monoclonal antibodies. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, p. 6552—6556.
- Limas C., Lange P., Fraley E., Vessella R. A, B, H antigens in transitional cell tumors of the urinary bladder. — *Cancer*, 1979, vol. 44, p. 2099—2107.
- Linzer D., Maltzman W., Levine A. The SV40 A gene product is required for the production of a 54 000 MW cellular tumor antigen. — *Virology*, 1979, vol. 98, p. 308—318.
- Lipsich L., Cutt J., Brugge J. Association of the transforming proteins of Rous, Fujinami, and Y73 avian sarcoma viruses with the same two cellular proteins. — *Mol. Cell Biol.*, 1982, vol. 2, p. 875—880.
- Lo Gerfo P., Herter F., Bennett S. Absence of circulating antibodies to carcinoembryonic antigen in patients with gastrointestinal malignancies. — *Int. J. Cancer*, 1972, vol. 9, p. 344—348.
- Loop S., Nishiyama K., Hellström I. et al. Two human tumor-associated antigens p155 and p210 detected by monoclonal antibodies. — *Int. J. Cancer*, 1981, vol. 27, p. 775.
- Luborsky S., Chang C., Pancake S., Mora P. Comparative behaviour of simian virus 40 T-antigen and of tumor-specific surface and transplantation antigens during partial purification. — *Cancer Res.*, 1978, vol. 38, p. 2367—2371.
- McDougall J., Galloway D., Fenoglio C. Cervical carcinoma: Detection of herpes simplex virus RNA in cells undergoing neoplastic change. — *Int. J. Cancer*, 1980, vol. 25, p. 1—8.
- McDougall J., Crum Ch., Fenoglio C. et al. Herpesvirus-specific RNA and protein in carcinoma of the uterine cervix. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1982, vol. 79, p. 3583—3587.
- Mc Michael A., Pilch J., Macon D., Milstein C. A human thymocyte antigen defined by a hybrid myeloma monoclonal antibody. — *Eur. J. Immunol.*, 1979, vol. 9, p. 205—210.
- Mark W., Sugden B. Transformation of lymphocytes by Epstein-Barr virus requires only one-fourth of the viral genome. — *Virology*, 1982, vol. 122, p. 431—443.

