

Д. К. НОВИКОВ, Г. П. АДАМЕНКО

**ПОДАВЛЕНИЕ МИГРАЦИИ IN VITRO ЛЕЙКОЦИТОВ
БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭКСТРАКТАМИ АУТОЛОГИЧНЫХ
И ГОМОЛОГИЧНЫХ ОПУХОЛЕЙ**

(Представлено академиком Б. В. Петровским 25 II 1974)

Клинические данные указывают на наличие у опухоленосителя иммунной реакции против аутохтомной опухоли (^{5, 11, 13}) и сенсibilизации к антигенам гомологичных опухолей того же происхождения (^{1, 2, 8, 9}). Лимфоциты больных злокачественными опухолями оказывают специфическое цитотоксическое действие in vitro на клетки культур соответствующих опухолей (^{5, 7, 14}). Сыворотка опухоленосителей может отменять этот эффект лимфоцитов (^{12, 14}). Методом ингибиции миграции макрофагов и лейкоцитов in vitro также обнаружена сенсibilизация опухоленосителей к антигенам некоторых опухолей (^{4, 6, 10}).

Используя метод ингибиции миграции лейкоцитов из капилляров (⁵) в нашей модификации, позволившей значительно улучшить его воспроизводимость и увеличить чувствительность, нами была изучена сенсibilизация лейкоцитов больных раком желудка и мочевого пузыря (диагноз подтвержден гистологически) к антигенам аутологичных и гомологичных опухолей. Антигенами служили экстракты опухолей, удаленных во время операции, и прилежащих (1,5–4 см) участков нормальной слизистой, полученные после центрифугирования при 1000 об/мин в течение 10 мин. их гомогенатов. Экстракты, хранившиеся в ампулах при –4°, сохраняли антигенную активность больше 6 мес. Антигены добавляли к суспензиям лейкоцитов до конечной концентрации белка (определение по Лоури) 2–8 мг/мл.

7–10 мл гепаринизированной крови, взятой накануне операции у больных и контрольных лиц, оставляли на 1–1,5 часа при 4°. Затем отсасывали верхний слой лейкоцитов с плазмой и центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин. Плазму отсасывали, а к осадку добавляли 9 объемов 0,84% NH₄Cl и ресуспензировали. Через 3–5 мин., когда наступил гемолиз эритроцитов, центрифугировали при 500 об/мин 5 мин. Осадок лейкоцитов отмывали 2 раза средой № 199 и ресуспензировали в культуральной среде (среда № 199+20% соответствующей плазмы+по 100 ед/мл пенициллина и стрептомицина) до концентрации 3,5–10 млн/мл. К суспензиям лейкоцитов, приготовленных в среде на «опухолево́й» и контрольной плазме, добавляли антигены: 1) аутологичной опухоли; 2) аутологичной соответствующей нормальной слизистой; 3) гомологичных опухолей того же гистогенеза (иногда до 3 разных антигенов); 4) соответствующей им нормальной слизистой; 5) опухолей других локализаций; 6) соответствующей им нормальной ткаши; 7) растворитель антигена. Полученными суспензиями лейкоцитов заполняли стеклянные капилляры (по 5 шт. на каждую разновидность, всего до 200–230 шт.) и помещали их в пробирки с соответствующей им средой на 24 часа при 37°. После этого определяли индексы миграции лейкоцитов (и.м.л.) из капилляров, используя которые, вычисляли индексы подавления или стимуляции миг-

рации лейкоцитов (и.п.м.л., и.с.м.л.) $\frac{\text{и.п.м.л.}}{\text{и.с.м.л.}} = \frac{\text{и.м.л. с антигеном}}{\text{и.м.л. без антигена}} \times 100.$

Достоверность различий между и.м.л. определяли по Стьюденту (критерий *t*).

Рак желудка. Аутологичные опухолевые антигены, испытанные в 10 случаях, подавляли миграцию лейкоцитов (и.п.м.л. < 100) на обеих плазмах у 2 больных, у 3 других — только на контрольной плазме и у 2 — только на опухолевой плазме. В остальных случаях такие антигены или не влияли на миграцию лейкоцитов, или стимулировали их миграцию (и.с.м.л. > 100) на обеих, на одной контрольной или опухолевой плазме. В некоторых таких случаях стимуляция миграции лейкоцитов зависела от свойств антигенов, а не лейкоцитов, так как они стимулировали миграцию контрольных лейкоцитов.

