

TABLA **XXV**

DETECCION DE Ag DE MEMBRANA H-2 EN CELULAS TUMORALES A1^(a)
 MEDIANTE ANTISUEROS POLIESPECIFICOS

	CPM : \bar{X} ±DS	% inhibición
Células	97799±4505	-
Complemento	87117±2815	-
(CBA X C57BL/6) α BALB/c	711±62	(99%)
(BALB/c X CBA) α C57BL/6	96783±5791	(0%)
CBA α BALB/c	11294±923	(87%)

(a) Células cultivadas.

TABLA XXVI

DETECCION DE Ag DE MEMBRANA H-2 EN CELULAS TUMORALES AL ^(a)
 MEDIANTE ANTISUEROS MONOESPECIFICOS

	CPM : $\bar{X} \pm DS$	% inhibición
Células	86740 \pm 6287	-
Complemento	86489 \pm 3517	-
D - 31	30846 \pm 1968	(0%)
D - 33	75591 \pm 6412	(13%)
D - 2	82304 \pm 5785	(5%)
D - 4	27872 \pm 1418	(68%)

(a) Células cultivadas.

TABLA XXVII

DETECCION DE Ag DE MEMBRANA H-2 (Ia) EN CELULAS TUMORALES
A1^(a) MEDIANTE SUEROS ANTI-Ia

	CPM : $\bar{x} \pm DS$	% inhibición
Células	97799 \pm 4505	-
Complemento	87117 \pm 2815	-
ATL α ATH	81456 \pm 6312	(6%)
(ATH X D2) α ATL	76502 \pm 3025	(12%)
(BLOK X ATL) α HTT	82890 \pm 4941	(5%)
(ATL X B10) α ATH	80674 \pm 5611	(7%)
ATH α ATL	79053 \pm 3386	(9%)

(a) Células cultivadas.

XII.- ANTIGENOS DE DIFERENCIACION (Thy-1) Y ESPECIFICOS DE TUMOR (BALB/c α MCG3) EN CELULAS GRA1

En las Tablas XXVIII y XXIX se ofrecen los resultados obtenidos en la detección de los dos tipos de antígenos reseñados en células A1, siendo las reactividades claramente negativas en ambos casos.

La Tabla XXX resume los resultados obtenidos para antígenos H-2 de clase I y II, de diferenciación y específicos de tumor.

XIII.- RECEPTORES DE MEMBRANA: RFc γ , RFc μ , RC3b y RC3d EN MCG3, GRA1 Y GRC3.

Conforme a los resultados presentados en la Tabla XXXI, puede observarse que prácticamente la totalidad de las células A1 y C3 presentaban en su superficie receptores para el fragmento Fc de la fracción inmunoglobulínica 7S (IgG); por el contrario, este marcador no pudo evidenciarse en MCG3 en porcentaje alguno en ninguna de las pruebas efectuadas.

En cuanto al receptor para la fracción inmunoglobulínica 19S (IgM), estaba ausente en los tres tipos celulares, del mismo modo que los receptores para los fragmentos C3b y C3d del Complemento. La ausencia de estos marcadores persistió incluso después de tratar las células tumorales con tripsina y/o con aminoetilisotiouronio (AET).

TABLA XXVIII

DETECCION DE ANTIGENOS DE DIFERENCIACION
EN CELULAS TUMORALES A1^(a)

	CPM : $\bar{X} \pm DS$	% inhibición
Células	98343 \pm 1529	-
Complemento	93939 \pm 761	-
Thy-1.2	79518 \pm 2875	(9%)
Thy-1.2 (monoclonal)	76755 \pm 2693	(12%)

(a) Células cultivadas.

TABLA XXIX

DETECCION DE ANTIGENOS ESPECIFICOS DE TUMOR MCG3 MEDIANTE
 SUERO ANTI-MCG3 EN CELULAS TUMORALES GRC3^(a)

		CPM : $\bar{x} \pm DS$	% inhibición
Sin absorber	Células	85905±7347	-
	Complemento	92443±8283	-
	BALB/c α MCG3	88361±7205	(1%)
Absorbido	Células	81901±5256	-
	Complemento	82760±3358	-
	BALB/c α MCG3	100211±9055	(0%)

(a) Células cultivadas.

TABLA XXX

ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD, DE DIFERENCIACION Y
ESPECIFICOS DE TUMOR MCG3 EN MCG3, GRA1,
C3R ASCITICAS Y C3R CULTIVADAS

	anti- H-2 I	anti- H-2 II	anti- Thy 1.2	BALB/c antiMCG3	BALB/c anti-MCG3 absorb. con C57
MCG3	H-2 ^{b+} /H-2 ^{d-}	Ia ⁻	+	+	+
C3R (a)	H-2 ^{b+} /H-2 ^{d+}	NT	+	+	+
C3R (c)	H-2 ^{b-} /H-2 ^{d+}	Ia ⁻	-	-	NT
A1	H-2 ^{d+} /H-2 ^{b-}	Ia ⁻	-	-	-
C3	H-2 ^{d+} /H-2 ^{b-}	Ia ⁻	-	-	-

NT: No testado

(a): ascíticas

(c): cultivadas

TABLA XXXI

RECEPTORES DE MEMBRANA E INMUNOGLOBULINA DE SUPERFICIE
EN A1, C3 Y MCG3 *

	RFe δ	RFe μ	CR1	CR2	IgS
PMN (Hu)	78 \pm 6%		65 \pm 7%		
Células T (Hu)		53 \pm 12%			
Células B (Hu)				56 \pm 3%	
Bazo (BALB/c)					36 \pm 3%
Bazo (C57BL/6)					41 \pm 6%
A1	92 \pm 4%	NR	NR	NR	ND
C3	90 \pm 3%	NR	NR	NR	ND
MCG3	NR	NR	NR	NR	ND

*n= 5 determinaciones

RFe δ = Receptor para el fragmento Fc de IgG

RFe μ = Receptor para el fragmento Fc de IgM

CR1= Receptor para el fragmento C3b del Complemento

CR2= Receptor para el fragmento C3d del Complemento

IgS= Inmunoglobulina de membrana

NR= No formación de rosetas

ND= No detectable

XIV.- CARACTERIZACION DE RFc γ EN GRAL Y GRC3.

Como ya comentamos en la sección de Métodos, para obtener un número de rosetas adecuado es necesaria una máxima sensibilización de las células diana con el anticuerpo correspondiente. Según puede observarse en la Fig. 23, la concentración a la que se saturaban los determinantes antigénicos correspondientes era distinta para cada uno de los anticuerpos monoclonales empleados. No obstante, a una concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$ todos los anticuerpos habían alcanzado ya un plateau de radiactividad, por lo que tal concentración fue elegida como "dilución saturante" en los experimentos de rosetas linfocito-célula tumoral.

A pesar de que existe cierta confusión sobre los diferentes tipos de receptores para el fragmento constante de la IgG y la mayor o menor afinidad de éstos por determinados subtipos de esta Ig, sí parece estar claro que al menos en ciertos tipos celulares (P.ej. monocitos/macrófagos) existen dos tipos de receptores para IgG: uno denominado de afinidad alta, capaz de fijar IgG monomérica y otro de baja afinidad, que sólo fija IgG cuando ésta está agregada o en forma de inmunocomplejos.

También parece comprobado que el receptor de alta afinidad es más selectivo para determinados subtipos de Fc (IgG₁, IgG_{2a}) que el de baja afinidad (fija en mayor o menor grado todos los tipos de IgG).

En nuestro caso, solamente cuando los linfocitos

T eran recubiertos con anticuerpo monoclonal murino de la - clase IgG₂a (OKT3) se formaban rosetas con A1 y C3, hecho - que no ocurría con los otros tres tipos de anticuerpos mono - clonales utilizados: IgG₁ (T-11A), IgG₂b (EMA 0110) e IgG₃- (EMA 110) (Vid. Tabla XXXII).

El porcentaje de rosetas en el caso de IgG₂a no - disminuyó cuando se incubaban previamente las células tumo - rales (A1 y C3) con el mismo Ac Mo en su forma pura (monomé - rica), ni tampoco cuando las células se incubaban con for - mas monoméricas de IgG₁, IgG₂b e IgG₃ monoclonales.

XV.- ROSETAS ESPONTANEAS TUMOR-TUMOR.

Los resultados no se presentan en forma de Tabla - o Figura porque ni A1 ni C3 evidenciaron poseer en su mem - brana algún tipo de estructura molecular que reconociera es - pecíficamente MCG3, la célula que había sido la causa de su transformación.

XVI.- INMUNOGLOBULINA DE MEMBRANA Y CITOPLASMATICA EN MCG3, GRA1 Y GRC3.

