

В. И. КАЛЕДИН, Е. В. ГРУНТЕНКО

## МОДИФИКАЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ОПУХОЛЬ ОТВЛЕЧЕНИЕМ НЕФИКСИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ

(Представлено академиком Д. К. Беляевым 3 II 1975)

Неоднократно показано, что введение вакцины БЦЖ в смеси с трансплантируемыми клетками ряда экспериментальных опухолей приводит к снижению прививаемости и к последующему торможению их роста (<sup>1-3</sup>). Изучая влияние БЦЖ на рост солидной формы карциномы Кребс-2 у мышей, мы подтвердили это наблюдение, а также обнаружили, что введение вакцины в отдаленное от района перевивки опухоли место стимулирует ее рост (<sup>4</sup>). Было высказано предположение, что полученный эффект обусловлен отвлечением макрофагов из места трансплантации опухолевых клеток в район локализации БЦЖ и снижением вследствие этого действия неспецифических (фагоцитоз) и (или) специфических (иммунный ответ) факторов противоопухолевой резистентности (<sup>4</sup>). Если это предположение верно, то воздействие на популяцию нефиксированных макрофагов может стать новым инструментом регуляции иммунного ответа на опухолевые и другие антигены. Известно, что интраперитонеальное введение некоторых веществ, в частности крахмала (<sup>5</sup>), приводит к миграции макрофагов в брюшную полость. В работе мы ставили задачу выяснить, будет ли экспериментальное отвлечение макрофагов в брюшную полость животных модифицировать иммунный ответ на трансплантированные опухолевые клетки.

В опытах использованы 2—5-месячные линейные мыши собственной разводки вивария Института цитологии и генетики СО АН СССР. Штамм карциномы Кребс-2 поддерживали в асцитной форме на мышях линии СС57BR. Для перевивки опухоли животным, находящимся в опыте, асцит разбавляли физиологическим раствором до концентрации  $2 \cdot 10^5 - 2 \cdot 10^6$  клеток в 1 мл и вводили в мышцу бедра по 0,1 мл на 1 мышшь. Подопытным и контрольным животным опухоль перевивали одновременно, чередуя по одному животному из каждой группы. Вакцину БЦЖ Ташкентского научно-исследовательского института вакцин и сыворок суспендировали в физиологическом растворе и вводили в объеме 0,1 мл в мышцу контралатерального бедра непосредственно перед перевивкой опухоли. В качестве агента, привлекающего макрофаги в брюшную полость, использовали крахмал (<sup>5</sup>) который вводили в виде 3% суспензии в физиологическом растворе по 1 мл на 1 мышшь за 1—5 час. до трансплантации опухолевых клеток. Учет роста опухолей осуществляли по частоте их перевивки, а также по весу, определяемому как разница между весом ноги с опухолью и контралатеральной ноги. Достоверность результатов оценивали по Стьюденту.

Из данных, представленных в табл. 1, видно, что при перевивке опухоли дозой  $2 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$  клеток введение 0,5 мг БЦЖ приводит к достоверной стимуляции ее роста у животных всех использованных линий. Снижение дозы вакцины и увеличение дозы перевиваемых опухолевых клеток заметно снижает действие БЦЖ, однако и в этих случаях стимулирующий эффект, как правило, достаточно выражен.

Внутрибрюшинное введение крахмала также увеличивает прививаемость и ускоряет рост опухолей у мышей по сравнению с контролем (табл. 2). Как и БЦЖ стимулирующее действие крахмала уменьшается при увеличении дозы перевиваемых опухолевых клеток.

При сопоставлении эффектов, полученных при применении использованных доз и способов введения крахмала и БЦЖ, обращает на себя вни-

Таблица 1

Влияние контралатерального введения вакцины БЦЖ на прививаемость и рост солидной формы карциномы Кребс-2 у мышей