Аутологичные антигены слизистой желудка тех же больных подавляли миграцию в 4 случаях из 10: в 2 только на опухолевой плазме и в 2 других — на контрольной. Стимуляция миграции лейкоцитов наблюдалась в 3 случаях: в одном — на обеих плазмах и по одному только на контрольной и опухолевой.

При культивировании лейкоцитов больных с гомологичными антигенами рака желудка в 8 случаях из 11 происходило подавление их миграции с одним или с несколькими такими антигенами. Однако эти антигены не влияли на лейкоциты больного доброкачественным полипом желудка, хотя подавляли миграцию лейкоцитов больных малигнизированными полипами. В 2 других случаях, в которых не было подавления миграции лейкоцитов (п.м.л.), иногда наблюдалась стимуляция их миграции. Один из этих больных был неоперабельным. У другого наблюдалось п.м.л. через 2 недели после удаления большой опухоли.

Сравнение реактивности лейкоцитов опухоленосителей в аутологичной и контрольной плазмах показало, что п.м.л. было только у одного больного на опухолевой, но не на контрольной плазме в присутствии гомологичных опухолевых антигенов. У 5 же больных п.м.л. под влиянием тех же антигенов имелось только на плазме контрольных лиц. Следовательно, аутологичная плазма опухоленосителя блокировала эффект п.м.л. этих больных (у 3 из них такое же явление наблюдалось с аутологичными антигенами опухолей).

Гомологичные антигены слизистой желудка, взятой возле опухоли, давали п.м.л. только у одного больного из 6 испытанных и только на контрольной, но не на опухолевой плазме. Так как те же антигены не оказывали такого влияния ни на лейкоциты других опухоленосителей, ни на лейкоциты контрольных лиц, то, по-видимому, у этого больного имелась, как и в случаях с аутологичными антигенами слизистой, сопутствующая сенсбилизация к ее нормальным компонентам. В 3 случаях эти антигены стимулировали миграцию лейкоцитов, что могло объясняться очень слабой сенсбилизацией к ним.

Антиген рака прямой кишки не влиял на миграцию лейкоцитов 2 больных раком желудка, однако антиген рака сигмовидной кишки подавлял миграцию лейкоцитов одного больного из 3 испытанных.

Одновременно с лейкоцитами опухоленосителей культивировали с теми же антигенами лейкоциты 12 контрольных лиц (больных острым аппендицитом — 3; фиброзно-кистозной мастопатией молочной железы — 3; липомой бедра — 1; туберкулезом легкого — 2; здоровых лиц — 3). Аутологичные опухолевые антигены подавляли миграцию лейкоцитов в 3 случаях (контрольных) из 10 на опухолевой, но не на контрольной плазме, что обусловлено взаимодействием антигенов с «фактором плазмы» опухоленосителя. У 2 тех же контрольных лиц и у третьего (не контрольного) такое же действие оказывали гомологичные опухолевые антигены и тоже только на «опухоловой» плазме. Кроме того, были испытаны с гомологичными антигенами рака желудка лейкоциты 4 больных язвенной болезнью желудка. У одного из них антиген рака желудка подавлял миграцию лейкоцитов. Доказательств малигнизации язвы пока не получено.

Рак мочевого пузыря. Обследовано 13 больных (возраст 50—75 лет) раком мочевого пузыря (р.м.п.) I—IV стадии. Аутологичные опухолевые антигены подавляли миграцию лейкоцитов во всех 5 случаях на обеих или только на контрольной плазме (табл. 1). Антигены аутологичной слизистой подавляли миграцию лейкоцитов только у одного больного. Антигены гомологичного р.м.п. подавляли миграцию лейкоцитов 11 из 13 больных, причем у 6 на обеих плазмах, а у 5 — только на контрольной (блокировка реакции плазмой опухоленосителя). Два больных, лейкоциты которых дали отрицательную реакцию, были неоперабельными и имели гистологическую форму рака, отличавшуюся от опухолей, использованных в

Таблица 1

Результаты изучения подавления миграции лейкоцитов больных раком мочевого пузыря экстрактами аутологичных и гомологичных опухолей *