La presencia de inmunoglobulina en la membrana de las células tumorales se valoró en primer lugar con metodo - logía de fluorescencia directa, que arrojó, en las varias - ocasiones probada, resultados desde claramente negativos - unas veces, hasta dudosos en otras para A1 y C3, por lo - cual decidimos utilizar un método más sensible, mediante - técnica de rosetas con la inmunoglobulina de conejo anti-Ig

TABLA XXXII

CARACTERIZACION ISOTIPICA DEL RECEPTOR Fc DE A1 Y C3
 CON ANTICUERPOS MONOCLONALES (FRAGMENTO Fc).
 ROSETAS LINFOCITO-CELULA TUMORAL *

Tumor Ac No	A1	C3
OKT3 (IgG2a)	94±2%	95±2%
EMA 010 (IgG1)	NR	NR
EMA 0110 (IgG2b)	NR	NR
EMA 110 (IgG3)	NR	NR

* n= 5 determinaciones

NR= No formación de rosetas

murina acoplada a esferas de poliestireno. En esta ocasión, los resultados fueron negativos en todas las pruebas realizadas (menos del 1% como media de rosetas), frente a un control positivo con esplenocitos de BALB/c y C57BL/6 con medias de $36 \pm 8\%$ y $41 \pm 6\%$ de elementos celulares con Ig de superficie (Tabla XXXI).

La presencia de Ig citoplasmática, se precisó inicialmente también por inmunofluorescencia directa, con resultados positivos en un 10-50% de las células de tipo A1 y C3 (MCG3 presentó resultados consistentemente negativos), pero con tinciones muy discretas, que hacían difícil la valoración de las pruebas. Para obviar en lo posible este problema, probamos a efectuar la tinción citoplasmática mediante el método de la inmunoperoxidasa, obteniendo en este caso tinciones claramente positivas en la práctica totalidad de las células A1 y C3. MCG3 siguió presentando reacciones negativas.

Un segundo paso consistió en determinar la clase de cadena pesada en los citoplasmas de A1 y C3, que resultó ser en ambos casos de tipo gamma. En la determinación de la clase de cadena ligera obtuvimos resultados más dudosos, pero no obstante éstos eran sugerentes de que la clase asociada fuera de tipo kappa (Vid. Tabla XXXIII).

XVII.- ACTIVIDAD CELULAR CITOTOXICA DEPENDIENTE DE ANTICUERPO (ADCC) Y NATURAL KILLER EN MCG3, GRAL Y GRC3

Con ninguno de los tres tipos celulares pudimos -

TABLA XXXIII

DETECCION DE INMUNOGLOBULINA CITOPLASMATICA EN CELULAS GRA1
GRC3 Y MCG3 MEDIANTE TECNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS

	A1	C3	MCG3
IFD ⁽³⁾	<u>+</u> ⁽¹⁾	<u>+</u>	-
IPO ⁽⁴⁾	92% ⁽²⁾	84%	0%

- (1) + tinción dudosamente positiva en un 10%-50% de las células.
- (2) Porcentaje de células con tinción positiva para Ig_{cytoplasmática}
- (3) Inmunofluorescencia Directa
- (4) Inmunoperoxidasa

detectar actividad NK o ADCC frente a las células diana elegidas. Incluso en los primeros tests realizados obteníamos tasas de liberación del isótopo (Cr^{51}) inferiores a la espontánea, cuando enfrentamos las células tumorales a sus dianas respectivas. Este efecto era probablemente debido a una captación por las células neoplásicas del isótopo liberado por las células blanco, ya que la situación se corrigió cuando tratamos los tumores con mitomicina C (Vid. Figs 27, 28 y 29).

XVIII.- ACTIVIDAD CELULAR CITOTOXICA DEPENDIENTE DE ANTICUERPO (ADCC) Y NATURAL KILLER EN GRA1 Y GRC3 FRENTE A MCG3.

Ni A1 ni C3 evidenciaron reactividad alguna de carácter ADCC o NK frente al tumor que había sido la causa de su aparición, incluso cuando empleamos el antisuero BALB/c anti MCG3 en la técnica de citotoxicidad celular anticuerpo dependiente.

XIX.- ISOENZIMAS EN MCG3, GRA1 Y GRC3.

Probamos 4 sistemas isoenzimáticos que nos permitieran sacar conclusiones acerca del origen de las células A1 y C3 frente a MCG3. Dos de los enzimas: Dipeptidasa I (Dip-I) e isocitrato-deshidrogenasa (IDH) tienen la misma variante alélica isoenzimática en C57BL/10 y en BALB/c, mientras que los alelos de Glucosa-fosfato-isomerasa (GPI) y Enzima Máfico (EM) son distintos para esas dos cepas.

FIGURA 27: Actividad ADCC de MCG3, GRAl y GRC3 frente a hematies de pollo opsonizados con RACA.
(Dilución de RACA : 1/1000).

FIGURA 27

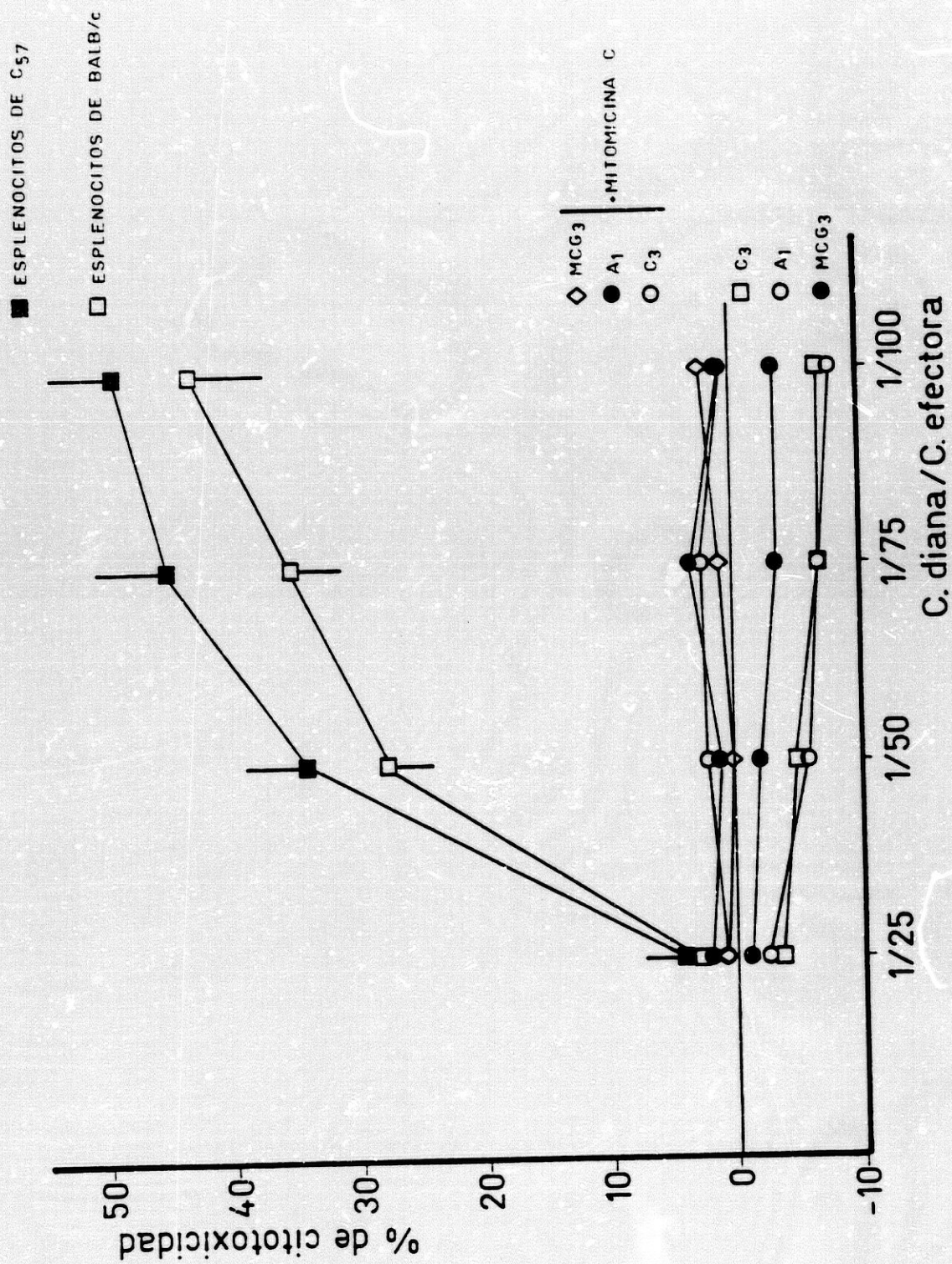


FIGURA 28: Actividad Natural Killer de MCG3, GR1 y -
GRC3 frente a células de YAC-1.