- Martin M., Khoury G. Integration of DNA tumor virus genomes. — In: Current Top. Microbiol. Immunol., Berlin, 1976, vol. 73, p. 35—65.
- Martinis J., Crose C. Somatic cell hybrids producing antibodies specific for the tumor antigen of simian virus 40. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1978, vol. 75, p. 2320.
- Melnick J., Adam E., Lewis R., Kaufman R. Cervical cancer cell lines containing herpesvirus markers. — Intervirology, 1979, vol. 12, p. 111—114.
- Melnick J., Courtney R., Powell K., et al. Studies on herpes simplex virus and cancer. — Cancer Res., 1976, vol. 36, p. 845—856.
- Montenarh M., Henning R. The binding of simian virus 40 large T-antigen to the polyphosphate backbone of nucleic acids. — Biochim. Biophys. Acta, 1982, vol. 697, p. 322—329.
- Mousseron-Canet M., Magous R. Enzymatic modification of the transplant antigens (ABO system) on human tumor cells. — Cancer, 1975, vol. 36, p. 1309.
- Nairn R., Chose T. Kidney-specific antigen depletion in human renal. — Brit. J. Cancer 1966, vol. 20, p. 756.
- Nazerian K., Lindahl T., Klein G., Lee L. DNA of Marek's disease virus in virus-induced tumors. — J. Virol., 1973, vol. 12, p. 841—846.
- Neel B., Gasic G., Rogler Ch. et al. Molecular analysis of the c-myc locus in normal tissue and in avian leukosis virus-induced lymphomas. — J. Virol., 1982, vol. 44, p. 158—166.
- Nepom J., Hellström I., Hellström K. Antigen-specific purification of blocking factors from sera of mice with chemically-induced tumors. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, vol. 74, p. 4605.
- Nonoyama M., Pagano J. S. Separation of EBV DNA from large chromosomal DNA in non-virus-producing cells. — Nature, 1972, vol. 238, p. 169—171.
- Notter M., Docherty J. Comparative diagnostic aspects of herpes simplex virus tumor-associated antigens. — J. Nat. Cancer Inst. 1976, vol. 57, p. 483—488.
- Osborn M., Weber K. Simian virus 40 gene A function and maintenance of transformation. — J. Virol., 1975, vol. 15, p. 635—644.
- Parker P., Varmus H., Bishop J. Isolation and characterization of the region of the chicken chromosome containing c-src, the endogenous homologue of the Rous sarcoma virus transforming gene. — In: RNA tumor viruses. New York: Cold Spring Harbor Lab., 1981, p. 49.
- Parmiani G., Lembo R. Effect of antiembryo immunization on methylcholanthrene-induced sarcoma growth in BALB/c mice. — Int. J. Cancer, 1974, vol. 14, p. 555.
- Paucha E., Harvey R., Smith A. E. Cell-free synthesis of simian virus 40 T-antigens. — J. Virol., 1978, vol. 28, p. 154—170.
- Pawson A., Smith A. Cell free translation of avian RNA tumor virus 35S RNA. — In: Sci Rept. Imper. Cancer Res. Fund. Counc. Dir. Res. London, 1976, p. 75.
- Payne G., Bishop J., Varmus H. Oncogenesis by avian leukosis virus: evidence for a mechanism involving insertional mutagenesis. — In: RNA tumor viruses. New York. Cold Spring Harbor. Lab., 1981, p. 259.
- Pignatelli P., Cassai E., Meneguzzi G. et al. Herpes simplex virus DNA isolation from infected cells with a novel procedure. — Virology, 1979, vol. 93, p. 260—264.
- Pimm M., Baldwin R. Antigenic differences between primary methylcholanthrene-induced rat sarcomas and post-surgical recurrences. — Int. J. Cancer, 1974, vol. 20, p. 37.
- Pope J. H., Rowe W. P. Detection of specific antigen in SV40 transformed cells by immunofluorescence. — In: Biol. DNA tumor viruses. New York—London: Plenum press, 1976, p. 77—84.
- Prakash K., McBride O., Swan D. et al. Molecular cloning and chromosomal mapping of a human locus related to the transforming gene of Moloney murine sarcoma virus. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1982, vol. 79, p. 5210—5214.
- Prat M., Tarone G., Comoglio P. Embryonal and tumor-specific plasma membrane antigens of Rous sarcoma virus transformed fibroblasts. — Ital. J. Biochem., 1979, vol. 28, p. 124—127.

