

8. *Fowlkes B. J., Edison L., Mahteson B. J., Chused T. M. J.* Exp. Med., 162, 812—822, 1985.
9. *Kadish J. L., Basch R. S. J.* Immunol., 111, 452—457, 1975.
10. *Palacios R., Pelkonen J.* Immunol. Rev., 104, 5—27, 1988.
11. *Till J. E., Mc Culloch E. A.* Radiat. Res., 14, 213—222, 1972.
12. *Yarilin A. A., Miroshnichenko I. V., Sharova N. I. et al.* Biomedical Science, 1, 133—138, 1990.

Поступило 23.I 1991 г.

Биолог. журн. Армении, № 2.(44).1991

УДК 575.155

ЛИМФОТОКСИН ЧЕЛОВЕКА КАК АУТОКРИННЫЙ ФАКТОР РОСТА В-ЛИМФОБЛАСТОВ

Т. М. СЕРЕГИНА, М. Н. МЕКШЕНКОВ, Р. Л. ТУРЕЦКАЯ,
С. А. ВЕДОСНАСОВ

Институт биологии развития им. Н. К. Колыцова АН СССР, Москва
Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта АН СССР, Москва

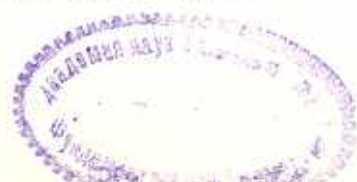
Ֆրոնտալիզացիայի ԲՆԲ-ի անալիզի արձագանքը բացահայտվել է լիմֆոսարիների ՄԲՆԲ-ի ակտիվացմանը, որի մոլեկուլային բարձրանում է բջիջները ֆորբոլ (ՖԲԲ) մշակելուց հետո Մոսկվայի ավիաները վիտրում են այն մասին, որ RPMI—8410 բջիջների աճի առատակրին գործոնը և այդ բջիջների կոզմիկ սինթեզիկ սիտոսթրիկ գործոնը միևնույն մոլեկուլն է՝ մարդու լիմֆոտոքսինը:

Northern analysis showed the presence of lymphotoxin mRNA which is further induced after PMA treatment. These data suggest that both autocrine growth factor and cytotoxic activities correspond to the same molecule probably identical to lymphotoxin (TNF- β).

Лимфотоксин человека—мишное фибробласты—аутокринный фактор роста—цитотоксический фактор.

Лимфотоксин человека, или ФНО- β , является одним из продуктов Т-лимфоцитов, активированных митогеном или в реакции гиперчувствительности замедленного типа [29, 12]. Как и другой, родственный ему фактор, ФНО- α , ЛТ характеризуется чрезвычайно широким разнообразием биологических функций *in vivo* и *in vitro*. Оба цитокина обнаруживают сильную противоопухолевую активность *in vivo*, вызывая некроз трансплантируемой саркомы (Meth A), индуцируемой у мышей метилхолантреном [13, 24]. Обнаружено противовирусное действие ЛТ и ФНО- α , проявляющееся в защите ряда линий клеток человека и мыши от инфекции вирусами, например, вирусом стоматита мочевого пузыря, энцефаломениокардита, герпеса-2 и аденовирусом [34, 18]. Возможно, ЛТ имеет и радиопротекторную активность,

Сокращения: ФНО- β —фактор некроза опухолей типа β ; ФНО- α —фактор некроза опухолей типа α ; ЛТ—лимфотоксин, ФМА—форбол—миростат—ацетат, КС—кондиционированная среда.



так как описано защитное действие ФНО- α , состоящее в снижении летального эффекта облучения *in vivo* [30]. Описана антигенная активность ФНО- α [16]. ФНО- α по-видимому, опосредует воспалительные процессы кожного покрова, желудочно-кишечного тракта сосудов, мышц и центральной нервной системы, так как все эти ткани становятся мишенями моноядерных клеток—продуцентов данного цитокина [6]. Синтез ЛТ наблюдали при таких заболеваниях, как инфаркт миокарда [19], суставный артрит [7], водянка [14]. ЛТ продуцируется лимфоцитами периферической крови, инфицированными вирусом иммунодефицита человека и, возможно, обуславливает их деструкцию [27]. Особенно большой интерес к ЛТ и ФНО- α возник в связи с данными об участии этих цитокинов в регуляции нормальных процессов онтогенеза. Оба цитокина участвуют как в позитивном, так и негативном контроле гемопоэза. ЛТ и ФНО- α индуцируют дифференцировку различных типов клеток, в том числе терминальную дифференцировку промиелоцитов линии HL-60, в клетки со свойствами макрофагов, а также активируют функции полиморфоядерных лейкоцитов человека [23, 25]. Ряд данных свидетельствует о функции ЛТ и ФНО- α в регуляции иммунитета, например, посредством участия в генерации цитотоксических Т-лимфоцитов [28].