FIGURA 28

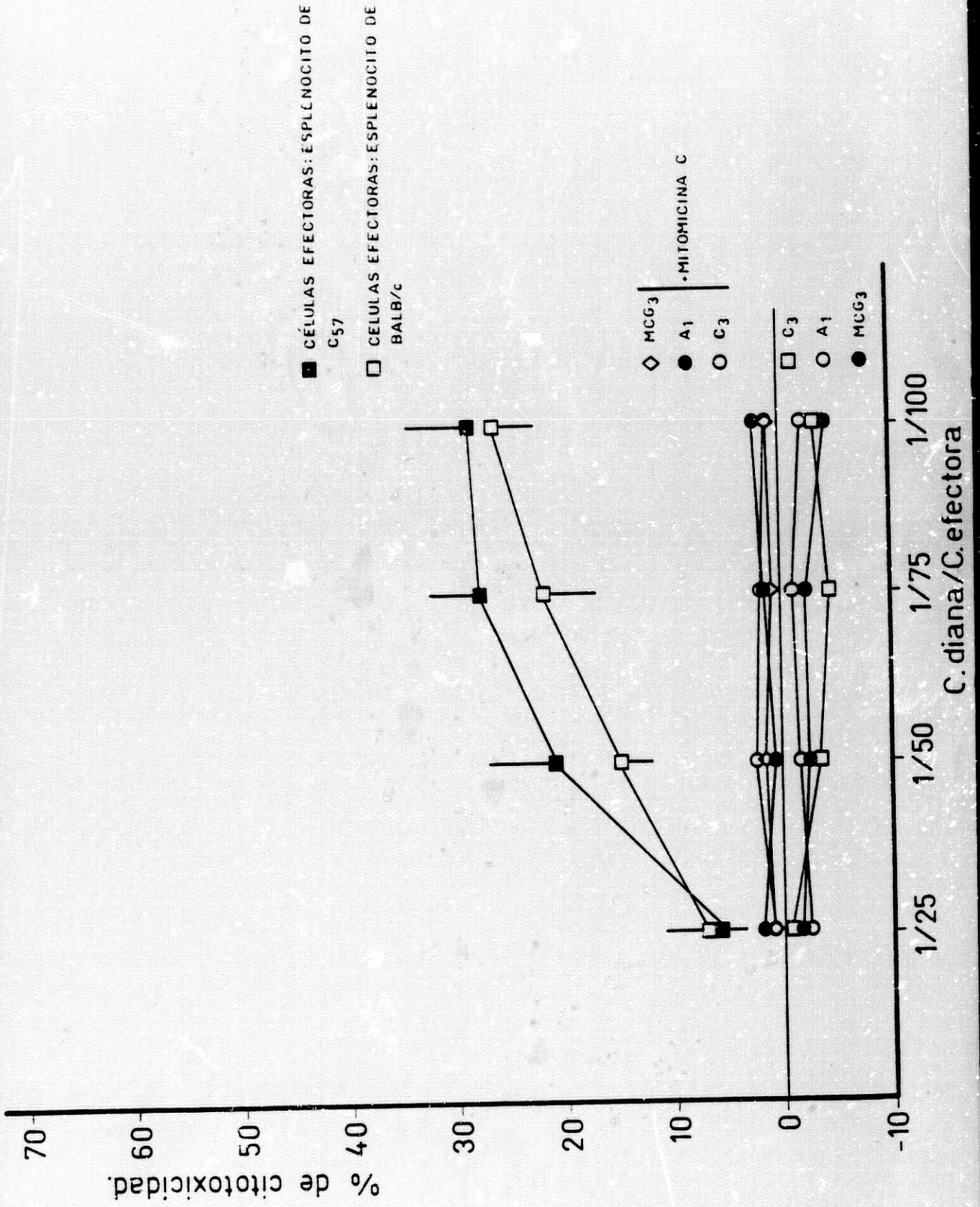


FIGURA 29: Actividad Natural Killer de MCG3, GRAl y -
GRC3 frente a células de P815-X2.

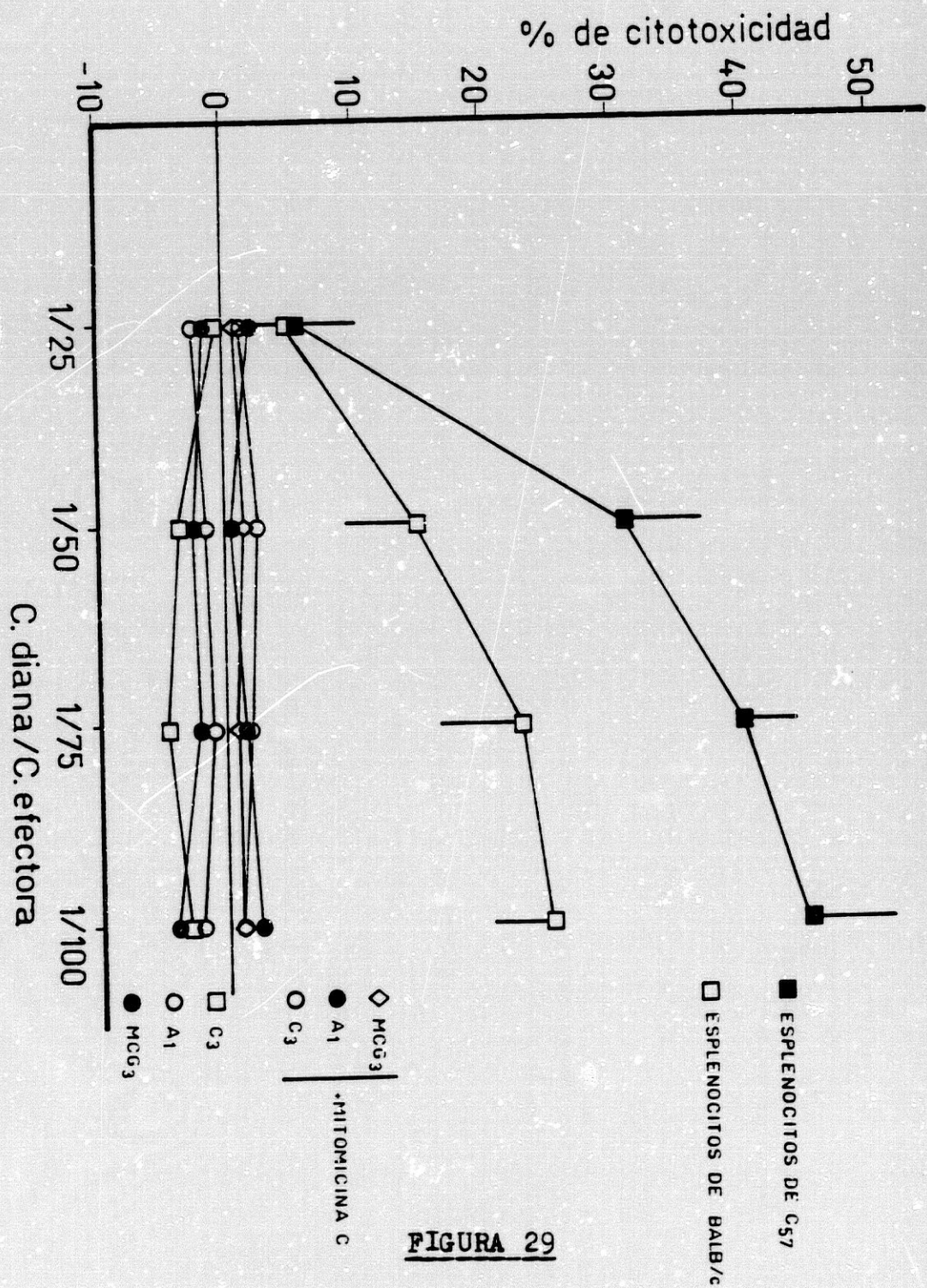


FIGURA 29

Las isoenzimas de Dip-I presentaban diferencias - claras en MCG3 frente a A1 y C3, cuya variante alélica se - comportaba como una isoenzima muy rápida, mientras MCG3 mos - traba la forma lenta conforme a su cepa de origen C57BL/10. A1 y C3, sin embargo, variaban con respecto al alelo de - BALB/c, que también es de carácter lento. Lo mismo ocurría - con las isoenzimas de IDH, donde la variante de MCG3 migra - ba en la zona lenta, como la de C57BL/10, en tanto que la - de A1 migraba en la zona rápida y C3 contenía ambas varian - tes (lenta/rápida). La forma alélica de BALB/c es de tipo - lento.

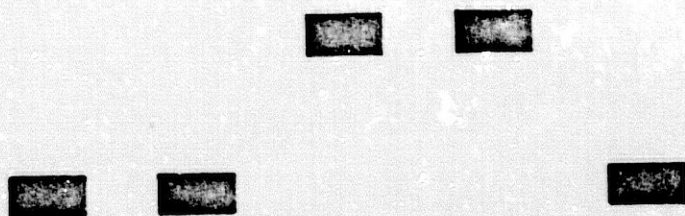
En el sistema del enzima málico, la migración de - la forma alélica de A1 y C3 era rápida como la de BALB/c, y la de MCG3 era lenta como la de C57BL/10.

Finalmente, existían también diferencias claras - entre A1 y C3 por un lado y MCG3 por otro, en las variantes isoenzimáticas de GPI, donde los dos primeros tumores conte - nían los alelos de tipo lento conforme al de BALB/c, y MCG3 presentaba la forma rápida, de acuerdo con la de C57BL/10 - (Vid. Figs. 30 y 31; Tabla XXXIV).