№№ п.п.	Испытанный антиген	Число больных	П.м.п.			Блокировка п.м.п. плазмой опухоленосителя	Отсутствие эффекта
			на обеих плазмах	на опухолевой плазме	на контрольной плазме		
1	Аутологичный опухолевый	5/5	2/—	—	3/1	3/1	—/4
2	Аутологичный нормальный	3/3	—	1/1	—	—	2/2
3	Гомологичный, рака мочевого пузыря	13/16	6/1	—/3	5/—	5/—	2/12
4	Гомологичный, слизистой мочевого пузыря	13/16	—	—	2/—	2/—	11/16
5	Гомологичный, рака желудка	10/10	—	2/1	2/—	Не испыт.	6/9
6	Гомологичный, слизистой желудка	10/6	—	—	1/—	» »	9/6

* Слева от черты — число больных р.м.п., справа от черты — число контрольных больных.

качестве антигенов. Антигены гомологичной слизистой мочевого пузыря больных раком подавляли миграцию лейкоцитов в 2 случаях из 13, что, возможно, объясняется их органоспецифической сенсibilизацией, так как те же антигены не влияли на миграцию лейкоцитов контрольных лиц и других больных р.м.п. Гомологичные антигены рака желудка подавляли миграцию лейкоцитов больных р.м.п. в 4 случаях из 10, что, видимо, указывает на антигенную общность этих опухолей. Соответствующий антиген слизистой желудка дал такое подавление миграции только в одном случае (табл. 1).

Из 16 контрольных больных (8 — мочекаменная болезнь, 2 — турбекулез почки и мочевыводящих путей, 1 — рак почки, 1 — хронический простатит, 4 — хронический цистит) лишь у одного хронического простатитом было подавление миграции лейкоцитов на обеих плазмах гомологичным антигеном р.м.п. У 3 же других больных оно имелось только на «опухолевой» плазме.

Полученные нами данные показывают, что 1) лейкоциты больных раком сенсibilизированы против антигенов аутологичных и гомологичных опухолей того же гистогенеза, а в некоторых случаях и к антигенам опухолей той же тканевой группы (эпителиальные опухоли); 2) такая сенсibilизация редко выявляется к антигенам «нормальной» слизистой того же органа; 3) активность опухолевых антигенов длительно сохраняется;

4) плазма опухоленосителя нередко предотвращает подавление миграции лейкоцитов опухоленосителя под влиянием антигена опухоли, но вместе с последним может подавлять миграцию лейкоцитов контрольных лиц; 5) метод подавления миграции лейкоцитов *in vitro* можно использовать для иммунодиагностики опухолей.

Витебский государственный
медицинский институт

Поступило
12 II 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. Н. Аверкиева, А. Х. Трахтенберг, *Вопр. онкол.*, № 8, 20 (1970). ² В. В. Гордилова, З. М. Сараева и др., *Вопр. онкол.*, № 3, 23 (1973). ³ G. Bendixen, M. Söborg, *Danish Med. Bull.*, v. 16, 1 (1969). ⁴ M. Braun, *Blood*, v. 39, № 3, 6, 368 (1972). ⁵ J. Bubenik et al., *Int. J. Cancer*, v. 5, № 3, 310 (1970). ⁶ S.-Y. Chen et al., *Am. J. Obstetr. and Gynecol.*, v. 115, № 4, 467 (1973). ⁷ G. A. Currie et al., *Brit. Med. J.*, № 5757, 305 (1971). ⁸ L. Fass et al., *Lancet*, v. 1, 116 (1970). ⁹ H. Febvre et al., *C. R. Acad. Sci.*, D275, № 19, 2191 (1972). ¹⁰ M. S. Goldstein et al., *Am. J. Obstetr. and Gynecol.*, v. 111, № 6, 751 (1971). ¹¹ J. Hellström et al., *Nature*, v. 220, 1352 (1968). ¹² *Idem*, *Int. J. Cancer*, v. 11, № 2, 280 (1973). ¹³ L. E. Hughes, B. Lytton, *Brit. Med. J.*, v. 1, 209 (1964). ¹⁴ S. M. Jagarlamody et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 68, № 6, 1346 (1971).