Имеются многочисленные данные о ростстимулирующем и антипролиферативном действии ЛТ и ФНО- α *in vitro*. Ростстимулирующее действие эти цитокины оказывают на большинство линий нормальных клеток, а также на активированные В- и Т-клетки *in vitro*. На линии различных типов опухолевых клеток ФНО- α и ЛТ действуют избирательно: на одни оказывают цитотоксическое действие, на другие—цитостатическое, а на третьи—никакого влияния не оказывают [32, 33, 26]. Трансформированные мышинные фибробласты линии L929, как очень чувствительные к действию ЛТ и ФНО- α , используются в качестве стандартной мишени для количественной оценки цитотоксического действия этих цитокинов [8]. В настоящее время широко исследуется возможность применения лимфотоксина для терапии злокачественных заболеваний у человека [31, 9]. В связи с этим становится весьма актуальным получение высокоактивных препаратов ЛТ человека и исследование его биологических функций. Ранее мы установили, что лимфобластная линия В-клеток человека RPMI-6410t синтезирует продукт (или продукты), контролирующий рост этих клеток по аутокринному механизму. Этот продукт стимулирует также рост диплоидных фибробластов человека, но оказывает цитостатическое или цитотоксическое действие на линии В-лимфобластов, полученные у пациентов с лимфомой Баркитта. Обнаружено также цитотоксическое действие продуктов на мышинные фибробласты линии L929. Эти свойства продуктов секреции указывают на их сходство с факторами некроза опухолей [3, 4].

В данной статье приведены результаты исследования комплекса критериев, характеризующих продукты секреции клеток 6410t. В их числе—цитотоксический тест на клетках L929, серологические свойства продуктов, чувствительность клеток-продуцентов к обработке форбо-

ловым эфиром, анализ синтеза мРНК лимфотоксина и ФНО- α и оценка молекулярной массы.

Материал и методика. В работе использованы линии лимфобластных клеток человека RPMI-6410t и ее субклоны 13.E7, 6.F9, 1.C5, а также мышинные фибробласты линии L 929.

Лимфобластные клетки человека активировали ФМА по стандартной схеме [21, 22].

КС получали по [1]. Уровень цитотоксической активности КС определяли при помощи стандартного теста с использованием линии клеток L 929, обработанных актиномицином Д (11). Определение уровня активности фактора роста в КС проводили по [4] с использованием в качестве клеток-мишеней линии RPMI-6410t, клетки которой при разреженном посеве размножаются только в присутствии экзогенного фактора роста.

Использовали препараты антител против рекомбинантного лимфотоксина (анти-р-ФНО- β), представленные фирмой Genentech, Inc., San Francisco, CA и анти-р-ФНО- α с нейтрализующим титром, оцененным на клетках L 929, равным 2.9×10^7 нейтрализующих ед./мл и 10^9 нейтр. ед./мл, соответственно. Их добавляли в среду при концентрации 10^3 нейтр. ед./мл.

Цитоплазматическую РНК для анализа выделяли из 10^5 клеток, обработанных ФМА (20 нг/мл) в течение 24 ч инкубации при 37°C и из необработанных клеток по общепринятой методике [17]. После электрофоретического разделения ее анализировали методом ДНК-РНК гибридизации. В качестве зондов для мРНК ФНО- β и ФНО- α были использованы соответственно 1,6 кв. Всп. HI-EcoRI фрагмент, содержащий большую часть кодирующего участка гена ФНО- β (ЛТ) человека и 0,6 кв. XhoI-HindIII фрагмент, содержащий четвертый экзон гена ФНО- α человека [20, 21]. ДНК метили методом рассеянной затравки с помощью фрагмента Клеона ДНК-полимеразы I [10].