XX.- CITOQUIMICA ENZIMATICA DE GRA1, GRC3 Y MCG3.

Tal y como puede observarse en la Tabla XXXIV, en - esta ocasión los resultados aparecen como positivos (+), ne - gativos (-) o bien dudosos (\pm), en lugar de reseñarse los - porcentajes promedios para las distintas tinciones. Se con - sideró un resultado como positivo cuando la media de los -

+



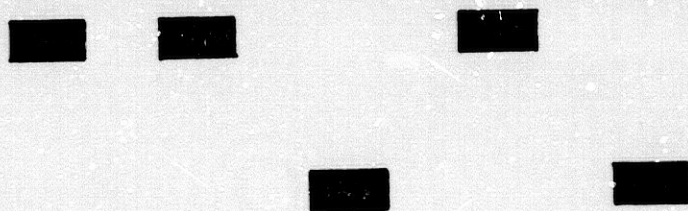
-

			(C)	(C)
	A ₁	C ₃	MCG ₃	CBA/H BALB/c

ISOENZIMAS GLUCOSA-FOSFATO-ISOMERASA (GPI).

FIGURA 30: Isoenzimas de GPI y DIP-1 en extractos de MCG₃, GRAL y GRC₃.

+



-

			(C)	(C)
	A ₁	C ₃	MCG ₃	CBA/H BALB/c

ISOENZIMAS DIPEPTIDASA (DIP).

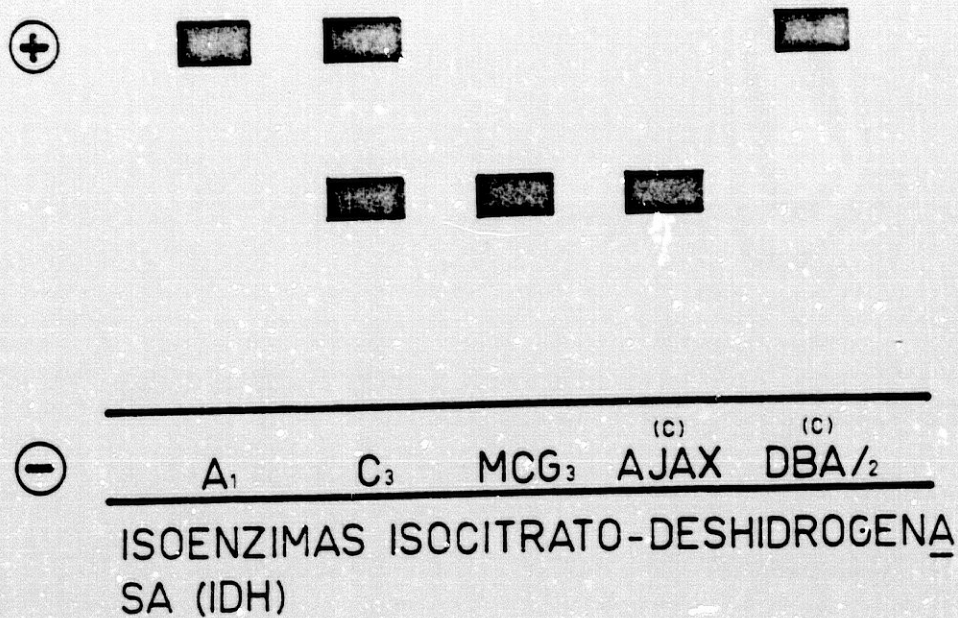


FIGURA 31: Isoenzimas de IDH y EM en extractos de MCG3, GRA1 y GRC3.

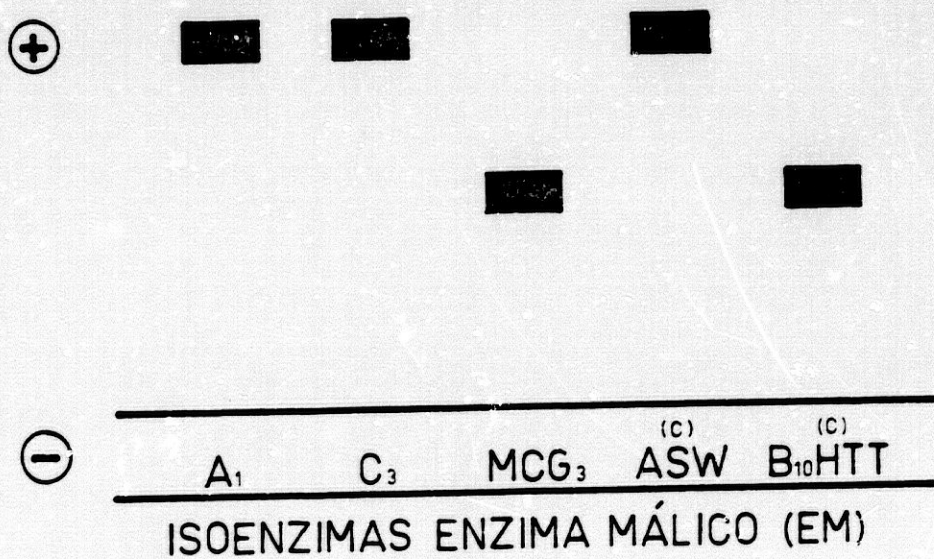


TABLA XXXIV

CARACTERIZACION ISOENZIMATICA DE A1, C3 Y NCG3

	NCG3	A1	C3
DIP-1	L	R	R
IDH	L	R	R/L
ME	L	R	R
GPI	R	L	L

DIP-1: Dipeptidasa

IDH: Isocitratodeshidrogenasa

ME: Enzima málico

GPI: Glucosafofosfatoisomerasa

L: Forma lenta

R: Forma rápida

porcentajes para una determinada isoenzima intracelular se situaba por encima del 50% de células teñidas. Si la media de elementos celulares teñidos se encontraba en el rango del 20-50%, el resultado era considerado dudoso y negativo cuando las cifras fueron inferiores al 20%.

La fosfatasa ácida intracitoplasmática fue positiva en las tres líneas celulares (90-100% de células teñidas) aunque con patrones diferentes para MCG3 por una parte y A1 y C3 por otra. Algunas células de la estirpe MCG3 presentaban un patrón granular, con grandes grumos precipitados en uno de los polos celulares y otras aparecían teñidas en forma de una banda periférica que abarcaba toda la circunferencia celular. A1 y MCG3 se teñían también con un patrón granular de grumos gruesos distribuidos por todo el citoplasma.

Cuando la tinción para esta enzima fue sometida al tartrato, la precipitación granular, aunque más débil, no desaparecía, adoptando la misma distribución que en la variante anterior, por lo que es muy probable que en ambos casos las mismas formas moleculares de la enzima fueran las responsables de la reacción.

La tinción para AS-D cloroacetato-esterasa era negativa en MCG3 (menos del 5% de elementos celulares teñidos), ofreciendo resultados dudosos en A1 y C3, con unos porcentajes de tinción comprendidos en un rango del 18%-33%. El patrón era granular fino, muy débil y disperso por todo el citoplasma.

TABLA XXXV

CARACTERIZACION CITOQUIMICA DE A1, C3 Y MCG3

	MCG3	A1	C3
PAS	-	-	-
Negro Sudán	-	-	-
Fosf. Acida	+	+	+
Fosf. Acida (Tr)	+	+	+
Peroxidasa	-	-	-
N. AS-D Cl	-	<u>+</u>	<u>+</u>
Esterasas inespecíficas			
AS-D	-	-	-
α ANAE	-	-	-
Fosf. Alcalina	-	-	-

Tr: Tarttrato-resistente

N. AS-D Cl: Cloracetato-esterasa

AS-D: AS-D acetato-esterasa

 α ANAE: α naftil-acetato-esterasa

El resto de las tinciones probadas (PAS, Negro Sudan B, Peroxidasas, Fosfatasa Alcalina y Esterasas inespecíficas --Naftol AS-D acetato esterasa y α -naftil acetato esterasa--) fueron persistentemente negativas con rangos de tinción oscilantes, según los casos, entre el 0%-14%.

En la Tabla XXXVI se reseñan los datos citoquímicos de las células del sistema hematopoyético.

XXI.- ACTIVIDAD FAGOCITICA EN MCG3, GRAL Y GRC3.

Las dos técnicas probadas en principio: fagocitosis de hematíes ovinos sensibilizados con IgG e ingestión de partículas de látex, se comportaron dentro de los límites esperados en los sistemas utilizados como control, rindiendo un $90 \pm 5\%$ en el caso de PMN con hematíes fagocitados en su citoplasma y porcentajes de $78 \pm 7\%$, $58 \pm 12\%$ y $85 \pm 6\%$ con ingestión efectiva de látex en macrófagos peritoneales de ratón, monocitos humanos y PMN humanos respectivamente. Sin embargo, en ninguno de los clones tumorales (MCG3, A1 y C3) se evidenció ingestión alguna de hematíes o partículas en ninguna de las pruebas realizadas (un total de 5 para cada técnica) (Vid. Tabla XXXVII).

