

Действительный член АМН СССР Л. А. ЗИЛЬБЕР, Н. В. НАРЦИССОВ
и Г. И. АБЕЛЕВ

О ЛОКАЛИЗАЦИИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИГЕНОВ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ

В исследованиях нашей лаборатории, посвященных изучению специфических антигенов опухолей⁽¹⁾, мы пользовались, главным образом, нуклеопротеидными фракциями опухолевой ткани. Эти фракции несомненно содержали специфический опухолевый компонент, четко обнаруживаемый при помощи реакции анафилаксии с десенсибилизациями.

Менее успешны были наши попытки обнаружить при помощи реакции пассивной анафилаксии и реакции связывания комплемента антитела к специфическому нуклеопротеидному антигену в сыворотках больных опухолями животных и людей. Положительные результаты в значительном проценте случаев наблюдались здесь только при некоторых штаммах трансплантируемых опухолей⁽²⁾, а в других случаях были мало удовлетворительными. Эта неудача могла быть обусловлена недостаточной концентрацией или малой серологической активностью компонента, содержащегося в нуклеопротеидной фракции, в связи с чем перед нами встала задача получения специфического компонента из опухолевой ткани в более очищенном и концентрированном виде. Для этого нужно было прежде всего расфракционировать опухолевую ткань и определить, какая из фракций обладает специфической серологической активностью, связана ли эта активность с ядром и другими органоидами клетки (митохондрии, микросомы) или цитоплазматическими белками. Выделение всех этих фракций из одного и того же количества опухолевой ткани представляло большие трудности. Соответствующая методика была разработана Г. И. Абелевым вместе с Г. С. Безверхим, Е. С. Новиковой и В. М. Джинчарадзе на модели саркомы крыс М₁ (штамм Л. М. Шабада).

При помощи центрифуги и сепараторов АСГ-1А и АСЛ-2 отечественного производства из гомогената опухолевой ткани были выделены ядра, митохондрии и микросомы и отмыты от растворенных белков. Оставшиеся после выделения клеточных компонентов белки фракционировались путем насыщения серноокислым аммонием до 33,66 и 100% на первую и вторую глобулиновую и на альбуминовую фракции. Митохондрии и микросомы растворялись в слабом растворе едкого натра при pH 9—10,5, нейтрализовались 0,2—0,5% уксусной кислотой, и полученные растворы осветлялись центрифугированием при 18 000 об/мин в течение 20 мин. Подобным же образом извлекался белок из ядер. Все полученные белковые фракции служили в качестве антигенов в реакции связывания комплемента с сыворотками больных крыс, которым опухоль имплантировалась за 10—25 дней до взятия у них крови, и с сыворотками здоровых крыс. Препараты из митохондрий и микросом обладали резкими антикомплемментарными свойствами, исчезающими при прогревании их до 56° в течение 15—20 мин. В каждом препарате определялось количество белка, которое уравнивалось соответствующим

щим разведением. То количество миллиграмм белка, которое давало наибольшее количество положительных реакций с сыворотками больных опухолями крыс и не реагировало с сыворотками здоровых крыс, считалось титром антигена.

Антигены использовались в реакции в течение первых дней после приготовления. Попытки консервировать их мертиолатом и другими консервантами не дали результатов, и сохранение их свойств на длительное время оказалось возможным только после лиофильной сушки под вакуумом.

Реакция связывания комплемента ставилась Н. В. Нарциссовым в объеме 0,6 мл с длительным связыванием на холоду и с двумя

Таблица 1

Сравнительная серологическая активность
фракций опухолевой ткани

	Сыворотки больных крыс			Сыворотки здоровых крыс		
	число	положит.	отрицат.	число	положит.	отрицат.
Белок из митохондрий	74	61	13	22	1	21
Белок из микросом	67	51	16	23	1	22
Глобулин I	30	23	7	23	2	21
Глобулин II	33	13	20	10	1	9
Альбумин	35	12	23	13	0	13
Белок из ядер	46	10	36	11	0	11

дозами комплемента. Сыворотки крыс прогревались перед опытом 30 мин. при 56°. Комплемент консервировался по методу Гинзбург — Калинина. Титрование комплемента производилось в день опыта в смеси с антигенами со связыванием в термостате при 37° в течение часа. За единицу комплемента принималось наименьшее его количество, дающее полный гемолиз сенсibilизированных эритроцитов. Комплемент брался в опыт в дозе 1,5 и 1,8 единицы. Гемолитическая система готовилась смешиванием равных количеств 3% суспензии ба-

ранных эритроцитов и гемолитической сыворотки, разведенной по четырехкратному титру. Сыворотка (в разведении 1:6), антиген (по титру) и комплемент (в указанных дозах) брались в опыт в количестве по 0,1 мл и после смешения оставлялись на 18—20 час. при +6° с последующим прогреванием в термостате в течение 30 мин., после чего добавлялась в дозе 0,3 мл гемолитическая система. Гемолиз отмечался через 30 и 60 мин. после стояния в термостате.