Линия и пол животных	Группы животных	Доза опухолевых клеток	Доза БЦЖ, мг	Число животных с опухолью/ всего животных	Средний вес опухолей в конце эксперимента, г	P
CC57BR, самцы	I	2·10 <sup>4</sup>	0,5	12/13	—	<0,001
	II	2·10 <sup>4</sup>	0,5	2/13	—	
BALB/c, самцы	I	2·10 <sup>4</sup>	0,5	12/16	—	<0,01
	II	2·10 <sup>4</sup>	0,5	3/16	—	
C57BL, самки	I	5·10 <sup>4</sup>	0,5	11/11	0,57±0,10	<0,01
	II	5·10 <sup>4</sup>	0,5	7/11	0,15±0,05	
DD, самцы	I	1·10 <sup>5</sup>	0,5	22/22	0,59±0,03	<0,001
	II	1·10 <sup>5</sup>	0,5	17/22	0,11±0,03	
A/He, самки	I	1,5·10 <sup>5</sup>	0,3	16/16	0,49±0,04	<0,01
	II	1,5·10 <sup>5</sup>	0,3	16/16	0,33±0,04	
A/He, самцы	I	1,5·10 <sup>5</sup>	0,3	11/11	0,66±0,06	>0,05
	II	1,5·10 <sup>5</sup>	0,3	11/11	0,53±0,06	

Таблица 2

Влияние внутрибрюшинного введения крахмала на рост внутримышечного трансплантата карциномы Кребс-2 у мышей

Линия и пол животных	Группы животных	Доза опухолевых клеток	Число животных с опухолью/ всего животных	Средний вес опухолей в конце эксперимента, г	P
CC57BR, самцы	Опыт	2·10 <sup>4</sup>	10/14	—	<0,001
	Контроль	2·10 <sup>4</sup>	1/14	—	
C3H/He, самцы	Опыт	2·10 <sup>4</sup>	13/14	—	<0,001
	Контроль	2·10 <sup>4</sup>	2/15	—	
C57BL, самцы	Опыт	2·10 <sup>4</sup>	11/15	—	<0,01
	Контроль	2·10 <sup>4</sup>	3/15	—	
C3H/He, самцы	Опыт	1·10 <sup>5</sup>	13/13	1,08±0,09	<0,001
	Контроль	1·10 <sup>5</sup>	10/13	0,38±0,07	
DD, самцы	Опыт	1·10 <sup>5</sup>	22/22	0,76±0,04	<0,01
	Контроль	1·10 <sup>5</sup>	22/22	0,59±0,04	
C3H/He, самки	Опыт	2·10 <sup>5</sup>	22/22	0,75±0,04	<0,001
	Контроль	2·10 <sup>5</sup>	22/22	0,44±0,04	

мание их одинаковая величина. Сравнение действия этих факторов в прямом эксперименте, поставленном на самцах линии CC57BR, показало, что опухоли перевелись у всех 13 животных, получавших крахмал, и у 12 из 13 мышей, получавших по 0,5 мг вакцины БЦЖ. Средний вес опухолей в этих группах был соответственно 2,74±0,26 и 2,42±0,30 г. В контроле же опухоли к моменту забоя возникли только у 2 из 13 животных.

Из данных табл. 3, видно, что облучение и гидрокортизон стимулируют рост опухоли в такой же степени, как БЦЖ или крахмал. Сочетание же облучения и гидрокортизона, с одной стороны, и крахмала, с другой, не приводит к какому-либо дополнительному увеличению стимуляции роста опухолей по сравнению с той, которая наблюдается при действии этих факторов по отдельности. Это говорит в пользу того, что их действие реализуется через одни и те же биологические механизмы. Облучение и гидрокортизон являются классическими факторами иммунодепрессии, и их эффект в данном случае, несомненно, вызван подавлением иммунитета. Подтверждают это и приведенные в табл. 3 данные, показывающие, что облучение и гидрокортизон снимают эффект иммунизации мышей опухолевыми клетками. Усиление опухолевого роста у животных, получавших крахмал, также, следовательно, обусловлено снижением иммунного отве-

Таблица 3

Влияние крахмала и иммунодепрессии, вызванной облучением и гидрокортизоном, на рост карциномы Krebs-2 у неиммунных и иммунизированных мышей