El tercer tipo de protocolo utilizado para valorar la fagocitosis en A1 y C3 a través de su receptor Fc γ , consistió en incubar las células tumorales con la fracción inmunoglobulínica 7S (IgG) agregada. La utilización de este sistema tenía su explicación en los resultados publicados por algunos autores, que trabajando con células tumorales -

TABLA XXXVI

Rasgos citoquímicos de las células del sistema hematopoyético

REACCIÓN CITOQUÍMICA	MIELOBLASTOS	PROMIELOCITOS	NEUTROFILOS	EOSINOFILOS	BASOFILOS	MONOCITOS
Peroxidasa	0-3+	3+	3+	4+	0-1+	0-2+
Peroxidasa + cianida	0	0	0	3+	0	0
Pseudoperoxidasa	0	0	0	0	0	0
Negro Sudán B	0-3+	3+	3+	4+	0-1+	0-1+
Cloroacetato esterasa	0-2+	3+	3+	0+	0-1+	0-1+
α -Naftil acetato esterasa	0-1+	0-1+	0	0	0	4+ D
α -Naftil butirato esterasa	0	0	0	0	0	4+ D
Esterasa fluoruro-resistente (acetato o butirato)	0	0	0	0	0	0
Aminocaproico esterasa	0	0	0	0	0	0
Fosfatasa alcalina	0	0	0-4+	0	0	0
Fosfatasa ácida	0-1+	0-2+	2+	3+	1+	3-4+ D
Fosfatasa ácida tartrato- -resistente	0	0	0	0	0	0
Acido periódico de Schiff	0-1+	0-1+	3+	1-2+	1-2+	0-1+
Hierro	0	0	0	0	0	0
Azul de toluidina D	0	0	0	0	2-3+	0

ABREVIATURAS: D=Intinción difusa; F=Intinción focal.

NOTA: La intensidad de la reacción se gradúa en una escala de 0 a 4+. 0=No reacción; 4+=Reacción más intensa

TABLA XXXVI (Cont.)

Rasgos citoquímicos de las células del sistema hematopoyético (cont.)

REACCIÓN CITOQUÍMICA	LINFOCITOS-Th	LINFOCITOS-Ts	LINFÓBLASTOS-T	LINFOCITOS-B	LINFÓBLASTOS-B
Peroxidasa	0	0	0	0	0
Peroxidasa + cianida	0	0	0	0	0
Pseudoperoxidasa	0	0	0	0	0
Negro Sudán B	0	0	0	0	0
Cloroacetato esterasa	0	0	0	0	0
α-Naftil acetato esterasa	2+ F	0-1+	0-1+ F	0-1+	0
α-Naftil butirato esterasa	1-2+ F	0-1+	0-1+ F	0-1+	0
Esterasa fluoruro-resistente (acetato o butirato)	0-1+ F	0-1+	0-1+ F	0-1+	0
Aminocaproico esterasa	0	0	0	0	0
Fosfatasa alcalina	0	0	0	0-1+	0
Fosfatasa ácida	1+F	1-2+ D	2-3+ F	0-1+ D	0-1+ D
Fosfatasa ácida tartrato- -resistente	0	0	0-1+ F	0	0
Acido periódico de Schiff	0-1+	0-1+	0-1+	0-1+	0-1+
Hierro	0	0	0	0	0
Azul de toluidina D	0	0	0	0	0

ABREVIATURAS: D=Extinción difusa; F=Extinción focal.

NOTA: La intensidad de la reacción se gradúa en una escala de 0 a 4+: 0=No reacción; 4+=Reacción más intensa

TABLA XXXVI (Cont.)

Rasgos citoquímicos de las células del sistema hematopoyético (cont.)

REACCIÓN CITOQUÍMICA	PLASMACITOS	MASTOCITOS	CÉLULAS PELUDAS	HISTIOCITOS
Peroxidasa	0	0	0	0
Peroxidasa + cianida	0	0	0	0
Pseudoperoxidasa	0	0	0	0
Negro Sudán B	0	0	0	0-1+
Cloracetato esterasa	0	4+	0	0-1+
α -Naftil acetato esterasa	0-2+	0	0-2+	4+
α -Naftil butirato esterasa	0	0	0-1+	4+
Esterasa fluoruro-resistente (acetato o butirato)	0	0	0-1+	3-4+
Aminocaproico esterasa	0	3+	0	0-1+
Fosfatasa alcalina	0	0	0	0
Fosfatasa ácida	3+ D	3+ D	4+ D	4+
Fosfatasa ácida tartrato- -resistente	0	0-2+	4+ D	3-4+ D
Acido periódico de Schiff	0-2+	2+	0-1+	0-3+
Hierro	0	0	0	0-4+
Azul de toluidina D	0	4+	0	0

ABREVIATURAS: D=Intinción difusa; F=Intinción focal.

NOTA: La intensidad de la reacción se gradúa en una escala de 0 a 4+; 0=No reacción; 4+=Reacción más intensa

TABLA XXXVI (Cont.)

Rasgos citoquímicos de las células del sistema hematopoyético (cont.)

REACCIÓN CITOQUÍMICA	LINFOBLASTOS NULOS	MEGACARIOCITOS	PROERITROBLASTOS	ERITROBLASTOS
Peroxidasa	0	0	0	0
Peroxidasa + cianida	0	0	0	0
Pseudoperoxidasa	0	0	0-1+	2-3+
Negro Sudán B	0	0	0	0
Cloroacetato esterasa	0	0	0	0
α -Naftil acetato esterasa	0	4+	0-2+ F	0-1+ F
α -Naftil butirato esterasa	0	0-1+	0-1+ F	0
Esterasa fluoruro-resistente (acetato o butirato)	0	0-1+	0-1+ F	0
Aminocaproico esterasa	0	0	0	0
Fosfatasa alcalina	0	0	0	0
Fosfatasa ácida	0-1+ D	4+	1-2+ F	1+ F
Fosfatasa ácida tartrato- -resistente	0	0-1+	0	0
Acido periódico de Schiff	0-2+	4+	0	0
Hierro	0	0	0	0-2+
Azul de toluidina O	0	0	0	0

ABREVIATURAS: D=Intinción difusa; F=Intinción focal.

NOTA: La intensidad de la reacción se gradúa en una escala de 0 a 4+: 0=N...sección; 4+=Reacción más intensa

TABLA XXXVII

FAGOCITOSIS DE PARTICULAS DE LATEX Y HEMATIES DE CARIERO
OPSONIZADOS CON IgG, POR CELULAS TUMORALES A1, C3 Y MCG3*

	Látex	Hematíes opsonizados
PMN humanos activados	85±6%	90±5%
Macrófagos murinos (BALB/c), adheridos a plástico	78±7%	NP
Monocitos humanos adheridos a plástico	58±12%	NP
Monocitos humanos activados	39±9%	26±5%
A1	NF	NF
C3	NF	NF
MCG3	NF	NF

*n= 5 determinaciones

NP= No probado

NF= No fagocitosis

PMN= Polimorfonucleares

encontraron resultados negativos en cuanto a la ingestión - de partículas de látex o de hematíes sensibilizados con Ig, pero la fagocitosis tenía lugar cuando las células tumorales se incubaban con Ig agregada. En nuestro caso, como puede observarse en las Figs. 32 y 33, ninguna de las dos líneas celulares presentaba curvas sugerentes de fagocitosis activa y las pequeñas diferencias observadas en algunos puntos de la curva de A1 y C3 frente a MCG3, no fueron significativas, por lo que cabe atribuir las a una fijación de parte de la IgGaa a los receptores de membrana.

XXII.- ENZIMOINMUNOANÁLISIS DE LOS EXTRACTOS CELULARES Y SOBRENADANTES DE MCG3 Y GR1.

Dado que en la detección de Ig citoplasmática habíamos obtenido resultados dudosos unas veces y negativos - otras con inmunofluorescencia y aunque la técnica de inmunoperoxidasa parecía dejar pocas dudas acerca de la presencia de IgG en A1 y C3, para asegurarnos de que la tinción enzimática observada era específica y no debida a un artefacto, decidimos montar un protocolo de ELISA, que nos permitiera una confirmación fidedigna.

A pesar del gran número de células utilizadas en los extractos de EL-4 y MCG3, las lecturas obtenidas caían dentro, e incluso eran menores que las de los controles inespecíficos, lo que indicaba claramente la ausencia de moléculas inmunoglobulínicas en estas células. Las menores absorbancias obtenidas es muy probable que se debieran a un efecto de bloqueo extra por parte de los extractos, tenien-

FIGURA 32: Fagocitosis de IgG agregada por GRA1 y -
MCG3 frente a PMN humanos, medida como por-
centaje de Clq-I₁₂₅ precipitado.

