

Ю. Т. АЛЕКСАНЯН

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ПОЛУЧЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ИММУНОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

Рассматриваются некоторые вопросы иммунологии опухолей и значение иммунотерапии при комплексном лечении злокачественных опухолей. Обсуждаются возможности получения межвидовых гибридов культивируемых клеток опухолей человека и некоторые возможные аспекты применения в перспективе этих гибридов для иммунотерапии опухолей.

В области лечения злокачественных опухолей к настоящему времени достигнуты большие успехи, однако в целом эта проблема пока далека от окончательного решения. Всесторонняя интенсивная разработка всего комплекса вопросов взаимоотношений организма и растущей в нем опухоли и дальнейший поиск новых эффективных способов терапии опухолей сохраняют свою актуальность и на сегодняшний день. В этом аспекте значительный интерес представляют изучение иммунологических взаимоотношений опухоли и организма, разработка эффективных методов иммунотерапии опухолей.

Иммунология опухолей основывается на результатах целого ряда исследований, установивших наличие специфических антигенов в опухолях животных и человека [4, 5, 7, 16, 19, 24, 28, 30]. Получены четкие доказательства способности опухолей индуцировать иммунный ответ в аутологичной или сингенной системах (исключающих возможность действия аллоантигенов), наличия специфического противоопухолевого иммунитета [13, 17, 18, 21, 26]. Результатами многочисленных работ установлена возможность усиления иммунитета как к экспериментальным опухолям животных, так и к опухолям человека [2, 3, 8—11, 29]. Можно полагать, что чрезвычайно редкие, но достоверные случаи спонтанной регрессии злокачественных новообразований у человека [2, 11] обусловлены, по-видимому, иммунологическими механизмами.

При комплексном лечении злокачественных опухолей человека считается более целесообразным прибегать к иммунотерапии на завершающем этапе лечения заболевания с целью помочь организму уничтожить ту немногочисленную популяцию опухолевых клеток, которая остается после других видов лечения—радикальной хирургической операции, радиотерапии или химиотерапии [11]. В идеальном случае задача иммунотерапии—уничтожить последнюю оставшуюся в организме опухолевую клетку. Следует отметить, что противоопухолевые препараты поражают далеко не все клетки популяции опухолевых клеток. Возникают устойчивые к действию противоопухолевых препаратов клеточные варианты. Эти клетки, являясь источником рецидивов опухоли, представляют большую опасность для организма. Кроме того, как при химиотерапии, так и при лучевой терапии наряду с опухолевыми клетками поражаются также интенсивно делящиеся клетки кроветворной

и иммунной систем. При иммунотерапии же опухолей уничтожаются лишь опухолевые клетки. Сравнительно редкие случаи поздних рецидивов у больных, подвергнутых иммунотерапии, свидетельствуют о выраженной эффективности методов иммунотерапии. Иммунотерапия, препятствующая развитию рецидивов, является одновременно и иммунопрофилактикой рецидивов.

Отмечается необходимость комбинации методов специфической и неспецифической иммунотерапии и искусственной гетерогенизации злокачественных новообразований [15]. Используются разнообразные способы обработки опухолевых клеток для усиления их иммуногенности [11]. Однако при облучении или некоторых других способах гетерогенизации опухолевых клеток нельзя исключить также возможность ухудшения антигенности и (или) иммуногенности этих клеток. В аспекте гетерогенизации опухолевых клеток представляют значительный интерес работы по усилению противоопухолевой резистентности у животных при использовании гибридов культивируемых соматических клеток [6, 20, 23, 25, 33]. При разработке способов иммунотерапии опухолей человека следует уделить наибольшее внимание тем методам, применение которых обеспечивает активацию собственных иммунологических реакций организма [15]. Лимфоидная инфильтрация опухолей человека является показателем благоприятного прогноза в течении опухолевого процесса. У подопытных животных наиболее выраженный противоопухолевый иммунитет формируется при рассасывании живых опухолевых клеток [13, 21, 31, 32]. Однако прививка больному живых опухолевых клеток с целью стимуляции противоопухолевого иммунитета сопряжена с опасностью опухолевого роста в месте инъекции этих клеток. Учитывая вышесказанное, представляются очевидными следующие преимущества использования межвидовых гибридов культивируемых клеток для усиления противоопухолевого иммунитета: 1) гибридные клетки являются гетерогенизированными клеточными объектами, и нет необходимости в дополнительных воздействиях для увеличения их чужеродности; 2) при иммунизации организма используются живые клетки, индуцирующие более выраженную противоопухолевую резистентность; 3) прививка гибридных клеток не сопряжена с опасностью опухолевого роста в организме, так как включение иммунного ответа реципиента на чужеродные антигены (в частности, видоспецифические) сопровождается разрушением прививаемых клеток; 4) установлена экспрессия опухолеспецифических антигенов в гибридных клетках [14, 22], и прививаемые гибридные клетки активируют иммунную систему организма, обеспечивая формирование противоопухолевого иммунитета.