Линия и пол животных	Группа животных	Число животных	Воздействие до перевивки опухоли ( $1 \cdot 10^6$ клеток)	Средний вес опухолей в конце эксперимента, г	P
СЭН/Не, самки	I	22	Контроль	$0,44 \pm 0,03$	$P_{I-II} < 0,001$
	II	23	Иммунизация *	$0,14 \pm 0,03$	$P_{I-II} < 0,001$
	III	22	Иммунодепрессия **	$0,72 \pm 0,03$	$P_{I-III} < 0,001$
	IV	23	Иммунизация * + иммунодепрессия **	$0,87 \pm 0,03$	$P_{I-IV} < 0,001$
	V	22	Крахмал	$0,75 \pm 0,03$	$P_{I-V} < 0,001$
	VI	22	Иммунодепрессия ** + крахмал	$0,69 \pm 0,03$	$P_{II-V} > 0,05$ $P_{III-V} > 0,05$ $P_{IV-V} > 0,05$
СС57BR, самцы	I	12	Контроль	$0,65 \pm 0,11$	$P_{I-II} < 0,001$
	II	12	Иммунодепрессия **	$1,28 \pm 0,03$	$P_{I-II} < 0,001$
	III	12	Крахмал	$1,21 \pm 0,08$	$P_{II-III} > 0,05$

\* Иммунизация введением в брюшную полость  $6 \cdot 10^5$  опухолевых клеток, облученных на установке ГУВЭ-4000 дозой  $10^4$  рад, за 3 дня до перевивки опухоли.

\*\* Облучение на установке РУП-150/300-10-1 дозой  $400 \text{ p} + 1 \text{ мг}$  гидрокортизона внутривнутрино за 24 часа до перевивки опухоли.

та на опухоль. Причиной этого снижения является, по-видимому, вовлечение в иммунный ответ меньше, чем у мышей контрольной группы, числа лимфоидных клеток вследствие уменьшения в районе локализации опухолевых клеток количества макрофагов, необходимых для запуска иммунного ответа. Неспецифический фагоцитоз, не имеющий значения для формирования иммунного ответа, осуществляется в основном фиксированными фагоцитирующими элементами тканей <sup>(6)</sup>; однако, являясь процессом радио- и гидрокортизонрезистентным <sup>(6, 7)</sup> и не модифицируясь при введении крахмала в брюшную полость животных, он не был выявлен в наших экспериментах.

Полученные нами данные, а именно отсутствие увеличения эффекта облучения и гидрокортизона введением крахмала, свидетельствуют о том, что фагоцитирование опухолевых клеток нефиксированными макрофагами само по себе не влияет существенным образом на рост опухоли. По-видимому, численность популяции таких клеток в организме невелика. Тем не менее, как следует из наших данных, нефиксированным макрофагам принадлежит решающая роль в запуске иммунного ответа на корпускулярные антигены по крайней мере при внутримышечном введении последних. Отвлечение этих клеток на крахмал снижает иммунный ответ в такой же степени, как и сублетальное облучение животных в сочетании с введением им гидрокортизона. Следовательно, этот прием может использоваться как иммунодепрессивное воздействие. Не ясно, сводится ли участие подвижных макрофагов в иммунном ответе к доставке антигена в лимфоидные органы, где осуществляется его обработка и кооперативные взаимодействия Т- и В-клеток, или они сами участвуют в обработке антигена и в кооперативных взаимодействиях с лимфоидными клетками. Этот вопрос требует специального экспериментального изучения.

Авторы благодарны доктору Вальтеру Хестону (США), приславшему мышей линии DD.

Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Академии наук СССР  
Новосибирск

Поступило  
28 I 1975

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> G. G. Bartlett, H. J. Rapp, J. Nat. Cancer Inst., v. 48, 245 (1972). <sup>2</sup> R. W. Baldwin, M. V. Pimm, Brit. J. Cancer, v. 27, 1, 48 (1973). <sup>3</sup> E. Hawrylko, G. V. Mackaness, J. Nat. Cancer Inst., v. 51, 5, 1677 (1973). <sup>4</sup> В. И. Каледин, Г. В. Ковалевский и др., Вопросы онкологии, т. 20, 7, 70 (1974). <sup>5</sup> Б. Блаум, Б. Беннет, Методы изучения in vitro клеточного иммунитета, М., 1974. <sup>6</sup> Ф. Бернет, Клеточная иммунология, М., 1971. <sup>7</sup> Р. В. Петров, А. Н. Чердаев и др., Общие вопросы патологии, т. 3, М., 1972.

\* А. Д. Адо, Патология фагоцитов, М., 1964.