FIGURA 32

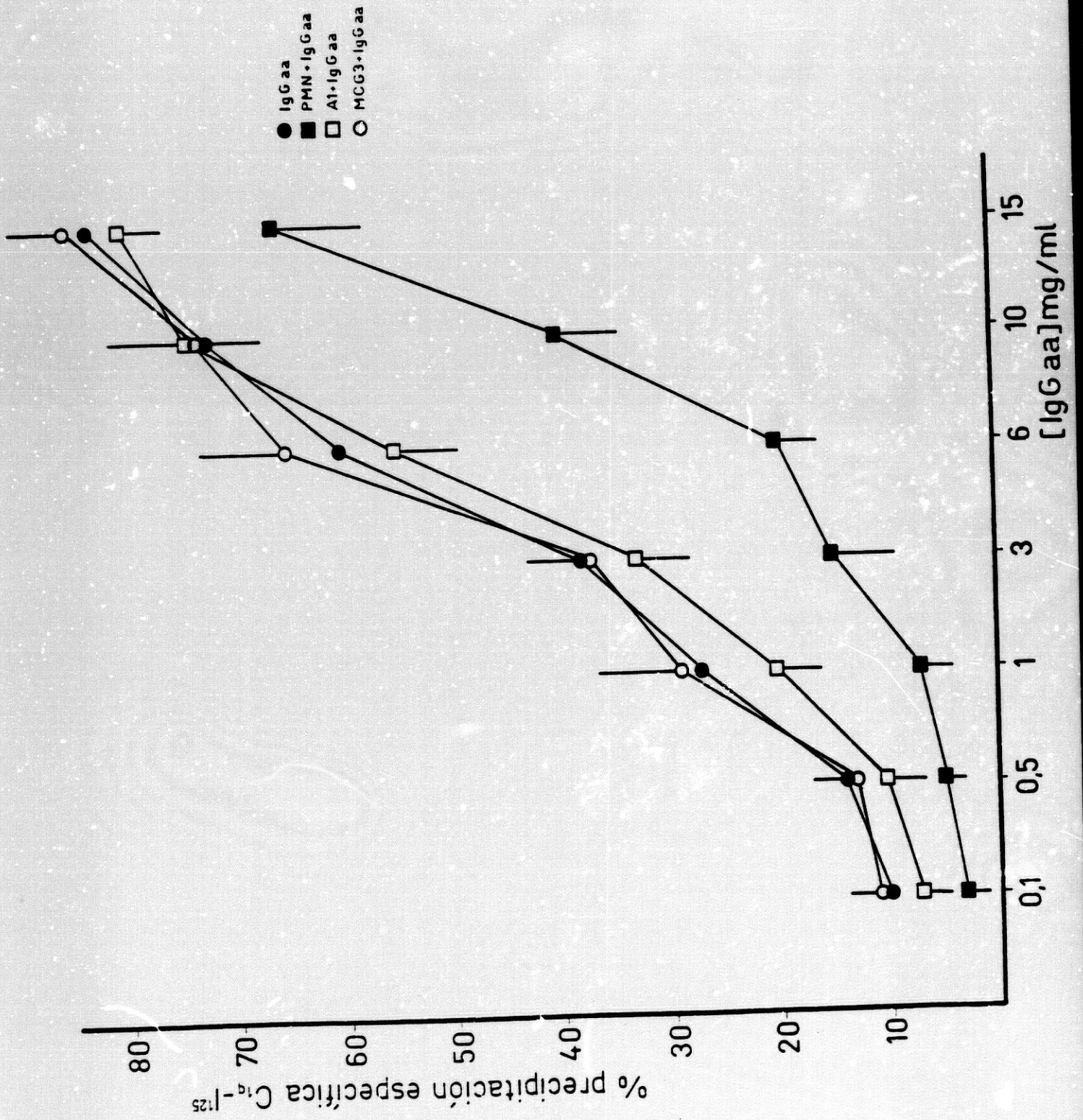


FIGURA 33: Fagocitosis de IgG agregada por GRC3 y -
MCG3 frente a PMN humanos, medida como por-
centaje de Clq-I¹²⁵ precipitado.

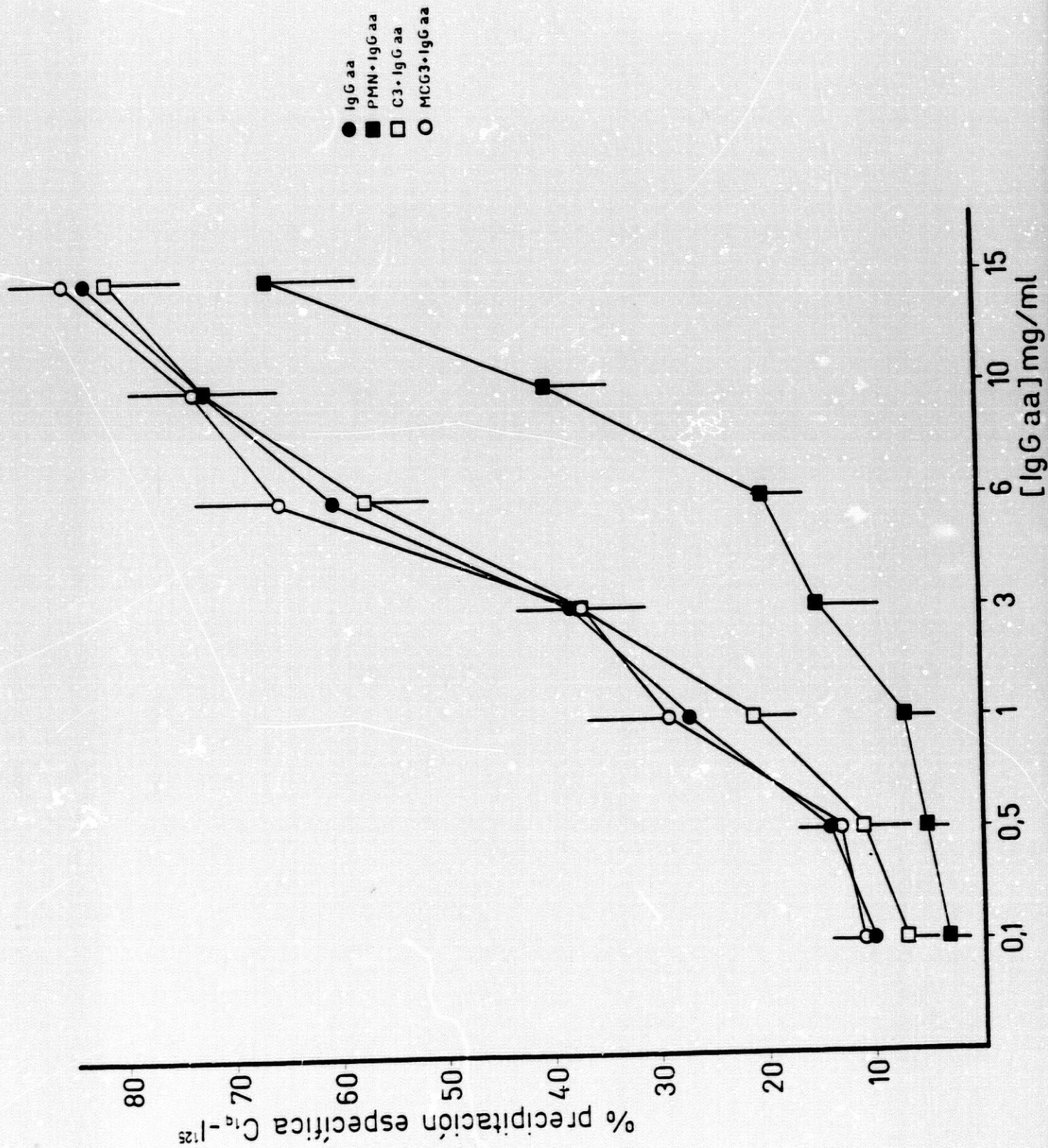


FIGURA 33

do en cuenta que al haber utilizado un gran número de células, su concentración en proteínas era muy rica.

Con respecto a A1 se obtuvieron lecturas de absorbancias que suponían frente a la curva estándar una concentración media de 84,3 ng/ml (Vid. Tabla XXXVIII). Esta concentración equivalía a un contenido de aproximadamente 5000 moléculas de IgG por célula y confirmaba los resultados obtenidos con la inmunoperoxidasa.

En ninguno de los sobrenadantes procesados se obtuvieron absorbancias sugerentes de la presencia de Ig murina en ellos, incluso cuando se utilizaban concentrados hasta 100 veces. La estimulación de las células con acetato-niristato de forbol (un agente con capacidad para inducir la diferenciación y los procesos secretorios celulares) no produjo un incremento de las tasas de Ig citoplasmática de A1, ni tampoco se detectó una elevación de la misma en los sobrenadantes de cultivo.

XXIII.- NIVELES DE ARILSULFATASA EN MCG3, GRA1 Y GRC3.

