

LIETUVIŲ KATALIKŲ MOKSLO AKADEMIJA

VYTAUTAS PAVILANIS

SPECIFINIS VIRUSO SUKELTO VĖŽIO
IMUNITETAS

Atspaudas

iš

L.K.M. Akademijos *Suvažiavimo Darbų* VII t.

329-334 psl.

Kazys Perkus, M. D.
1022 Bess Boulevard Drive
St. Mary Kottow, Dundee, Ill. 60118

ROMA 1972

SPECIFINIS VIRUSO SUKELTO VĖŽIO IMUNITETAS

Kai šio šimtmečio pradžioj buvo įrodyta, kad kai kuriuos piktybinius navikus galima transplantuoti iš vieno gyvulio į kitą ir kad skiepijimas navikinių celių ekstraktais gali apsaugoti gyvulį nuo transplantuoto naviko augimo, daugeliui kilo mintis, kad skiepijimas nuo vėžio yra galimas. Bet tolimesni tyrimai ir supratimas pagrindinių principų, tvarkančių audinių transplantaciją homozygotiniams ir heterozygotiniams gyvuliams, įvedė skepticizmą į skiepų prieš vėžį galimumą. Kaip galima imunizuoti organizmą prieš autochtoninį naviką, jei organizmas neatskiria navikinių celių nuo kitų savų celių?

Paskutinio dešimtmečio metu atlikti tyrimai rodo, kad yra galima padidinti ar sumažinti organizmo atsparumą prieš vėžį. Šis atsparumo padidėjimas ar sumažėjimas yra įtaigojamas imunitetinio stovio. Švitinimas Rentgeno spinduliais sumažina imuno-reaktyvitetą ir tuo palengvina transplantuoto naviko augimą. Skiepijimas navikinėmis celėmis, kurios negali veistis, dažnai sukelia organizmo atsparumą prieš transplantaciją, nors, kartais, paradoksiškai, gali net pagreitinti transplantuoto naviko augimą. Pagerinti tyrimų būdai įrodė egzistavimą antinavikinių antikūnių ir specifinę antinavikinę celių sensibilizaciją.

Dabar nėra abejonės, kad navikai gali sukelti specifines imuniteto reakcijas. Bet, kodėl navikai vystosi ir beveik visad užmuša organizmą? Greičiausia, navikinių celių atsiranda organizme labai dažnai ir beveik visos tos celės yra sunaikinamos organizmo imuniteto, ir tik labai retais atvejais išsivysto imunitetinės tolerancijos stovis, kuris leidžia navikui plėstis.

Tuo mes atsiduriame prieš naujas perspektyvas, kurios sukelia didelį susidomėjimą priešnavikinio imuniteto studijomis.

Šiame pranešime aš apsiribosiu tik stebėjimais, padarytais mūsų laboratorijoje. Priešnavikiniam imunitetui studijuoti mes naudojome SV-40 virusą, kuris sukelia sarkomas naujagimiui balėsiui (*Mesocricetus auratus*). Vieno mėnesio amžiaus balėsas jau atsparus SV-40 viruso veikimui ir tik retam gyvulėly šis virusas sukelia sarkomato-

zinius auglius. Dviejų mėnesių amžiaus balėsas yra visiškai atsparus SV-40 virusui, ir šis virusas niekad nesukelia navikų, jei įskiepytas suaugusiam gyvuliui.

Transplantacijai mes naudojome balėso inkstų celes, kurios buvo transformuotos SV-40 virusu *in vitro*. Tos celės, įskiepytos suaugusiam balėsiui, sukelia naviką, kuris jau po dviejų mėnesių gerai apčiuopiamas ir visad veda prie mirties. Tas celes mes pavadino CH4.

1. *Atsparumas antrai transplantacijai balėsu, kuriems neprisiėmė navikas skiepijant pirmą kartą.* — Gyvulių nuosimtis, kurie, gavę piktybines celes, išvysto navikus, pareina nuo įskiepytų celių skaičiaus ir tų celių naviko sukėlimo potencialo. Pavyzdžiui, paskiepijus 10^6 -CH4 celių balėsamams, 92 % išvysto naviką per du mėnesius. Gyvulėliai, kurie neturi naviko po dviejų mėnesių, neišvysto jokio naviko vėliau. Bet, jei įskiepyti 5×10^5 -CH4 celių, tik 40 % balėsu išvysto navikus.