- Prehn R.* Immunological surveillance: pro and con. — In: *Clinical Immunology*/Ed. F. Bach, R. Cood., New York—London: Acad. Press, 1974, vol. 2, p. 191.
- Prehn R., Lappé M.* An immunostimulation theory of tumor development. — *Transplant. Rev.*, 1971, vol. 7, p. 26—53.
- Prives C., Beck Y., Shure H.* DNA binding properties of simian virus 40 T antigens synthesized in vivo and in vitro. — *J. Virol.*, 1980, vol. 33, p. 689—696.
- Purchio A. F., Erikson E., Brugge J., Erikson R.* Identification of a polypeptide encoded by the avian sarcoma virus src gene. — *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 1978, vol. 75, p. 1567—1571.
- Purtilo D., Klein G.* Introduction to Epstein-Barr virus and lymphoproliferative diseases in immunodeficient individuals. — *Cancer Res.*, 1981, vol. 41, pt. 4, p. 4209.
- Rapp F., Kitahara T., Butel J. S., Melnick J. L.* Synthesis of SV40 tumor antigen during replication of simian papovavirus (SV40). — In: *Biol. DNA tumor viruses*. New York—London, Plenum Press, 1976, p. 85—88.
- Rapport M., Graf L.* Cancer antigens: How specific should they be? — *Cancer Res.*, 1961, vol. 21, p. 1225.
- Reddy V. B., Thimmappay B., Dhar R.* The genome of simian virus 40. — *Science*, 1978, vol. 200, p. 494—501.
- Reedman B. M., Klein G.* Cellular localization of an Epstein-Barr virus (EBV)-associated complement-fixing antigen in producer and nonproducer lymphoblastoid cell lines. — *Int. J. Cancer*, 1973, vol. 11, p. 499—520.
- Reiner J., Southam C.* Further evidence of common antigenic properties in chemically induced sarcomas of mice. — *Cancer Res.*, 1969, vol. 29, p. 1814.
- Reyes G., La Femina R., Hayward S., Hayward G.* Morphological transformation by DNA fragments of human herpes viruses: evidence for two distinct transforming regions in HSV types 1 and 2 and lack of correlation with biochemical transfer of the TK gene. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1979, vol. 44, p. 629—641.
- Reynolds F., Sacks T. L., Deobagkar D. N., Stephenson J. R.* Cell nonproductively transformed by Abelson murine leukemia virus express a high molecular weight polypeptide containing structural and nonstructural components. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, p. 3974—3978.
- Reynoso G., Chu T., Guinan P., Murphy G.* Carcinoembryonic antigen in patients with tumors of the urogenital tract. — *Cancer*, 1972, vol. 30, p. 1—4.
- Richards A., Cantab B.* Loss of blood group-B antigen in chronic lymphatic leukaemia. — *Lancet*, 1962, vol. 2, p. 178—179.
- Robins R., Baldwin R.* Immune complexes in cancer. — *Cancer Immunol. Immunother.*, 1978, vol. 4, p. 1—3.
- Robinson H., Vande-Woude G.* The genetic basis of retrovirus-induced transformation. — In: *Retrovirus genes lymphocyte Funct. and growth*. Berlin, 1982, p. 11—16.
- Rosenberg N., Clark D., Witte O.* Abelson murine leukemia virus mutants deficient in kinase activity and lymphoid cell transformation. — *J. Virol.*, 1980, vol. 36, p. 766—774.
- Rouger P., Riveau D., Salmon Ch., Leygue J.* Plasma blood group changes in gastrointestinal tract carcinoma. — *J. Clin. Pathol.*, 1979, vol. 32, p. 907—911.
- Roussel M. J., Stéhelin D.* Détection de séquences nucléotidique apparentées au gène transformant des rétrovirus aviaires dans le DNA normal de vertébrés. — *Bull. Cancer*, 1978, vol. 65, p. 39—40.
- Rundell K., Collins J., Tegtmeyer P. et al.* Identification of simian virus 40 protein A. — *J. Virol.*, 1977, vol. 24, p. 636—646.
- Ruoslahti E., Terry W.* α -Fetoprotein and serum albumin show sequence homology. — *Nature*, 1976, vol. 260, p. 804—805.
- Ruoslahti E., Pihko H., Seppala M.* Alpha-fetoprotein: immunochemical purification and chemical properties. Expression in normal state and in malignant and nonmalignant liver diseases. — *Transplant. Rev.*, 1974, vol. 20, p. 38—60.