En general, las absorbancias registradas en los tres tipos de células tumorales fueron muy discretas, estando las de A1 y C3 prácticamente en valores basales, no existiendo significación estadística entre los valores obtenidos para un pool de células esplénicas murinas normales (BALB/c) y las de esos tumores. Las dosis ópticas de MCG3 y esplenocitos tampoco diferían significativamente, al igual que las de MCG3 con las de A1 y C3. Sin embargo, cuando se

TABLA XXXVIII

CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINA IgG EN LOS SOBRENADANTES DE GRA1, GRC3 Y MCG3 Y EN LOS EXTRACTOS CELULARES DE GRA1 Y MCG3 MEDIANTE ENZIMOINMUNOANALISIS

	Sin Estimular		Estimulado ⁽¹⁾	
	1X	100X ⁽²⁾	1X	100X ⁽²⁾
Extracto A1 (5x10 ⁷ cél.)	84,3ng/ml		79,8ng/ml	
Extracto MCG3 (5x10 ⁸ cél.)	<3ng/ml		<3ng/ml	
Sobrenadante A1	<3ng/ml	<3ng/ml	<3ng/ml	<3ng/ml
Sobrenadante MCG3	<3ng/ml	<3ng/ml	<3ng/ml	<3ng/ml
Sobrenadante C3	<3ng/ml	<3ng/ml		

(1) La estimulación de las células se realizó durante 72 horas con 10ng/ml de acetatomiristato de forbol.

(2) Sobrenadantes concentrados 100 veces.

compararon las absorbancias de A1 y C3 frente a las obtenidas con PMN humanos normales, se obtenían t experimentales de 5.2284 y 5.2110 respectivamente, con una p menor de 0,001 (Vid. Fig. 34).

La sensibilidad de la prueba se objetivó utilizando fracciones celulares periféricas humanas enriquecidas en eosinófilos (64-75%), de forma que las absorbancias obtenidas presentaron valores muy superiores a los del resto de las células probadas, puesto que los granulocitos eosinófilos contienen concentraciones importantes de arilsulfatasa. La variante alélica de esta enzima detectada en todos los tipos celulares posiblemente fue la misma, puesto que cuando los extractos celulares se resuspendían en cloruro sódico en vez de agua destilada, en todos los casos las absorbancias presentaban valores muy bajos, neutralizándose todas las diferencias observadas entre los distintos extractos acuosos. La variante isoenzimática detectada parecía ser la correspondiente a la forma B en extractos tisulares o celulares humanos.

XXIV.- DETECCIÓN DE ANTIGENOS DE MEMBRANA EN MCG3, GRA1 Y GRC3 CON ANTICUERPOS MONOCLONALES.

La detección de cualquier antígeno en una célula tumoral es siempre problemática, teniendo en cuenta los fenómenos de modulación, inhibición en la expresión y "oscurecimiento", entre otros, que sufren las moléculas de superficie en las células neoplásicas; es por ello que un resultado negativo no es indicativo en muchas ocasiones de la au -

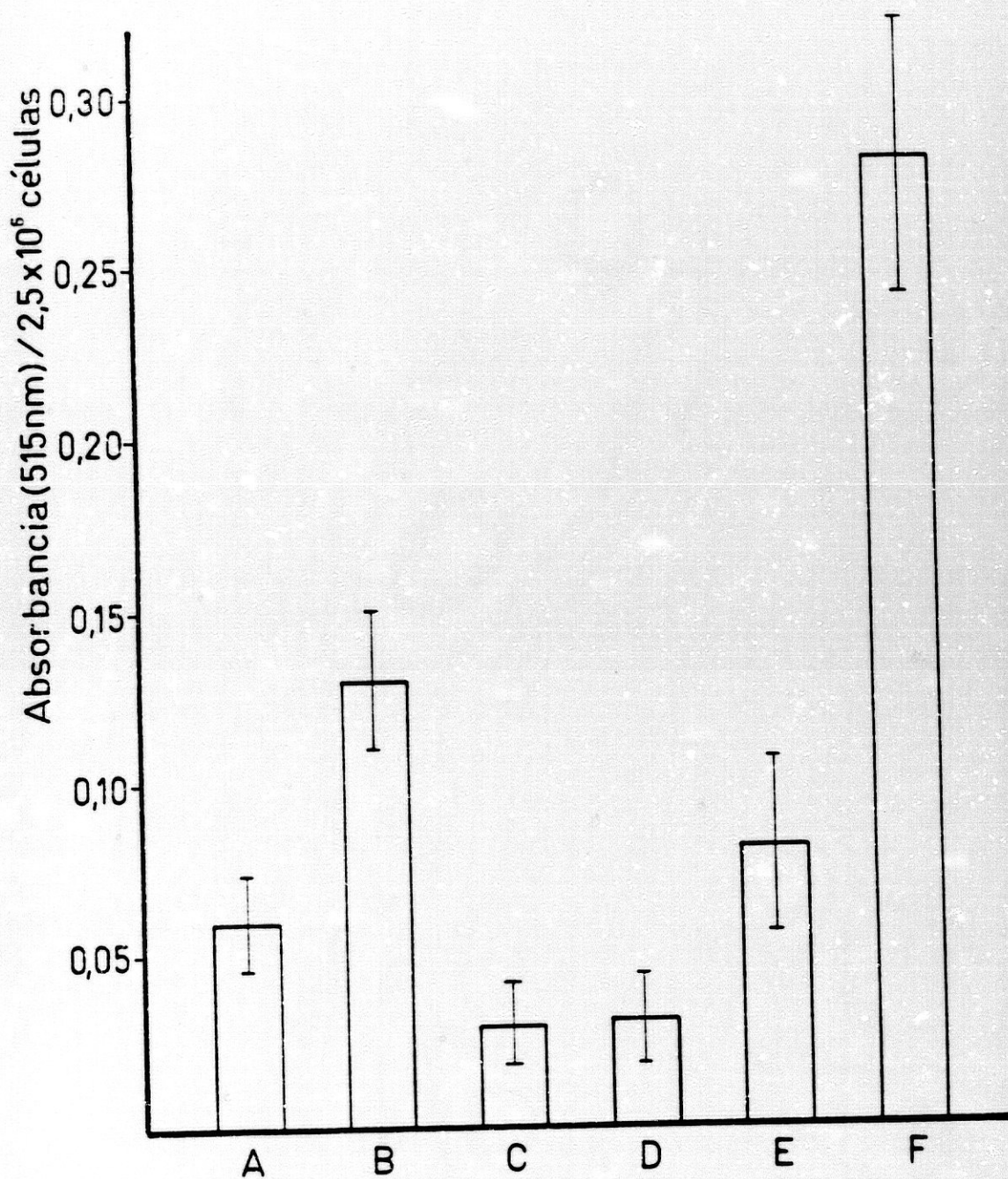


FIGURA 34: Comparación de los niveles de arilsulfatasa en células de distinto origen: A) Esplenocitos murinos (BALB/c). B) Polimorfonucleares humanos. C) Células tumorales GRA1. D) Células tumorales GRC3. E) Células tumorales MCG3. F) Eosinófilos periféricos humanos. La altura de cada barra representa la media de absorbancias obtenidas en tres determinaciones diferentes.

sencia de una especificidad antigénica en un tipo celular - determinado, máxime cuando se utilizan anticuerpos monoclonales, cuya exquisita especificidad les permite reconocer - un solo determinante en un antígeno preciso, lo que hace - más difícil aún la interpretación de los resultados, ya que los fenómenos aludidos son más frecuentes en estos casos.

Por otra parte, la detección de un antígeno en - concreto en la superficie de una célula determinada mediante técnicas cualitativas, tampoco permite a menudo obtener conclusiones válidas acerca del origen de la estirpe a la - que pertenece la célula en cuestión, puesto que dicho antígeno puede tener una distribución tisular variada, haciendo necesaria la utilización de técnicas cuantitativas; teniendo en cuenta que en estos extremos, células de origen diferente o distinta categoría funcional, exhiben normalmente - grados de expresividad antigénica también diferentes. Este - era el caso por ejemplo de algunos Ac Mo utilizados por nosotros, como Ly 5, cuya distribución celular es muy variada siendo la línea linfoide B la que presenta uno de los mayores niveles de expresión dentro del sistema hematopoyético, junto con la línea NK; o el de Ly 1, cuya expresión es más - abundante en las células T murinas de carácter helper/inductor, pero no obstante los linfocitos de tipo supresor/citotóxico (Ly 2) también expresan cantidades discretas de Ly 1 en su membrana.

Por todos estos motivos, decidimos emplear técnicas tanto de carácter cualitativo como cuantitativo por una parte, y por otra sometimos a las células a tratamiento des

ializante con Neuraminidasa, o bien a agentes químicos con potencialidad conocida para inducir la expresión antigénica celular, tales como el PMA (acetato-miristato de forbol).

Los porcentajes de positividad obtenidos con la técnica de citotoxicidad directa eran muy poco expresivos (salvo en el caso del Ac Mo 34.1.2S, donde se obtenían cifras de mortalidad claramente significativas) (Vid. Tabla XXXIX), incluso para aquellos anticuerpos monoclonales, tales como el Ly 5.1, cuya especificidad debiera haber sido objetivada sin ninguna duda en células supuestamente pertenecientes al sistema hematopoyético. Así pues, salvo en algunos casos cuyos índices de positividad sugerían la presencia de un antígeno determinado en la membrana de MCG3 o Al (p. ej. Lyt 1.2 en MCG3 o Ly 5.1 en Al), el resto de los valores indicaban más bien una ausencia en las células tumorales problema de los determinantes reconocidos por los Ac Mo empleados.