Молекулярную массу оценивали, фракционируя 100-кратный концентрат КС клона 1.C5 электрофорезом в 5–20% SDS-ПААГ градиентном геле. Для иммуопроведения методом иммуоблота в качестве первых антител использовали препарат анти-р-ФНО- β , описанный выше, а в качестве вторых—козы антитела против IgG кролика, конъюгированные с пероксидазой.

Результаты и обсуждение. Цитотоксичность КС. В этой группе экспериментов исследовали цитотоксическую активность КС от исходной линии клеток RPMI-6410t и трех полученных из нее клонов 13. E7, 6. F9 и 1. C5, которые характеризовались синтезом еще более высокого уровня ростстимулирующей активности, чем родительская линия. Величину цитотоксической активности КС на клетки L929 определяли по стандартной методике (см. «Материал и методика»). Согласно этому тесту, единица цитотоксической активности соответствует такой концентрации цитотоксического фактора в КС, который вызывает лизис 50% клеток L929 в присутствии актиномицина Д [11]. Число единиц активности неразбавленной КС, приведенное в табл. 1, подсчитано как величина, обратная степени разведения КС, при которой обеспечивается гибель 50% клеток-мишеней. Из 2 графы табл. I видно, что все 4 изученные линии клеток конститутивно синтезируют в среду фактор, лизирующий клетки L929.

Действие ФМА на синтез цитотоксического фактора. Известно, что ФМА сильно увеличивает синтез ЛТ и ФНО- α различными линиями клеток [22, 21]. В связи с этим мы исследовали действие обработки клеток 6410t и ее клонов на продуцирование ими цито-

токсического фактора. Активация клеток ФМА и получение КС от активированных клеток описаны в разделе «Материал и методика». Цитотоксическую активность этой КС определяли, как и в предыдущих экспериментах, в тесте на клетках L929. Из табл. 1 видно, что уровень цитотоксической активности, синтезируемой клетками после их обработки ФМА, увеличивается в несколько десятков раз по сравнению с таковым при конститутивном синтезе. В случае двух линий 6. F9 и I. C5 индуцированный уровень активности достигает 5 000 ед. акт./мл.

Таблица 1. Цитотоксическая активность супернатантов от клеток В-лимфобластоидных линий

Линия клеток	Цитотоксичность в тесте на L 929, ед./мл					
	без ФМА			после активации ФМА		
	без АС	анти-ФНО- β (ЛТ)	анти-ФНО- α	без АС	анти-ЛТ	анти-ФНО- α
RPMI-6410t	60	1.4	60	1 200	1.4	1 200
13.F7	60	1.4	60	2 500	1.4	2 500
6.F9	80	1.4	80	5 000	1.4	5 000
I.C5	100	1.4	100	5 000	1.4	5 000
RPMI 1788*	75	—	—	1 000	1.4	1 000

*—данные цитируются по (Nedwin et al., 1985).

что в 5 раз превышает аналогичную величину для линии RPMI 1788, являющейся в настоящее время основным источником ЛТ человека.

Серологическое родство цитотоксического фактора с лимфотоксином человека. Была исследована чувствительность цитотоксического фактора, содержащегося в КС, к действию антисывороток против ЛТ и ФНО- α . Свойства этих антисывороток приведены в разделе «Материал и методика». Эти эксперименты отличались от предыдущих тем, что в цитотоксическом тесте на клетках L929 вместе с КС в лунки с тест-клетками L929 добавляли антисыворотку (10^3 нейтр. ед./лунку). Как видно из табл. 1, антитела против ЛТ полностью нейтрализуют как конститутивно синтезируемый фактор, так и фактор, синтез которого индуцируется ФМА. Однако антитела против ФНО- α не оказывают действия ни на конститутивно синтезируемый фактор, ни на фактор, синтез которого стимулируется ФМА. Наряду с цитотоксическим эффектом на клетки L929 и линии клеток из лимфомы Баркитта, КС оказывает ростстимулирующее действие на клетки линии 6410t и диплоидные фибробласты человека [4]. В связи с этим возникает вопрос, один и тот же или разные факторы ответственны за ростстимулирующее и цитотоксическое действие КС. Эксперименты, описанные в двух последующих подразделах, позволяют ответить на этот вопрос.