- Ryser H. Chemical carcinogenesis. — *New Engl. J. Med.*, 1971, vol. 285, p. 721.
- Sabin A., Tarro G. Herpes simplex and herpes genitalis viruses in etiology of some human cancers. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1973, vol. 70, p. 3225.
- Sacks T., Reynolds F., Deobagkar D., Stephenson J. Murine leukemia virus (T-8) transformed cells: identification of a precursor polypeptide containing gag gene-coded (p15 and p12) and nonstructural components. — *J. Virol.*, 1978, vol. 27, p. 809—814.
- Saichua S., Chiewsilp P. Red cell ABH antigens in leukaemia and lymphomas. — *Vox. Sang.*, 1978, vol. 35, p. 154—159.
- Salmon Ch. Blood groups changes in preleukemic states. — *Blood cel.*, 1976, vol. 2, p. 211—218.
- Salmon Ch. Blood group antigens and malignancy. — *Can. J. Med. Technol.*, 1979, vol. 41, p. 133.
- Santos M., Butel J. Detection of a complex of SV40 large tumor antigen and 53K cellular protein on the surface of SV40-transformed mouse cells. — *J. Cell. Biochem.*, 1982, vol. 19, p. 127—144.
- Sarnow P., Ho Ye Shih, Williams J., Levine A. Adenovirus Elb-58kd tumor antigen and SV40 large tumor antigen are physically associated with the same 54kd cellular protein in transformed cells. — *Cell*, 1982, vol. 28, p. 387—394.
- Schaffhausen B., Dorai H., Arakere G., Benjamin T. Polyoma virus middle T antigen: relationship to cell membranes and apparent lack of ATP-binding activity. — *Mol. Cell. Biol.*, 1982, vol. 2, p. 1187—1198.
- Scheller A., Sovey L., Barnett B., Prives C. A small subclass of SV40 T antigen binds to the viral origin of replication. — *Cell*, 1982, vol. 29, p. 375—383.
- Scherneck S., Herold H.-J., Zimmermann W., Weick F. Further studies on the possible relationship between SV40 and human tumors. — In: 12th Meet. Eur. tumor virus group SPA. Liege, 1979, p. 66.
- Schmidt-Ullrich R., Wallach D. Papovavirus-specific surface membrane antigens of cells transformed by simian virus 40 and BK virus. — In: Role viruses human cancer. Proc. 1st Intern. Congr. Viral Oncol. T. and L. de Beaumont Bonelli Foudn. Cancer Res., New York, 1980, vol. 1, p. 125—139.
- Schmidt-Ullrich R., Kahn S., Thompson W., Wallach D. Host cell-modified T-antigen in membranes of simian virus 40-transformed hamster cells. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1980, vol. 65, p. 585—593.
- Searle F., Baghawe K., Goka G. A comparative study of two tumor markers in breast cancer. — *Brit. J. Cancer*, 1977, vol. 36, p. 404.
- Sefton B. M., Beemon K., Hunter T. Comparison of the expression of the src gene of Rous sarcoma virus in vitro and in vivo. — *J. Virol.*, 1978, vol. 283, p. 957—971.
- Seif R. Polyoma virus middle t antigen—a tumor progression factor. — *J. Virol.*, 1980, vol. 35, p. 479—487.
- Sharma B. In vitro immunization against human tumor cells with tumor cell fractions. — *Cancer Res.*, 1977, vol. 37, p. 4660.
- Sheahan D., Horowitz S., Zamcheck N. Deletion of epithelial ABH isoantigens in primary gastric neoplasms and in metastatic cancer. — *Amer. J. Dig. Dis.*, 1971, vol. 16, p. 961—969.
- Shearer W., Philpott G., Pakker C. Stimulation of cells by antibody. — *Science*, 1973, vol. 182, p. 1357—1359.
- Sherr C., Donner L. Molecular structure and products of feline sarcoma and leukemia viruses: relationship to FOCMA expression. — In: Feline leukemia virus. Proc. 3rd Intern. Meet New York, 1980, p. 441—455.
- Sherr C., Todaro G., Sliski A., Essex M. Characterization of a feline sarcoma virus-coded antigen (FOCMA-S) by radioimmunoassay. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, p. 4489—4493.
- Shibuya M., Hanafusa H., Balduzzi P. C. Cellular sequences related to three new oncogenes of avian sarcoma virus (fms, yes, and ras) and their expression in normal and transformed cells. — *J. Virol.*, 1982, vol. 42, p. 143—152.
- Shumak K., Rachkewich R., Greaves M. I and i antigens on normal human T and B lymphocytes and on lymphocytes from patients with chronic lymphocyte leukemia. — *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1975, vol. 4, p. 241—247.

