

МИКРОБИОЛОГИЯ

Действительный член АМН СССР Л. А. ЗИЛЬБЕР и В. А. АРТАМОНОВА

**О ТАК НАЗЫВАЕМОЙ МАСКИРОВКЕ ОПУХОЛЕРОДНЫХ
ВИРУСОВ**

Как известно, папилломатозный вирус, вызывающий образование папиллом на коже кроликов и легко в них обнаруживаемый, не может быть выделен из раковой ткани, образующейся при малигнизации этих папиллом. Вместе с этим антитела к папилломатозному вирусу обнаруживаются не только у тех кроликов, у которых рак образовался из папилломы, но и у тех, которым была трансплантирована в ряде пассажей раковая ткань. Эти факты дали некоторым американским исследователям (Роус, Кидд и др.) основания для построения теории, согласно которой папилломатозный вирус в малигнизированной ткани связывается антителами, «маскируется» и, будучи таким образом нейтрализован, не может быть обнаружен в раковой ткани по своей способности вызывать образование папиллом. Находясь в раковой ткани в маскированном состоянии, вирус сохраняет способность образовывать антитела.

Эта теория, казалось бы, очень просто объясняющаяся очень важное для понимания патогенеза рака явление, пользуется большой популярностью и неоднократно цитировалась в прежних работах нашей лаборатории. Однако предпринятая нами экспериментальная проверка ее не подтвердила.

Процесс малигнизации не всегда идет равномерно, и на одном и том же кролике можно наблюдать как уже малигнизированные, так и не малигнизированные папилломы, особенно при втирании вируса в разные места кожи. Изучение подобных кроликов показало, что вирус легко обнаруживается в папилломатозной и не обнаруживается в раковой ткани. Если бы отсутствие вируса в раковой ткани было обусловлено нейтрализацией его антителами, то он не должен был бы обнаруживаться и в папилломатозной ткани, так как антитела находятся в крови и вместе с нею проникают в папилломатозную ткань. Эти наблюдения, многократно повторенные с теми же результатами, делали мало правдоподобной теорию маскировки вируса антителами.

В соответствии с данными, накопившимися в последнее время у нас в лаборатории и свидетельствующими о том, что при малигнизации в клетках образуются белки, отличные по своим антигенным свойствам от нормальных, естественно стал вопрос о возможной роли этих белков в маскировке папилломатозного вируса. Хорошо известно, что некоторые инфекционные вирусы теряют свою патогенность (блокируются) при контакте с некоторыми белками. Это явление хорошо изучено с вирусом гриппа, который легко блокируется папаином ⁽¹⁾. Можно было предположить, что подобный процесс имеет место и в малигнизированной ткани и что образующийся в этой ткани новый белок блокирует папилломатозный вирус. Для проверки этого предположения были поставлены нижеследующие опыты.

Раковая ткань кролика и для контроля нормальная ткань здорового кролика, хорошо и многократно отмытая от крови физиологическим рас-

твором поваренной соли, тщательно растирались в ступке с песком на холоду. Растертая ткань заливалась четырехкратным количеством 0,14 М NaCl и экстрагировалась на холоду в течение часа при непрерывном помешивании электромешалкой. Надосадочная жидкость отделялась от остатка ткани центрифугированием при 4000 об/мин при температуре +4° в течение 30 мин., а затем фильтровалась через тонкий слой ваты для удаления взвешенных частиц липоидного характера. Полученный солевой экстракт, состоящий из смеси цитоплазматических белков, смешивался с папилломатозным вирусом в различных разведениях. В качестве вируса использовалась надосадочная жидкость, полученная после центрифугирования растертой с физиологическим раствором в соотношении 1 : 4 папилломатозной ткани. Как в вирусной суспензии, так и в экстрактах тканей определялось количество белка, и соответствующим разведением это количество уравнивалось во всех изучаемых растворах. Таким образом, при их смешении в различных соотношениях всегда смешивались растворы с одним и тем же количеством белка. Вирус смешивался: 1) с экстрактами из раковой ткани, 2) с экстрактом из нормальной кожи, 3) с физиологическим раствором в соотношении 1 : 1,

Таблица 1

№№ опытов	№№ кроликов	Смесь вируса								
		с экстрактом раковой ткани			с экстрактом нормальной кожи			с физиологич. раствором		
		1:1	1:3	1:5	1:1	1:3	1:5	1:1	1:3	1:5
1	189	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	135	—	+	—	+	+	+	+	+	+
2	39	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	51	+	—	—	+	+	+	+	+	+
3	233	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	289	—	—	—	+	+	+	+	+	+

Условные обозначения: — папилломы не появились при наблюдении в течение 3 мес.; + папилломы выросли.

в соотношении 1 : 5, он оказался полностью блокированным, и при прививке смеси папилломы не выросли ни в одном случае. При меньшей концентрации в смеси экстракта из раковой ткани в двух случаях на 49 и 51-й день после втирания смеси в скарифицированную кожу выросли папилломы, которые рассосались на 63 и 67-й день. В последующих опытах обнаружилось, что вирус всегда полностью терял болезнетворность после часового контакта с одинаковым количеством белков раковой ткани.