Ростстимулирующее действие КС. В качестве источника ростового фактора в этих экспериментах была использована КС от клеток клона I. C5, не активированных и активированных ФМА. Клетками-мишенями служили клетки исходной линии 6410t, растущие в условиях разреженного посева при концентрации 5×10^2 кл./мл. При

такой плотности посева клетки 64101 размножаются только в присутствии экзогенного фактора роста, содержащегося в КС. Клетки 64101 высевали по 10^2 кл/лунку в лунки 96-луночных микроплат при различных дозах КС от не активированных и активированных ФМА клеток клона I. С5. Дозы КС выражались в единицах цитотоксической активности, измеренной в тесте на клетках L929 (ЕА/мл). На десятые сутки культивирования в лунках определяли концентрацию клеток и жизнеспособность популяции—процент живых клеток (табл. 2). В

Таблица 2. Стимуляция пролиферации клеток RPMI-64101 лимфотоксином, продуцируемым клоном I.С5.

Доза, ед./мл	Концентрация кл.т.*, кл./мл $\times 10^{-3}$			Жизнеспособность, %			Индекс стимуляции
	без АС	анти ЛТ	анти-ФНО- α	без АС	анти ЛТ	анти-ФНО- α	
0	30 \pm 4.5	2	25 \pm 6.6	72 \pm 7	—	76 \pm 7	—
50	69 \pm 5.3	2	74 \pm 6.3	81 \pm 5	—	80 \pm 4	1.3
100	95 \pm 7.4	2	89 \pm 7.2	79 \pm 5	—	77 \pm 4	2.2
300	330 \pm 17.1	2	300 \pm 19.2	86 \pm 1	—	83 \pm 3	10.0
500	290 \pm 20.2	2	280 \pm 16.0	84 \pm 2	—	85 \pm 2	9.0

*—приведены средние значения, \pm —среднеквадратичное отклонение результатов шести независимых экспериментов с тремя повторами в каждом.

последней колонке табл. 2 приведен индекс стимуляции пролиферации—отношение концентрации клеток на 10 сутки культивирования в пробе с КС к концентрации клеток в пробе без нее. Результаты, приведенные в табл. 2, во-первых, свидетельствуют о резком увеличении уровня ростстимулирующей активности КС после активации клеток I. С5 форболовым эфиром. Величину активирующего эффекта ФМА характеризует тот факт, что КС от активированных клеток, разведенная в 100 раз (доза 50 ЕА/мл), обеспечивает практически такой же индекс стимуляции пролиферации, как и КС от неактивированных клеток, разведенная лишь в 2 раза (доза 40 ЕА/мл). Во-вторых, из табл. 2 отчетливо видно зависящее от дозы влияние КС на концентрацию живых клеток на 10 сутки культивирования, т. е. на скорость пролиферации. В отсутствии КС концентрация клеток за 10 суток культивирования достигает значения 3×10^4 кл/мл за счет небольшого уровня эндогенного фактора роста, синтезируемого клетками 64101 [1]. В присутствии экзогенного фактора, имеющегося в КС, концентрация клеток на 10 сутки культивирования увеличивается с увеличением дозы КС. Максимальная стимуляция пролиферации наблюдается при дозе КС, содержащей 300 ЕА/мл цитотоксической активности. При этой дозе индекс стимуляции достигает значения 10.

Нейтрализация ростстимулирующей активности КС антителами против ЛТ человека. В параллельной серии экспериментов, описанных в предыдущем подразделе, в лунки с клетками 64101 кроме КС добавляли антитела против рекомбинантных ЛТ, или ФНО- α в дозе, обеспечивающей полную нейтрализацию 1000

ед. активности/мл цитотоксической активности в лунке. Как видно из табл. 2, антитела против ФНО- α не влияют на активность КС, стимулирующую рост клеток 6410t, а антитела против ЛТ полностью подавляют как ростстимулирующий эффект экзогенного фактора (пробы с КС), так и эндогенного аутокринного фактора роста (пробы без КС). Такое же нейтрализующее действие антитела против ЛТ оказывают на цитотоксический фактор, синтезируемый клетками 13. E7 и 1.С5 (табл. 1).

Синтез мРНК лимфотоксина линией 6410t и ее клонами. Результаты анализа цитоплазматической РНК из клеток клона 1.С5 показали высокий уровень цитотоксической и ростстимулирующей активности при стимуляции ФМА. В результате стимуляции клеток ФМА количество гибридирующейся РНК увеличивается приблизительно в 10 раз. Сравнение с положением полосы рибосомной 18S РНК показало, что полоса гибридизации расположена в положении, соответствующем мРНК ЛТ. Однако при гибридизации даже при времени экспозиции в 20 раз большем, чем в предыдущем случае, выявляется гораздо более слабая полоса, расположенная иначе, чем полоса мРНК для ЛТ. В отличие от мРНК для ЛТ, количество мРНК для ФНО- α практически не изменяется после стимуляции клеток ФМА.