- Silora K., Phillips J.* Human monoclonal antibodies to glioma cells. — *Brit. J. Cancer*, 1981, vol. 43, p. 105.
- Simmons A., Perlmann P.* Carcinoembryonic antigen and blood group substances. — *Cancer Res.*, 1973, vol. 33, p. 343.
- Simmons D. T., Takemoto K. K., Martin M. A.* Relationship between the methionine tryptic peptides of simian virus 40 and BK virus tumor antigens. — *J. Virol.*, 1977, vol. 24, p. 349—325.
- Sjögren H., Hellström I.* Suggestive evidence that the "blocking antibodies" of tumor bearing individuals may be antigen—antibody complexes. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1974, vol. 68, p. 1372.
- Sjögren H., Bansal S.* Relationship between blocking and unblocking activity and tumor growth in vivo. — *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, 1972, vol. 35, p. 231—235.
- Skrabaneck P., Dervan P., Cannon D., Powell D.* Substance P in ovarian carcinoma. — *J. Clin. Pathol.*, 1980, vol. 33, p. 160—162.
- Slicki A. H., Essex M.* Sarcoma virus-induced transformation specific antigen: presence of antibodies in cats that were naturally exposed to leukemia virus. — *Virology*, 1979, vol. 95, p. 581—586.
- Sliski A. H., Essex M., Meyer C., Todaro G.* Feline oncoranvirus-associated cell membrane antigen: expression in transformed nonproducer mink cells. — *Science*, 1977, vol. 196, p. 1336—1339.
- Snyder H., Phillips K., Dutta-Choudhury M. et al.* Biochemical and serological aspects of proteins induced in cells transformed by FeLV and FeSV. — In: *Feline leukemia virus*. — *Proc. 3rd Intern. Meet. New York*, 1980, p. 415—430.
- Soriano F., Shelburne Ch., Gökcen M.* Simian virus 40 in a human cancer. — *Nature*, 1974, vol. 249, p. 421—424.
- Soule H., Lanford R., Butel J.* Antigenic and immunogenic characteristics of nuclear and membrane-associated simian virus 40 tumor antigen. — *J. Virol.*, 1980, vol. 33, p. 887—901.
- Spelsberg T., Sculley T., Pikler G. et al.* Evidence for two classes of chromatin-associated Epstein-Barr virus determined nuclear antigen. — *J. Virol.*, 1982, vol. 43, p. 555—565.
- Springer G., Desai P.* Blood group MN antigens and precursors in normal and malignant human breast glandular tissue. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1975, vol. 54, p. 2.
- Springer G., Desai P., Yang H., Murthy M.* Carcinoma associated blood group MN precursor antigens against which all human possess antibodies. — *Clin. Immun. Immunopathol.*, 1977, vol. 7, p. 426—441.
- Stéhelin D., Saule S., Roussel M., Pluquet N.* Genetic content and possible origin of defective avian leukemia retroviruses. — In: *Viruses natur. occurring cancers. Book A.* New York: Cold Spring Harbor Lab., 1980, p. 577—585.
- Stellner K., Hakomori S.* Enzymic conversion of "H₁-glycolipid" to A- or B-glycolipid and deficiency of these enzyme activities in adenocarcinoma. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1973, vol. 55, p. 439—445.
- Stephenson J., Essex M., Hino S. et al.* Feline oncornavirus-associated cell-membrane antigen (FOCMA): distinction between FOCMA and the major virion glycoprotein. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1977, vol. 74 p. 1219—1223.
- Steplewski Z., Herlyn M., Herlyn D. et al.* Reactivity of monoclonal anti-melanoma cells freshly-isolated from primary and metastatic melanoma. — *Eur. J. Immunol.*, 1979, vol. 9, p. 94.
- Stoian M., Hozoc M., Josipenco M. et al.* Presence of antibodies to human cytomegalovirus in patients with different forms of cancer and in other categories of subjects. — *Rev. Roum. Med., Ser. Virol.*, 1982, vol. 33, p. 153—161.
- Stow N., Wilkie N.* An improved technique for obtaining enhanced infectivity with herpes simplex virus type I DNA. — *J. Gen. Virol.*, 1976, vol. 33, p. 447—458.
- Strnad B., Aurelian L.* Proteins of herpesvirus type 2. III. Isolation and immunological characterization of a large molecular weight viral protein. — *Virology*, 1978, vol. 87, p. 401—415.