Наличие определенного биологического сходства между опухолями животных и человека дает основание для рассмотрения возможностей получения межвидовых гибридов культивируемых клеток опухолей человека и возможных аспектов использования в перспективе гибридных клеток для иммунотерапии опухолей человека.

Известно, что опухоли, индуцированные одним и тем же химическим канцерогеном, имеют разные специфические антигены и не дают

перекрестной иммунологической реакции. В противоположность этому специфические опухолевые трансплантационные антигены в опухолях, индуцированных одним и тем же вирусом, тождественны, даже если опухоли индуцированы у разных видов животных [1]. Учитывая то обстоятельство, что опухоли человека характеризуются индивидуальной антигенной специфичностью, в каждом случае при иммунотерапии больных с опухолями должны быть использованы лишь межвидовые гибриды, образовавшиеся при участии аутологических опухолевых клеток. После получения четких доказательств вирусной природы определенных опухолей человека для иммунотерапии опухолей, индуцированных одним и тем же вирусом и содержащих одинаковый опухолеспецифический антиген, могут быть применены межвидовые гибриды, образовавшиеся при участии аллогенных опухолевых клеток.

Для получения межвидовых гибридов культивируемых клеток опухолей человека необходимо иметь маркированные по селективным маркерам опухолевые клетки человека и клетки ксеногенного партнера. Однако получение из опухолей человека маркированных клеток—задача очень сложная, сопряженная с преодолением огромных трудностей методического характера и требующая длительного периода времени. С целью устранения очевидных затруднений и экономии времени при получении межвидовых гибридов можно использовать в качестве ксеногенного партнера клетки с двумя маркерами. Так, например, можно применять хомячковые клетки, дефектные по ферменту ГГФРТ и резистентные к актиномицину Д. Это позволит для гибридизации использовать немаркированные опухолевые клетки человека (клетки первичных культур, полученных из опухолевой ткани после радикальной хирургической операции). В селективной среде ГАТ, содержащей также актиномицин Д, могут быть выделены клоны гибридных клеток. От хомячьего партнера гибридные клоны получают способность к высокой и неограниченной пролиферативной активности. Гибридные клетки, находящиеся на разных стадиях культивирования, должны сохраняться криоконсервированием. Эти клетки с целью изучения их свойств в любой момент могут быть разморожены и размножены. Необходимо отметить, что весьма существенное препятствие может сделать бесплодными попытки использования гибридных клеток для иммунотерапии опухолей—гибридные клетки обычно утрачивают хромосомы, причем элиминируются хромосомы преимущественно одного из родителей [14], и может элиминироваться также хромосома, ответственная за синтез опухолеспецифического антигена. Однако следует отметить, что обнаруживаются также гибридные клоны, которые в течение довольно значительного периода времени не утрачивают хромосомы. Один клон гибридных клеток человека и мыши сохранял полный набор хромосом в течение 4 месяцев [27]. В случае выделения из популяции межвидовых гибридов культивируемых клеток опухолей человека клонов, сохраняющих определенное время полный набор хромосом обоих родителей, следовало бы определить наличие опухолеспецифических антигенов человека и видоспецифических антигенов ксеногенного партнера в

этих клонах, размножить их и накопленную биомассу гибридных клеток использовать для иммунотерапии опухолей.