С каждым из антигенов было испытано от 30 до 74 сывороток больных крыс, причем антигены брались с одинаковым содержанием белка—2 мг в 1 мл, кроме антигенов из ядер, содержавших 3 и 3,5 мг в 1 мл.

Результаты всех этих опытов суммированы в табл. 1.

Как видно из этой таблицы, наибольшую серологическую активность обнаруживает белок из митохондрий и микросом и первая глобулиновая фракция. Они дают положительную реакцию более чем с тремя четвертями исследованных сывороток. Так как сыворотки у крыс брались не только в поздние, но и в ранние сроки после трансплантации опухоли, когда антитела еще только начинают появляться, это количество положительных результатов нужно признать весьма значительным.

Гораздо меньшую серологическую активность обнаруживали вторая глобулиновая фракция, альбумин и белок из ядер. Они давали положительные результаты только примерно в четверти или трети случаев, причем ядерный белок давал эти результаты только в дозе в 1,5—2 раза большей, чем другие фракции.

Большая серологическая активность указанных выше фракций обнаруживается и при учете интенсивности реакций. В большинстве случаев реакции с митохондриями, микросомами и глобулином I были

трех- и четырехкрестовыми (например, в одном из опытов 31 сыворотка дала реакции с микросомами на 3 и 4 креста и только 2 на 1 и 2 креста), в то время как с альбумином и другими малоактивными фракциями четырехкрестовые реакции наблюдались исключительно редко, и большинство положительных реакций отмечалось как одно- и двухкрестовые.

Сыворотки здоровых крыс в подавляющем большинстве случаев совсем не реагировали с испытанными антигенами. Как видно из табл. 1, из 68 сывороток здоровых крыс, испытанных с митохондриями, микросомами и глобулином I, только 4 сыворотки (около 6%) дали положительные результаты (оцениваемые 1 и 2 крестами). Эти реакции подлежат еще дальнейшему изучению.

Таким образом, носителем специфической серологической активности в исследованной опухолевой ткани оказались белки из митохондрий и микросом и первая глобулиновая фракция.

Необходимо отметить, что из 25 сывороток больных крыс, исследованных в реакции связывания компонента с антигенами из митохондрий и микросом легких и селезенки здоровых крыс, в 15 случаях была получена положительная реакция.

Это позволяет думать, что антитела у крыс с опухолью M_1 в отношении изучавшихся антигенов носят характер появляющихся во время роста опухоли так называемых индуцированных антител к белкам тканей животного того же вида⁽³⁾.

При сравнительном изучении в нашей лаборатории антигенного состава здоровых и опухолевых тканей было найдено, что экстракт ткани вирусной опухоли (папилломы кроликов), освобожденный от вирусного компонента путем адсорбции его на эритроцитах, содержит отличные от здоровой ткани антигены, повидимому возникающие в результате нарушения вирусом синтеза белка (Л. Зильбер и В. Артамонова). Возможно, что изменившийся белок, приобретая новую опухолевую специфичность, сохраняет и прежнюю, вследствие чего образующиеся антитела к нему реагируют как с опухолевым, так и с нормальным белком. Этот вопрос подлежит дальнейшему изучению.

При электрофоретическом изучении всех фракций, с которыми ставились серологические опыты, Г. И. Абелевым было обнаружено, что активные фракции весьма сходны по своему составу. В митохондриальной и первой глобулиновой фракциях преобладает компонент с подвижностью $4,4-4,6 \cdot 10^{-5}$ см²/сек в вероналовом буфере 0,12 м при pH 8,6. Вторая глобулиновая и альбуминовая фракции содержат небольшие примеси этого компонента, в белке же ядер он совсем не обнаруживается. Возможно, что серологическая активность и связана с этим компонентом, находящимся как в гранулах, так и в цитоплазме клеток.

Изложенные опыты проведены, как указывалось, с саркомой крыс M_1 , не перевиваемой фильтратом. Имеются ли антитела к подобному компоненту в опухолях, перевиваемых фильтратами? Так как при этих опухолях установлено наличие антител к вирусному компоненту, возможно, что у больных этими опухолями животных могут быть найдены два типа антител — к вирусному и тканевому компоненту. Связаны ли эти компоненты с различными или одними и теми же фракциями опухолевой ткани? Содержится ли в нуклеопротеидной фракции серологически активный глобулин? Все эти вопросы изучаются сейчас в нашей лаборатории, и их изучение позволит разобраться в сложном антигенном составе опухолевой ткани.

Небольшие пока еще материалы, полученные при изучении других опухолей, показывают, что и у них серологическая активность связана с гранулярными и первой глобулиновой фракциями. Если это получит подтверждение и наблюдавшиеся нами закономерности имеют общее

значение, изучение специфических антигенов опухолей и тем самым иммунологии раковой болезни получит новые возможности.

Отдел вирусологии
Института эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалея
Академии медицинских наук СССР

Поступило
23 VII 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Л. Зильбер, Усп. совр. биол., 30, 2, 188 (1950). ² Н. Нарциссов, Л. Зильбер, ДАН, 65, № 2, 229 (1949). ³ J. MacKenzie, J. Kidd, J. Exp. Med., 82, 41 (1945).