- Suh M.* Characterization of a polypeptide present in herpes simplex type 2-transformed and infected hamster embryo cells. — *J. Virol.*, 1982, vol. 41, p. 1095—1098.
- Suh M., Kessous A., Poirier N., Simard R.* Immunoprecipitation of polypeptides from hamster embryo cells transformed by herpes simplex virus type 2. — *Virology*, 1980, vol. 104, p. 303—311.
- Swan D., Oskarsson M., Keithley D. et al.* Chromosomal localization of the Moloney sarcoma virus mouse cellular (c-mos) sequence. — *J. Virol.*, 1982, vol. 44, p. 752—754.
- Tabuchi K., Lehman J., Kirsch W.* Immunocytochemical localization of simian virus 40 T-antigen with peroxidase labelled antibody fragments. — *J. Virol.*, 1976, vol. 17, p. 668—671.
- Tai C.* Immunochemical analysis of antigenic properties of human stomach cancer. — *Acta Med. Okayama*, 1965, vol. 19, p. 19.
- Takada K., Osato T.* Analysis of the transformation of human lymphocytes by Epstein-Barr virus. I. Sequential occurrence from the virus-determined nuclear antigen synthesis to blastogenesis, to DNA synthesis. — *Intervirology*, 1979, vol. 11, p. 30—39.
- Takasugi M., Mickey M., Terasaki P.* Studies on specificity of cell-mediated immunity to human tumors. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1974, vol. 53, p. 1527.
- Takemoto K., Mullarkey M.* Human papovavirus BK. — *J. Virol.*, 1973, vol. 12, p. 625.
- Tanaka H., Murakami A.* Studies on the virions found associated with human adult T cell leukemia. — In: *Annu. Rept. Inst. Virus Res. Kyoto Univ. Osaka*, 1981, vol. 24, p. 32.
- Tarro G., Sabin A. B.* Virus-specific, labile nonvirion antigen in herpesvirus-infected cells. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1970, vol. 65, p. 753.
- Tarro G., Flaminio G., Cocchiara R. et al.* Herpes simplex virus tumor-associated antigen (HSV-TAA) detected by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). — In: *Role Viruses Hum. Cancer. Proc. 1st Int. Congr. Viral Oncol. T. and L de Beaumont Bonelli Found. Cancer Res. New York*, 1980, p. 109—115.
- Taylor-Papadimitriou J., Peterson J., Arklie J. et al.* Monoclonal antibodies to epithelium-specific components of the human milk fat globule membrane: production and reaction with cells in culture. — *Int. J. Cancer*, 1981, vol. 28, p. 17—21.
- Tegtmeyer P., Schwartz M., Collins J. K., Rundell K.* Regulation of tumor antigen synthesis by simian virus 40 gene A. — *J. Virol.*, 1975, vol. 46, p. 168—178.
- Tellem M., Plotkin H.* Studies of blood group antigens in benign and malignant human breast tissue. — *Cancer Res.*, 1963, vol. 23, p. 1528.
- Tevethia M., Tevethia S.* Biology of simian virus 40 (SV40) transplantation antigen (TrAg). III. Involvement of SV40 gene A in the expression of TrAg in permissive cells. — *Virology*, 1977, vol. 81, p. 212—223.
- Thomson D., Krupey J., Freedman S. et al.* The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigens of the human digestive system. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1969, vol. 64, p. 161.
- Ting C.* Failure to induce transplantation resistance against polyoma tumor cells with syngeneic embryonic tissues. — *Nature*, 1968, vol. 217, p. 858—859.
- Todaro G. J.* RNA-tumor-virus genes and transforming genes: patterns of transmission. — *Brit. J. Cancer*, 1978, vol. 37, p. 139—158.
- Varmus H., Hughes S., Shank P. et al.* Mapping of virus-specific DNA in avian sarcoma virus (ASV)-infected and uninfected cells. — In: *Abstr. 4th Intern. Congr. Virol. Wageningen: Hague*, 1978, p. 362.
- Vigna R., Breitman M., Moscovici C., Vogt P.* Restitution of fibroblast-transforming ability in src deletion mutants on avian sarcoma virus during animal passage. — *Virology*, 1979, vol. 93, p. 413—426.
- Vogt P.* Genetics of RNA tumor viruses. — In: *Comprehensive Virol./Ed. H. Fraenkel-Conrat, R. Waggner. New York—London*, 1977, vol. 9, p. 341—455.