Для полного выяснения различных аспектов получения гибридных клеток и их использования для иммунотерапии опухолей человека, по-видимому, необходимо: 1) разработать упрощенные и результативные методы получения межвидовых гибридов культивируемых клеток опухолей человека; 2) детально изучить механизмы элиминации хромосом в гибридных клетках; 3) разработать эффективные способы направленной элиминации хромосом в межвидовых гибридах; 4) выяснить возможность уменьшения скорости элиминации хромосом при гибридизации клеток человека с клетками близкородственных видов (например, с клетками обезьяны); 5) изучить экспрессию опухолеспецифических антигенов человека и видоспецифических антигенов ксеногенного партнера в гибридных клетках на разных стадиях их культивирования; 6) определить хромосомы, содержащие гены, ответственные за синтез опухолеспецифических антигенов человека; 7) выяснить возможность переноса хромосом, ответственных за синтез опухолеспецифических антигенов, из клеток опухолей человека в клетки ксеногенного партнера с помощью микроклеток или суспензии изолированных хромосом и изучить экспрессию опухолеспецифических антигенов в микроклеточных гибридах; 8) разработать эффективные способы отбора и селективной пролиферации гибридных клонов, сохраняющих определенное время полный набор хромосом обоих родителей.

Для разработки эффективных методов получения таких гибридных клеток, которые необходимо использовать в целях иммунотерапии опухолей, безусловно, потребуется проведение целого ряда фундаментальных исследований и решение принципиально важных вопросов. Необходимо также всемерно интенсифицировать работы по выяснению в экспериментальных условиях молекулярно-клеточных механизмов формирования противоопухолевого иммунитета при использовании гибридных клеток. Однако лишь в онкологической клинике может быть получен ответ на вопрос об эффективности использования гибридных клеток для иммунотерапии опухолей человека. Хотя получение соответствующих гибридных клонов на сегодняшний день сопряжено с большими методическими сложностями, по-видимому, нельзя исключить возможность апробирования в недалеком будущем указанного подхода к иммунотерапии опухолей у некоторых больных. Уже в настоящее время весьма целесообразно использовать все имеющиеся методические возможности для получения межвидовых гибридов культивируемых клеток опухолей человека. При наличии подходящих гибридных клонов следует применить их (имея в виду отсутствие противопоказаний) для иммунотерапии опухолей, предварительно наметив соответствующие схемы иммунизации с учетом возможных оптимальных доз прививаемых клеток, интервалов между прививками и т. д. Возможные положительные результаты применения гибридных клеток в онкологической клинике, по всей вероятности, явились бы мощным стимулом для резкой интенсификации исследований в этом направлении.

Рассматривая некоторые возможные аспекты использования в перспективе гибридных клонов для иммунотерапии опухолей, следует отметить необходимость применения клоновых культур в комбинации с другими методами лечения опухолей, учитывая, что иммунотерапия показана при небольшом количестве оставшихся в организме опухолевых клеток. При лечении солидных опухолей опухолевые клетки доводятся по возможности до наименьшего количества с помощью радикального хирургического вмешательства с последующим использованием методов химиотерапии или лучевой терапии. При лечении лейкемии популяция опухолевых клеток максимально уменьшается с помощью химиотерапии.

Целесообразность проведения иммунотерапии на последнем этапе лечения, а также необходимость соблюдения определенного (оптимального) интервала между химио- и иммунотерапией может дать иммунотерапевтам время, достаточное для получения межвидовых гибридов и накопления биомассы этих клеток. На поздних стадиях роста опухоли, а также вследствие химиотерапии или радиотерапии у опухолевых больных формируется выраженное (иногда длительное) состояние иммунодепрессии. Прежде чем приступить к активной иммунотерапии опухоли необходимо добиться иммунореабилитации организма. С целью ускорения этого процесса предложено использовать различные средства [11]. Следовательно, для индукции выраженного противоопухолевого иммунитета гибридные клетки должны вводиться в организм после восстановления его иммунореактивности.

Учитывая современные представления о Т- и В-системах иммунитета [12], для усиления противоопухолевого иммунитета наряду с применением живых гетерогенизированных (гибридных) клеток необходимо широко использовать методы активации Т-системы иммунитета (активации иммунных лимфоцитов, проявляющих цитотоксическое действие).

В сочетании с другими методами (хирургическое вмешательство, химиотерапия, лучевая терапия) рассмотренные возможные подходы к иммунотерапии опухолей, по-видимому, могут представить определенный интерес для разработки эффективных комплексных способов лечения опухолей.

Институт экспериментальной биологии
АН Арм. ССР

Поступила 25/V 1982 г.