Mes paėmėme balėsus, kurie buvo įskiepyti CH4 celėmis ir po aštuonių mėnesių nerodė jokio navikinio augimo ir įskiepijome juos dar kartą su 10^6 CH4 celių. Po keturių mėnesių po antros transplantacijos tik du iš devynių įskiepytų gyvulėlių turėjo navikus. Antra transplantacija sukėlė tik 22 % navikų vietoj 90 %. Šis bandymas parodė, kad gyvuliai, kurie buvo atsparūs pirmai transplantacijai, gavę mažesnių celių skaičių, įgyja atsparumą antrai transplantacijai. Šis imunitetas yra specifinis, nes HeLa (žmogaus piktybinės) celės įskiepytos balėsamams nesukėlė jokio atsparumo.

2. *Atsparumas balėsu, kuriems navikas buvo pašalintas.* — Tam tikram skaičiui balėsu navikas, kai jis buvo gerai apčiuopiamas, buvo chirurgiškai pašalintas ir mes turėjome penkis gyvulėlius, kurie po aštuonių mėnesių neturėjo jokių recidyvų nei metastazių. Tie gyvulėliai buvo įskiepyti vėl 10^6 -CH4 celėm. Jie visi penki išvystė navikus, pas du navikai jau buvo gerai apčiuopiami po dviejų mėnesių, pas vieną po trijų ir pas du po penkių mėnesių. Šis bandymas parodė, kad navikas augdamas organizme nesukelia jokio atsparumo.

3. *Transplantuoto naviko inhibicija onkogeniniu virusu.* — Habel jau 1963 metais įrodė, kad galima skiepyti suaugusį balėsą prieš SV-40 virusą ir šis imunizuotas gyvulys pasidaro atsparus vėžio celiui, sukeltų to paties viruso, transplantacijai. Mums atrodė, kad yra svarbu sužinoti, ar onkogeninis virusas veikia į jau prieš skiepijimą transplantuotą naviką. Tam įrodyti, tris ar penkias dienas po CH4 celių transplantacijos, mes paskiepijom balėsus SV-40 virusu. Mes pakartojom tą bandymą tris kartus ir visuose trijuose

bandymuose virusu skiepyti balėsai turėjo mažesnę navikų skaičių, ir patys navikai, jei atsirado pas virusu skiepytus gyvulėlius, buvo mažesnės apimties. Pirmame bandyme tarp virusu skiepytų gyvulių 47% turėjo navikus, kontrolės — 70%. Antrame bandyme — virusu skiepyti 24% turėjo navikus, kontrolės — 71% ir trečiame — virusu skiepyti 0%, kontrolės 36%.

Kitame bandyme mes norėjome sužinoti, ar galima dar padidinti atsparumą, tų gyvulėlių kurie buvo atsparūs pirmai transplantacijai, kaip buvo aprašyta pirmame paragrafe. Bet čia virusai neturėjo jokio veikimo, net priešingai — virusu skiepyti gyvuliai turėjo daug daugiau navikų (47%) negu kontrolės gyvulėliai (20%), kurie nebuvo virusu skiepyti po pirmos transplantacijos. Balėsai, kurių navikas buvo chirurgiškai išpjautas ir kurie per aštuonis mėnesius neturėjo recidivų nei metastazių (kaip aprašyta antrame paragrafe), jei buvo skiepyti SV-40 virusų buvo atsparesni transplantacijai (50% navikų) negu kontrolės gyvuliai (100% navikų).

4. SV-40 viruso įtaka į postoperacinių recidivų atsiradimą. — Tam eksperimentui įvykdyti, mes transplantavom CH4 celes devyniasdešimt devyniems balėsams. Po šešių savaičių 91 balėse buvo apčiuopiamas navikas, kurį mes chirurgiškai išoperavom. Dešimts balėsų nugaišo laike dviejų savaičių po operacijos. Autopsijoje jokio naviko juose nebuvo rasta. Du balėsai išvystė lengvai apčiuopiamą naviką po keturių ir po septynių dienų. Juose, greičiausia, naviko ekstirpacija tebuvo dalinė ir todėl jie į šį bandymą neįtraukti. Likusieji gyvulėliai buvo padalinti į dvi grupes. 39 gyvulėliai buvo įskiepyti steriliu audinių kultūros skiediniu ir 40 gyvulėlių buvo įskiepyti SV-40 virusu. Po dvylikos mėnesių stebėjimo 30 balėsų (77%), kurie gavo audinių kultūros skiedinį, nugaišo nuo naviko recidyvo, užaugusio originalinio naviko vietoj. Iš 40 balėsų, kurie gavo keturias injekcijas viruso (tuoj po operacijos, 3-čią, 7-tą dieną po operacijos) po dviejų mėnesių 12 gyvulėlių turėjo apčiuopiamus navikus ir per dvyliką mėnesių stebėjimo tik 12 (30%) nugaišo nuo naviko recidivų. Mirtingumo skirtumas tose grupėse yra reikšmingas $P = 0,01$ lygyje.