Эти опыты показали нам, что в раковой ткани имеется какое-то вещество, блокирующее патогенную активность вируса. Представляло интерес выяснить, с какой белковой фракцией связана эта блокирующая способность. Для изучения этого вопроса были поставлены нижеследующие опыты.

Раковая ткань трижды экстрагировалась четырехкратным количеством 0,14 М раствором NaCl. Экстракты сливались вместе и из этой смеси цитоплазматических белков были выделены 50% насыщением раствора сернокислым аммонием глобулиновая фракция и затем 100% насыщением — альбуминовая. Осадки глобулина и альбумина подвергались диа-

1 : 3, 1 : 5 и оставлялся в термостате на 30 мин. Затем смесь втиралась в скарифицированную кожу кролика. Чтобы избежать влияния на результаты опытов индивидуальности животного, опытный и контрольный материал втирался одному и тому же животному и каждый раз испытывался на двух кроликах. Полученные результаты могут быть иллюстрированы некоторыми опытами, приведенными в табл. 1.

Как видно из табл. 1, папилломатозный вирус теряет свою болезнетворность после контакта с белками из раковой ткани. Во всех опытах, где вирус смешивался с экстрактом из раковой ткани в

лизу против водопроводной воды до полного удаления сернокислого аммония. Осадок глобулинов после диализа растворялся в слабо щелочном растворе, а альбумины при диализе переходили в раствор.

Остаток раковой ткани после удаления цитоплазматических белков вторично тщательно растирался с песком на холоду в течение часа. Растертая ткань обрабатывалась четырехкратным объемом охлажденного 1 М NaCl для экстрагирования структурных нуклеопротеидов. В течение 2 час. смесь непрерывно перемешивалась электромешалкой на холоду, а затем при температуре +4° оставлялась на ночь. После центрифугирования остаток заливался четырехкратным объемом 1 М NaCl и оставлялся на холоду 2 часа. Эту процедуру повторяли трижды. Все три экстракта соединялись и подвергались диализу против проточной водопроводной воды до полного удаления NaCl. При этом в осадок выпадал структурный нуклеопротеид хромозин, который растворялся в слабо подщелоченной воде. Из хромозина экстракцией соляной кислотой с последующим подщелачиванием выделялся гистон.

Полученные из раковой ткани белковые фракции — глобулин, альбумин, хромозин, гистон, а также исходный солевой экстракт, представляющий смесь цитоплазматических белков, смешивались с экстрактом, содержащим вирус в соотношении 1:1, и после инкубации в течение 30 мин. при +37° втирались в скарифицированную кожу кролика. Количество миллиграмм каждой цитоплазматической белковой фракции соответствовало ее содержанию в исходном солевом экстракте, а для белков ядерного происхождения было равным количеству папилломатозного белка. Полученные результаты иллюстрируются в табл. 2.

Таблица 2

№ опыта	№ кроликов	Смесь цитоплазматич. белков	Глобулины	Альбумины	Хромозин	Гистон	Контроль, вирус с физиол. раствором
12	278	—	—	.	.	.	+42
	243	—	—	.	.	.	+44
13	150	—	—	+27	.	.	+29
	49	—	—	+22	.	.	+29
14	205	—	—	+32	+40	+30	+37
	241	—	—	+36	+36	+26	+20
15	259	—	—	.	.	.	+40
	174	—	—	.	.	.	+32
16	164	—	—	.	.	.	+33
	258	—	—	.	.	.	+24
17	162	—	—	.	.	.	+31
	230	—	—	.	.	.	+35
18	111	—	—	+38	+31	+36	+27
	132	—	—	+32	+36	+36	+35
19	166	—	—	+34	+28	+32	+28
	285	—	—	+39	+34	+34	+26
20	264	—	—	.	.	.	+26
	259	—	—	.	.	.	+30

Условные обозначения: . опыт не поставлен, — отсутствие папиллом, + появление папиллом, цифры указывают день появления папиллом после прививки.

Как видно из табл. 2, блокирующее вещество или представляет собою глобулин или связано с ним.

Таким образом, раковая ткань кролика, в отличие от папилломатозной ткани и нормальной кожи, обладает свойством блокировать папилломатозный вирус и это ее свойство связано с глобулином.

Соответствующие опыты показали, что процесс блокировки является специфическим и не имеет места при смешении вируса папилломы с ра-

ковой тканью других опухолей (Броуна-Пирс, Роуса и др.). Так как вышеизложенные опыты ставились с раковой тканью, безусловно отмытой от крови, полученные результаты не могут быть обусловлены сывороточными антителами. Возможно, однако, что глобулин раковой ткани представляет собою белок, возникший в результате нарушения синтеза, аналогичного происходящему при образовании антител.

Институт эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалея
Академии медицинских наук СССР

Поступило
6 IV 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. И. Товарницкий, Вопросы медицинской вирусологии, I, 59 (1948).