- Wang Lu-Hai, Snyder P., Hanafusa T., Hanafusa H. Evidence for the common origin of viral and cellular sequences involved in sarcomagenic transformation. — *J. Virol.*, 1980, vol. 35, p. 52–54.
- Watanabe K., Hakomori S. Status of blood group carbohydrate chains in ontogenesis and oncogenesis. — *J. Exp. Med.*, 1976, vol. 144, p. 644.
- Watkins W. Glycosyltransferase product of the ABH and Le genes and their relationship to the structure of the blood group antigens in human blood groups. — In: 5th Int. Conconvat. Immunol. Buffalo, 1976, p. 134.
- Watkins W. Blood group gene specified glycosyltransferases in rare ABO groups and leukaemia. — *Rev. Fr. Transf. Immuno-hemat.*, 1978, vol. 21, p. 201–228.
- Watson R., Oskarsson M., Vande Woude G. Human DNA sequence homologous to the transforming gene (mos) of Moloney murine sarcoma virus. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1982, vol. 79, p. 4078–4082.
- Weinstein R., Alroy J., Farrow G. et al. Blood group isoantigen deletion in carcinoma in situ of the urinary bladder. — *Cancer*, 1979, vol. 43, p. 661–668.
- Weiss R. The myc oncogene in man and birds. — *Nature*, 1982, vol. 299, p. 9–10.
- Weiss A., Portmann R., Fisher H. et al. Simian virus 40-related antigens in three human meningiomas with defined chromosome loss. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1975, vol. 72, p. 609–613.
- Winkelmann R., Solie B. Isoantigens A, B, H in normal skin and tumors of the epidermal appendages. — *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1979, vol. 103, p. 586–590.
- Witte O., Rosenberg N., Baltimore D. Preparation of syngeneic tumor regression serum reactive with the unique determinants of the Abelson murine leukemia virus-encoded P120 protein at the cell surface. — *J. Virol.*, 1979, vol. 31, p. 776–784.
- Woodbury R., Brown J., Yeh M.-Y. et al. Identification of a surface protein, p97, in human melanomas and certain other neoplasms. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1980, vol. 77, p. 2183.
- Woodard B., Ferguson B., Georgiade N. et al. Blood group-related antigens in lesions of the human mammary gland. — *Lab. Invest.*, 1980, vol. 42, p. 162.
- Wyke J. A., Kurth R. Reversion of temperature sensitive transformation mutants of Rous sarcoma virus and its effect on the expression of tumor specific surface antigen. — *J. Gen. Virol.*, 1978, vol. 40, p. 701–704.
- Yamamoto N., Zur Hausen H. Tumour promoter TPA enhances transformation of human leukocytes by Epstein-Barr virus. — *Nature*, 1979, vol. 280, N 5719, p. 244–245.
- Yeh M.-Y., Hellström I., Brown J. et al. Cell surface antigens of human melanoma identified by monoclonal antibody. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, p. 2927–2931.
- Yeh M.-Y., Hellström I., Hellström K. Clonal variation in expression of A human melanoma antigen defined by a monoclonal antibody. — *J. Immunol.*, 1981, vol. 126, p. 1312–1317.
- Yoshida M., Miyoshi I., Hinuma Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1982, vol. 79, p. 2031–2035.
- Zur Hausen H., Schulte-Holthausen H. Presence of EB virus nucleic acid homology in a "virus-free" line of Burkitt tumour cells. — *Nature*, 1970, vol. 227, p. 245–248.

KOSJAKOV P. N., KOSJAKOVA N. P. **Antigens of human malignancies.** USSR AMS. — M.: Meditsina, 1985, 272 pp., ill.

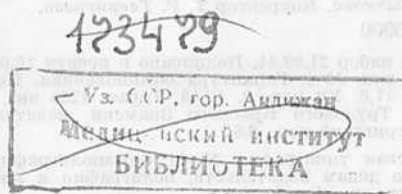
KOSJAKOV P. N. Doctor of Medicine, Academician of the USSR AMS, Head of Department of Immunology, D. I. Ivanovsky Virology Institute, USSR AMS, Moscow, KOSJAKOVA N. P. Candidate of Sciences (Med.) at the same Institute.

The authors give the description of the antigens common to the normal and tumor cells, including the antigens of AB0(H) system et al., which characterize the profound antigenic relationship between cancer and normal tissues. The concentration of AB antigens may decrease in tumor cells and in metastases especially. The disappearance of organ-specific antigens was also observed in tumors. On the other hand, carcinoembryonic antigens and T-antigens (Thomsen) have reached higher levels in cancer patients than in normal individuals. The authors provide extensive literature data and the results of their own investigations. They present evidence that neoantigens, different from those of normal cells, arise in tumors. There is the description of specific antigens of tumors, induced by carcinogenic agents, RNA- and DNA-tumor viruses, and antigens of "spontaneous" tumors, which are in fact the majority of human malignancies. Some tumors in man have been shown to contain closely related or identical antigens, but some of them—different antigenic specificities. The antigenic relationship between some tumors and differences of the others don't depend on the tumor localization and structure or the blood group of patients.