Молекулярная масса фактора из КС. Препарат КС от клона 1.С5 анализировали после электрофореза в SDS-ПААГ методом иммуноблоттинга как описано в разделе «Материал и методика». Электрофореграмма установила наличие двух полос: в положении 24 000 дальтон и в положении 56 000. Первая соответствует мол. массе лимфотоксина человека [5]. Происхождение полосы 56 000 дальтон не исследовано.

Ранее на основании ряда фактов было высказано предположение о том, что цитотоксическая, цитостатическая и ростстимулирующая активность продуктов секреции В-лимфобластов человека линии RPMI-6410t может быть обусловлена действием одного из факторов некроза опухолей [3].

Комплекс свойств продуктов секреции клеток 6410t, установленный в данной работе, показывает, что все указанные типы биологической активности обусловлены одним фактором—лимфотоксином человека. Известно, что синтез лимфотоксина и фактора некроза опухолей типа альфа различными линиями клеток сильно увеличивается под действием ФМА. Как видно из результатов данного исследования, цитотоксический и ростстимулирующий факторы синтезируются клетками линии 6410t и ее клонами конститутивно, а при стимуляции клеток ФМА уровень этих типов активности увеличивается в ростовой среде в несколько десятков раз. Действие факторов, синтезируемых конститутивно и индуцированных ФМА, практически полностью нейтрализуется антителами против лимфотоксина, но не подавляется антителами к ФНО- α . Из этих результатов видно, что цито-

токсическое и ростстимулирующее действие продуктов индуцированных ФМА и синтезируемых конститутивно, обусловлено одним и тем же фактором, который имеет серологическое родство с лимфотоксином. Напротив, цитокин, родственный ФНО- α , по-видимому, практически не содержится в продуктах секреции клеток 6410t и ее клонов, так как, в отличие от антител к ЛТ, антитела против ФНО- α не нейтрализуют действие этих продуктов в стандартном цитотоксическом тесте на клетках-мишенях L929. В полном соответствии с этими выводами анализ цитоплазматической РНК отчетливо выявляет наличие в этих клетках мРНК ЛТ, содержание которой увеличивается более чем в 10 раз после их активации ФМА; мРНК для ФНО- α обнаруживается лишь в следовых количествах независимо от обработки ФМА. Результаты электрофореза в градиенте ПААГ свидетельствуют о том, что клетки 6410t и I. С5 секретируют белок, имеющий серологическое родство с лимфотоксином и мол. массу 24 000, соответствующую мол. массе лимфотоксина человека.

Приведенная в данной работе совокупность критериев свидетельствует о том, что линия RPMI-6410t и полученные из нее клоны синтезируют лимфотоксин человека (ФНО- β). Ранее показано, что клетки 6410t имеют рецептор, специфически связывающий этот фактор [2]. Клетки 6410t секретируют этот цитокин в ростовую среду и в его отсутствии не размножаются. Следовательно, по отношению к В-клеткам линии RPMI-6410t лимфотоксин человека выполняет функцию аутокринного фактора роста. Такая функция лимфотоксина ранее была неизвестна.