Mes pakartojome tą bandymą transplantuodami 92-iems naujiems balėsams CH4 celes. Po trijų savaičių 88 turėjo apčiuopiamą naviką, kuris buvo išpjautas. 54 iš tų gyvulėlių buvo padalinti į dvi grupes, kurios buvo skiepijamos lygiai taip pat kaip ir pirmame bandyme. Šiame antrame bandyme irgi virusu skiepyti gyvulėliai turėjo mažiau navikų (11%) negu kontrolės gyvulėliai (30%). Statistikos analizė rodo, kad antram bandymui $P = 0,08$.

Šie du bandymai aiškiai parodė, kad onkogeninis virusas sumažina, išpiauto naviko vietoje recidyvų skaičių, bet mes negalėjome tiksliai įvertinti viruso įtaką į metastazių atsiradimą. Metastazės mūsų transplantuojamame navike nėra labai dažnos, bet jas galima rasti akzilarinėse ir ingvinalinėse limfinėse liaukose, plaučiuose ir retai — inkstuose, kepenyse ir širdyje. Gyvulėlių grupėje, kuri buvo gydoma SV-40 virusu, mes radome metastazes keturiuose gyvulėliuose: visuose metastazės buvo plaučiuose ir viename iš jų — limfinėse liaukose. Kontrolės balėsuose mes radome metastazes aštuoniuose balėsuose ir visos šios metastazės buvo plaučiuose. Metastazės buvo rastos tik balėsuose, kurie turėjo naviko recidyvą operacijos vietoj ir mums atrodė, kad metastazės turėjo labiau ryšį su recidyvo atsiradimu negu su SV-40 viruso gydymu.

5. *Diskusija.* — Skiepijimas SV-40 virusu sumažina išpiauto naviko recidyvų dažnumą, jei tas navikas buvo sukeltas celių, transformuotų to paties viruso. Virusų įtaka į recidyvų atsiradimą yra pastovi. Mes stebėjome balėsus iki dvylikos mėnesių po operacijos. Taip gydyti balėasai lieka atsparūs net ir antrai transplantacijai to paties naviko.

Šie stebėjimai prisideda prie daugelio jau gerai žinomų faktų. Diehman ir Kluchareva, Eddy, Gubbs ir Young, Allison ir kiti įrodė, kad galima sustabdyti naviko sukėlimą SV-40 adeno-12 virusais, jei latentinio periodo metu, balėsas yra skiepijamas tuo pačiu virusu. Defendi ir Habel jau 1963 metais įrodė, kad galima sukelti atsparumą prieš naviko transplantaciją suaugusiam balėsui, jei prieš taransplantaciją balėsas yra skiepijamas virusu, kuris sukėlė šį naviką. Šiuo darbu mes įrodėme, kad galima sumažinti navikinių celių augimą, net jei skiepijimas virusu daromas po celių transplantacijos.

SV-40 virusas, kuris sukelia vėžį naujai gimusiam balėsui, suaugusiame gyvulėlyje sukelia atsparumą prieš vėžio išsivystymą. Be to ši atsparumo išvystymą galima stebėti, jei virusas yra skiepijamas prieš ar po naviko sukėlimo.

Aišku, dar reikia daug studijų, kad suprastumėme, kodėl tas pats virusas naujagimiui balėsui sukelia vėžį, o suaugusiam sukelia atsparumą prieš vėžį.