The differentiation between spontaneous human tumors and virus- or chemically-induced malignancies may be based on the character of their antigenicity. Human spontaneous tumors are in the middle position between individually-specific chemically-induced tumors and virus-induced tumors which carry common antigens. The description of the cell-mediated immunity and humoral immune host response to tumor progression is the subject of special part of the monograph. The questions of the unresponsiveness of the host to spontaneous tumor growth as compared to virus-induced tumors, are also discussed. In the last part of the monograph the authors are considering the questions of the role of immunology in solution of the theoretical and practical problems of tumor malignancies, the possibilities of the use of immune reactions for specific diagnosis prophylaxis and therapy.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Введение	4
ЧАСТЬ I. АНТИГЕНЫ, ОБЩИЕ ДЛЯ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК	9
Глава 1. Видоспецифические антигены и антигены гистосовместимости системы HLA	9
Глава 2. Антигены системы АВ0(Н)	15
Глава 3. Антигены систем MN, Т (Томсена), Ii, Р, Rh	37
Антигены системы MN	38
Антигены Т (Томсена)	41
Антигены Ii	45
Антигены системы Р	46
Изоантигены системы Rh	48
Глава 4. Органоспецифические антигены	49
Глава 5. Антиген Форсмана	57
Глава 6. Эмбриональные антигены	61
ЧАСТЬ II. АНТИГЕНЫ, СПЕЦИФИЧНЫЕ ДЛЯ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА	77
Глава 7. Антигены опухолей, индуцированных химическими канцерогенами	77
Глава 8. Вирусиндуцированные антигены	86
Новые антигены, индуцированные онкогенными аденовирусами и паповавирусами	90
Новые антигены, индуцированные вирусами герпеса	100
Новые антигены, индуцированные ретровирусами	123
Глава 9. Антигены опухолей спонтанного происхождения	153
Моноклональные антитела для выявления антигенов опухолей	188
ЧАСТЬ III. ИММУННЫЙ ОТВЕТ ОРГАНИЗМА НА ОПУХОЛЬ	205
Глава 10. Иммунологический надзор за возникновением и развитием опухолей	207
Противоопухолевая активность лимфоцитов	210
Противоопухолевая активность макрофагов	215
Антитела и противоопухолевый иммунитет	219
Феномен иммунологического усиления роста опухолей	227
ЧАСТЬ IV. ИММУНОЛОГИЯ В РЕШЕНИИ ТЕОРЕТИЧЕСКИХ И ПРАКТИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА	233
Заключение	249
Список литературы	255



CONTENTS

Preface	3
Introduction	4
PART I. ANTIGENS COMMON TO NORMAL AND TUMOR CELLS	9
Chapter 1. Species-specific antigens and histocompatibility antigens of HLA system	9
Chapter 2. Antigens of AB0 (H) blood group system	15
Chapter 3. Antigens of MN, T (Thomsen), II, P, Rh systems	37
Chapter 4. Organ-specific antigens	49
Chapter 5. Forssman antigen	57
Chapter 6. Oncofetal antigens	61
PART II. TUMOR-SPECIFIC ANTIGENS	77
Chapter 7. Antigens of chemically induced tumors	77
Chapter 8. Virus-induced antigens	86
Chapter 9. Antigens of spontaneous tumors	153
PART III. IMMUNE RESPONSE OR THE HOST TO TUMORS	205
Chapter 10. Immunologic surveillance of development of tumors	207
PART IV. IMMUNOLOGY IN SOLUTION OF THEORETICAL AND PRACTICAL PROBLEMS OF MALIGNANT DISEASE IN MAN	233
Conclusion	249
References	255

ПАВЕЛ НИКОЛАЕВИЧ КОСЯКОВ
НАТАЛЬЯ ПАВЛОВНА КОСЯКОВА
Антигены опухолей человека

Зав. редакцией И. А. Сидоров. Редактор Е. А. Гоголина. Художественный редактор С. М. Лымина. Оформление художника А. Е. Григорьева. Технический редактор Н. М. Бычкова. Корректор Т. Р. Тверитнева.

ИБ № 3900

Сдано в набор 21.09.84. Подписано к печати 16.04.85. Т-04384. Формат бумаги 60×90¹/₁₆. Бумага тип. № 1. Гарнитура обыкновенная. Печать высокая. Усл. печ. л. 17,0. Усл. кр.-отт. 17,0. Уч.-изд. л. 19,43. Тираж 1225 экз. Заказ № 384. Цена 3 р. 20 к. Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина». 103062, Москва, Петроверигский пер., 6/8

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 113105, Москва, Нагатинская ул., 1