ЛИТЕРАТУРА

1. Серегина Т. М., Мекшенков М. И. Онтогенез, 17, 494, 1986а.
2. Серегина Т. М., Мекшенков М. И. Онтогенез, 17, 606, 1986б.
3. Серегина Т. М., Мекшенков М. И. Цитология, 30, 327, 1988а.
4. Серегина Т. М., Мекшенков М. И. Цитология, 30, 335, 1988б.
5. Aggarwal B. B. et al. J. Biol. Chem., 260, 2345, 1985.
6. Beutler B. et al. J. Exp. Med., 161, 984, 1985.
7. Burmester G. R. et al. Rheumatol. Int., 3, 139, 1981.
8. Carswell E. A. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 3666, 1975.
9. Diehl V. et al. TNF and related cytokines* ed. Bonavida, 183, 1988.
10. Feinberg A. B., Vogelstein B. Anat. Biochem., 132, 6, 1983.
11. Fransen et al. Nucl. Acids Res., 13, 4417, 1985.
12. Granger G. A., Williams T. W. Nature, 218, 1253, 1968.
13. Gray P. W. et al. Nature, 312, 721, 1984.
14. Jeffes E. W. et al. J. Clin. Immunol., 4, 31, 1984.
15. Kawakami M., Cerami A. J. Exp. Med., 154, 631, 1981.
16. Leibovich S. J. et al. Nature, 329, 630, 1987.
17. Maniatis T. et al. Molecular Cloning. Cold Spring Harb. Lab., 1982.
18. Mestan J. et al. Nature, 323, 816, 1986.
19. Mirzakhanyan M. M. et al. Ter. Arkh., 55, 53, 1984.
20. Nedospasov S. A. et al. Cold Spring Harbor Symp., 51, 611, 1986.
21. Nedwin G. E. et al. Nucl. Acids Res., 13, 6361, 1985.
22. Old L. J. Science 230, 630, 1985.
23. Palumbo A. et al. Blood, 64, 1059, 1984.
24. Pennica D. et al. Nature, 312, 729, 1984.

25. Perussia B. et al. Immunol., 138, 765, 1987.
26. Powell M. B. et al. Lymphokine Res., 4, 13, 1985.
27. Ruddle N. H. Immunol. Today, 7, 8, 1986.
28. Ruddle N. H., Schmid D. S. Ann. Inst. Pasteur Immunol., 138, 314, 1987.
29. Ruddle N. H., Wahsman B. H. J. Exp. Med., 128, 1237, 1986.
30. Sersa G. et al. Int. J. Cancer, 42, 129, 1988.
31. Sohmura Y. TNF and related cytokines ed. Bonavida, Karger, 183, 1988.
32. Sugarman B. J. et al. Science, 230, 943, 1985.
33. Williamson B. D. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. US., 80, 5397, 1983.
34. Wong G. H. W., Goeddel D. V. Nature, 323, 819, 1986.

Поступило 19.XII 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 2 (44) 1991 г.

УДК 6.2.01.71

О ПОДАВЛЕНИИ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА У МЫШЕЙ, ПРИВИТЫХ ОБРАБОТАННЫМИ МИТОМИЦИНОМ-С ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ

Ю. Т. АЛЕКСАНИАН, К. А. КАЗАРЯН, М. В. ТАТЬЯН, Э. Т. ГАСПАРЯН,
И. П. МЕСРОПЯН, А. В. МОВСЕСЯН, С. А. СИМОНЯН, С. Т. ПЕТОЯН

Институт экспериментальной биологии АН Армении, Ереван

Установлено, что иммунизация мышей обработанными митомцином—С клетками опухоли МГХХIIa индуцирует выраженную противоопухолевую резистентность.

Մոմիցինով և, որ միտոմիցին—С-ով մշակված M2 XXII ա տուորային բջիջերով մկների իմունիզացիան հորանում է արտահայտված հակաօնկոցային ռեզիստենտություն:

Immunization of mice by M-XXII a tumor cells pretreated by mitomycin—C induced pronounced antitumor resistance

Опухолевые клетки—противоопухолевая резистентность—сенсibilизированные лимфоциты—натуральные киллеры.

Вопросы индукции в экспериментальных условиях резистентности к опухолям и усиления противоопухолевого иммунитета изучены все еще недостаточно [1, 5, 7, 9].

Задачей настоящей работы являлось изучение возможности использования обработанных митомцином—С опухолевых клеток для подавления у мышей опухолевого роста и индукции противоопухолевой резистентности.

Материал и методика. При проведении работы использованы мыши линии СЗНА, полученные из питомника «Рапполово» АМН СССР.

В качестве объекта исследования использованы клетки опухоли МГХХIIa, образовавшейся у мышей СЗНА после прививки длительно культивируемых клеток мишью гепатомы ХХIIa—клеток линии МГХХIIa [2]. В экспериментах применены суспензии клеток, полученные с помощью общепринятого метода трипсинизации опухолевой ткани [3].

Опухолевые клетки обрабатывали митомцином—С фирмы Serva в дозах 25, 50, 75, 100 μ на 1.10^6 клеток. Обработанные митомцином—С опухолевые клетки приви-

Сокращения: ГЗГ—гиперчувствительность замедленного типа.