Celių transformacija onkogeniniu virusu yra palydima antigeninių pasikeitimų, kurie padaro navikinę celę imunologiškai skirtingą nuo normalių celių. Vieni antigenai, kurie naujai atsiranda tose celėse, yra vadinami transplantacijos antigenais. Vartojant imunofluorescencijos techniką tie antigenai yra aiškiai matomi celės paviršiuje. Antikūnius prieš tuos antigenus galima sukelti skiepyjant balėsas

navikinėmis celėmis, numarintomis Rentgeno spinduliais, arba skiepijant virusu, kuris sukėlė tas navikines celes.

Kiti antigenai, kurie atsiranda transformuotose celėse, gali būti įrodyti vartojant komplemento fiksaciją su serumais gyvulių, kurie turi navikus, sukeltus to paties viruso. Imunofluorescencija rodo, kad tie antigenai yra viduj celės branduolio. Šis navikinis antigenas yra specifiškas virusui, kuris jį sukėlė, bet skirtingas nuo antigenų randamų pačiam virusė. Kitaip sakant, visi navikai sukelti SV-40 viruso turės tą patį antigeną, ir visai nesvarbu, ar tas navikas bus sukeltas balėsyje, pelėje ar žiurkėje, taip pat, ar tas navikas bus epitelinų ar fibroblastinių celių. Taip pat antigenai yra vienodi pas celes, transformuotas SV-40 virusu *in vitro* ir *in vivo*.

Habel, išeidamas iš dviejų pagrindinių faktų, dar 1962 metais pasiūlė sekantį virusinės karcinogenezės aiškinimą. Pirma — onkogeninis virusas sukelia naviką daug lengviau naujagimiam gyvuly negu suaugusiam, antra — tie virusai transformuoja normalią celę į vėžio celę. Šios celės turi jau naujus antigenus, kurie sukelia imunologinę toleranciją naujagimiam gyvulyje, ir ši imunologinė tolerancija leidžia navikui vystytis. Tuo tarpu tas pats virusas, įskiepytas suaugusiam gyvulyiui, sukelia irgi celių transformaciją, bet tos celės jau subrendusio imuniteto yra atskiriamos kaip svetimos celės ir išmetamos iš organizmo. Šis aiškinimas yra per daug paprastas ir daugelyje vietų neišlaiko kritikos. Pavyzdžiui, balėsei, tuoj po gimimo įskiepyti SV-40 virusu, nėra jautresni transplantacijai navikų, sukeltų to paties viruso. Taip pat pakartotinas įskiepijimas navikinių antigenų nepadidina tolerancijos, bet sukelia atsparumą. Ši hipotezė negali būti pritaikoma Rous sarkomos viruso sukeltiems navikams. Šiuo metu yra sunku sudaryti hipotezė, kuri išaiškintų, kartu ir naviko atsiradimą ir imunitetą prieš tą naviką. Greičiausia, kad onkogeninis virusas, įšvirkštas suaugusiam gyvulyiui, sukelia labiau celularinį negu humoralinį imunitetą. Kaip yra žinoma, humoralis imunitetas gali būti net kenksmingas, pagreitindamas naviko augimą. Old ir Boyse galėjo pervesti antinavikinį atsparumą iš vieno gyvulio kitam, vartodami limfocitus, tuo metu kai serumo transfuzija nesukėlė jokio atsparumo. Atrodo, kad naviko augimas pareina nuo jautrios pusiausvyros tarp humoralinio ir celularino imuniteto. Įvedimas vieno ar kito antigeno paveikia skirtingai celularinį ir skirtingai humoralinį imunitetą, tuo paveikdamas vienaip ar kitaip naviko augimą. Tiksliai žinant tų antigenų veikimą, galima bus imunologiniais metodais sustabdyti naviko augimą.

Montrealio Universiteto

Mikrobiologijos ir Higienos Institutas

V. PAVILANIS

IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE DU CANCRE CAUSÉ PAR VIRUS

par

V. PAVILANIS

(Résumé)

L'administration du virus SV 40 au hamster adulte déjà inoculé avec des cellules cancéreuses conduisant normalement à l'apparition de tumeurs peut retarder et réduire l'apparition de ces tumeurs.

Un état de résistance comparable est aussi induit chez les animaux dont la tumeur apparue après la transplantation a été enlevée chirurgicalement.

Les perspectives de la possibilité d'influencer le développement tumoral par l'administration du virus oncogène inducteur ont été discutées. On peut réduire considérablement le taux des récives et des métastases qui suivent normalement l'excision de la tumeur en inoculant le virus oncogène au moment de l'intervention chirurgicale.