ՅՈՒ. Թ. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ

ՈՒՌՈՒՑՔՆԵՐԻ ԻՄՈՒՆՈԹԵՐԱՊԻԱՅԻ ՀԱՄԱՐ ՀԻՔՐԻԴԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ
ՍՏԱՑՄԱՆ ԵՎ ՕԳՏԱԳՈՐԾՄԱՆ ՀՆԱՐԱՎՈՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Հիմնավորվում է մարդու ուռուցքների կուլտիվացվող բջիջների միջանկյալ ճիւղերի հիբրիդների ստացման հնարավորությունը: Քննարկվում են ապագայում այդ հիբրիդների օգտագործման հնարավոր ապեկտները ուռուցքների իմունոթերապիայի բնագավառում:

ON THE POSSIBILITIES OF ESTABLISHMENT AND APPLICATION OF THE HYBRIDE CELLS FOR THE IMMUNOTHERAPY OF TUMORS

The possibility of the establishment of interspecies hybrids of the cultivated cells of human tumors is discussed. The possible aspects of the application of these hybrids for the immunotherapy of tumors are studied.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абелев Г. И. Вестник АМН СССР, 1974, 2, стр. 23.
2. Говалло В. И. Иммуниет к трансплантагам и опухолям. Киев, 1977.
3. Городилова В. В., Силина И. Г., Сараева З. М. Вopr. онкологии, 1965, 11, 2, стр. 22.
4. Дэй Ю. Иммунохимия рака. М., 1966.
5. Зильбер Л. А., Абелев Г. И. Вирсология и иммунология рака. М., 1962.
6. Ключарева Т. Е., Матвеева В. А., Дейчман Г. И. Бюлл. экспер. биол., 1972, 11, стр. 72.
7. Косяков П. Н., Коростелева В. С. В сб.: Матер. советско-болгарского симпозиума по иммунологии опухолей. М., 1973, стр. 34.
8. Кочергина Н. И., Косова И. П. Успехи соврем. биологии, 1981, 91, 3, стр. 409.
9. Красковский Г. В. Иммуногенетические основы раковой анергии. Минск, 1970.
10. Лавровский В. А., Викслер В. Х. Успехи соврем. биологии, 1981, 91, 2, стр. 228.
11. Матэ Ж. Активная иммунотерапия рака, иммунопрофилактика и иммунореабилитация. М., 1980.
12. Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика. М., 1976.
13. Радзиховская Р. М. Некоторые закономерности противоопухолевого иммунитета. М., 1971.
14. Рингерц Н., Сэвидж Р. Гибридные клетки. М., 1979.
15. Трапезников Н. Н., Яворский В. В., Свет-Молдавский Г. Я. и др. Вестник АМН СССР, 1974, 4, стр. 38.
16. Фель В. Я., Шемергер И. Н. Морфологическое и иммунологическое изучение цитодифференцировки экспериментальных опухолей. Л., 1968.
17. Basombrlo M. A., Prehn R. T. Cancer Res., 1972, 32, 11, 2545.
18. Cohen A. M., Millar R. C., Ketcham A. S. Cancer Res., 1972, 32, 11, 2421.
19. Dufour D., Linh D. Experientia, 1962, 18, 8, 372.
20. Favre R., Carcassonne Y., Meyer G. Brit. J. Cancer, 1975, 32, 1, 139.
21. Foley E. Cancer Res., 1953, 13, 8, 578.
22. Jami J., Ritz E. Cancer Res., 1973, 33, 10, 2524.
23. Jami J., Ritz E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1975, 72, 6, 2130.
24. Kruger G. Z. Krebsforsch., 1969, 73, 2, 164.
25. Liang W., Cohen E. P. J. Immunol., 1977, 118, 3, 903.
26. Mavilgit G., Guterman J., McBride Ch., Hersh E. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1972, 140, 4, 1240.
27. Miggiano V., Nabholz M., Bodmer W. Wistar Inst. Symp. Monogr., 1969, 9, 61.
28. Millgrom F. Cancer Res., 1968, 28, 7, 1382.
29. Morton D., Miller G., Wood D. J. Nat. Cancer Inst., 1969, 42, 2, 289.
30. Old L., Boyse E., Clarke D., Carswell E. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1962, 101, 1, 80.
31. Shohat B., Joshua H. Europ. J. Cancer, 1969, 5, 1, 69.
32. Usubuchi I., Sobayima V., Kudo H. et al. Tohoku J. Exp. Med., 1972, 108, 1, 79.
33. Watkins J., Chen L. Nature, 1969, 223, 5210, 1018.