El tratamiento de los tumores con neuraminidasa o su estimulación con PMA, no mejoraba significativamente los valores obtenidos con las células no manipuladas. Los resultados obtenidos con la prueba de roseteo indirecto eran aún más desalentadores (Vid. Tabla XI). Las cifras obtenidas en las células control eran sensiblemente inferiores a las de citotoxicidad, a pesar de que la técnica IARR, cuando se emplean anticuerpos policlonales, demuestra mayor sensibilidad que la de citotoxicidad directa.

Sin embargo, el enzimoimmunoanálisis puso de mani

TABLA XXXIX

DETECCION DE ANTIGENOS DE MEMBRANA EN MCG3 Y A1 CON ANTI -
CUERPOS MONOCLONALES MEDIANTE CITOTOXICIDAD DIRECTA

Ae Mo Células	Ly 5.1	Lyt 1.2	Lyt 2.2	M5/114	34.5.3S	34.1.2S
Timocitos BALB/c	52±12%	98-100%	70±11%	6±2%	0%	NP ⁽¹⁾
Timocitos C57BL/6	68±9%	98-100%	75±7%	4±1%	0%	NP
EL-4	38±6%	51±10%	32±5%	0%	0%	88±8%
LSTRA	46±4%	0%	0%	78±15%	59±7%	72±5%
MCG3	32±7%	43±6%	29±5%	0%	0%	91±6%
A1	40±7%	0%	0%	0%	0%	66±7%
MCG3 ⁽²⁾ E	38±5%	51±6%	31±4%	0%	0%	93±8%
A1 ⁽²⁾ E	46±7%	7±3%	0%	0%	0%	70±6%

Los resultados se expresan como porcentajes de -
mortalidad media obtenida en 3 determinaciones.

(1) No Probado

(2) Células estimuladas durante 72 horas con 10ng
por ml. de acetatmiristato de forbol.

TABLA XL

DETECCION DE ANTIGENOS DE MEMBRANA EN MCG3 Y A1 MEDIANTE
ROSETEO INDIRECTO (IARR)

Ac Mo Células	Ly 5.1	Lyt 1.2	Lyt 2.2	M5/114	34.1.2S	MAS034
Macrófagos peritoneales de BALB/c	42±6%	NP ⁽¹⁾	NP	NP	NP	71±7%
Timocitos C57BL/6	42±9%	55±11%	41±10%	NP	NP	NP
EL-4	26±4%	45±8%	11±3%	NP	54±6%	0%
ISTRA	50±5%	0%	0%	39±8%	32±5%	0%
MCG3	6±2%	26±4%	7±4%	0%	40±10%	0%
A1	0%	0%	0%	0%	27±8%	0%
MCG3 E ⁽²⁾	13±4%	44±9%	8±3%	0%	44±11%	0%
A1 E ⁽²⁾	0%	2±2%	0%	0%	26±12%	0%

Los resultados se expresan como porcentajes de -
mortalidad media obtenida en 3 determinaciones.

(1) No Probado

(2) Células estimuladas durante 72 horas con -
10 ng/ml de acetatomiristato de forbol.

fiesto claramente la presencia o ausencia de un Ag determinado en la membrana de MCG3 o A1. En efecto, las absorban -
 cias correspondientes a cada Ac Mo empleado (Vid. Tablas -
 XLI y XLII) evidenciaban claramente la ausencia de antígenos H-2 de clase II en la superficie de A1 y MCG3, en las -
 distintas condiciones específicas en que se probaron los tumores (no manipulados, tratados con neuraminidasa o estimulados con PMA). Igualmente, resultaba clara la ausencia en -
 A1 y MCG3 de marcadores de estirpe macrofágica (MAS034), o -
 bien la presencia en ambos tipos de células tumorales del -
 antígeno de diferenciación Lyt 1.2; no obstante, en MCG3 dicho antígeno era más evidente.

También se obtuvieron lecturas positivas en todos los casos para el antígeno T200 (Ly 5.1), aunque con intensidades menores a las esperadas, tanto en las células control como en los tumores problema. La detección de antígenos H-2 de clase I también resultó conforme a lo esperado, de acuerdo con los haplotipos de A1 y MCG3. No obstante, pudimos constatar que con el Ac Mo 16.3.22N, específico a priori para el haplotipo H-2^k ya que reconoce la especificidad privada de ese haplotipo H-2.23 codificada por el locus H-2K, se obtenían fuertes absorbancias tanto con células A1 como MCG3 o con esplenocitos de BALB/c y C57BL/6, cuyos haplotipos no llevan dicho determinante (H-2.23).

Es muy probable que estos resultados se debieran a que el Ac Mo presentara reacciones cruzadas con H-2^b y H-2^d, posiblemente debido a una purificación deficiente. Prácticamente todos los antígenos detectados en A1 y MCG3 -

TABLA XLI

Detección de antígenos H-2 de diferenciación y macrofágicos en células GR α con anticuerpos monoclonales mediante enzoinmunoanálisis.

Células Ac Mo ⁽¹⁾	Absorbancia a 492 nm			
	A _i	A _i PMA ⁽²⁾	Timocitos BALB/c	Esplenocitos BALB/c
26, 7,11S,	0,049±0,008 ⁽³⁾	0,046±0,014	NP ⁽⁴⁾	0,060±0,021
34, 5,09	0,025±0,006	0,036±0,009	NP	0,311±0,038
28,16,85	0,036±0,010	0,040±0,006	NP	0,184±0,042
M5/114	0,020±0,001	0,031±0,011	NP	0,416±0,063
28,13,39	0,039±0,006	0,028±0,010	NP	0,032±0,009
31, 3,49	0,528±0,030	1,086±0,104	NP	0,294±0,053
34, 1,29	0,253±0,028	0,334±0,091	NP	0,348±0,037
34, 5,96	0,286±0,041	0,389±0,055	NP	0,209±0,016
16, 3,22N	0,461±0,080	0,737±0,099	NP	0,483±0,086
Ly 5,1	0,163±0,048	0,184±0,015	0,436±0,042	NP
Lyt 1,2	0,101±0,012	0,306±0,074	0,847±0,091	NP
Lyt 2,2	0,022±0,002	0,041±0,008	0,536±0,029	NP
MAS034	0,019±0,009	0,031±0,003	NP	0,153±0,017
Suero de BALB/c ⁽⁵⁾				
anti IgGmPD	0,005±0,005	0,024±0,010	0,018±0,008	-0,010±0,004
anti IgGrPD	0,021±0,004	0,040±0,016	0,029±0,012	0,001±0,0002
anti IgMmPD	0,035±0,013	0,038±0,009	0,036±0,021	0,036±0,038

(1) La especificidad de cada Ac Mo, se reseña en la tabla VIII.

(2) Cada valor de absorbancia supone la media de tres determinaciones.

(3) A_iPMA= Células A_i estimuladas durante 72h, con 10µg/ml de acetato miristato de forbol(PMA).

(4) NP= No probado.

(5) Anti IgGmPD= Anti IgG murina de cabra marcada con peroxidasa, IgGrPD= Anti IgG de rata obtenida de cabra marcada con peroxidasa, Anti IgMmPD= anti IgM murina marcada con peroxidasa.

TABLA XLII

Detección de antígenos H-2, de diferenciación y macrofágicos en células MCG₆ con anticuerpos monoclonales mediante enzoinmunoanálisis.

Células Ac Mo ⁽¹⁾	Absorbancia a 492 nm			
	MCG ₆	MCG ₆ PMA ⁽³⁾	Timocitos C ₅₇ BL ₆	Esplenocitos C ₅₇ BL ₆
26, 7, 11S	0,015±0,009 ⁽²⁾	0,027±0,013	NP ⁽⁴⁾	0,011±0,012
34, 5, 3S	0,026±0,012	0,035±0,007	NP	0,470±0,063
28, 16, 8S	0,032±0,015	0,052±0,017	NP	0,201±0,048
M ₆ /114	0,023±0,008	0,012±0,009	NP	0,532±0,106
28, 13, 3S	0,512±0,086	0,701±0,112	NP	0,395±0,090
31, 3, 4S	0,110±0,045	0,098±0,038	NP	0,040±0,016
34, 3, 2S	0,346±0,072	0,439±0,083	NP	0,347±0,081
34, 5, 8S	0,248±0,026	0,265±0,042	NP	0,186±0,029
15, 3, 22N	0,482±0,095	0,314±0,096	NP	0,767±0,076
Ly 5, 1	0,158±0,040	0,273±0,045	0,230±0,058	NP
Lyt 1, 2	0,196±0,023	0,416±0,081	0,953±0,119	NP
Lyt 2, 2	0,151±0,031	0,264±0,025	0,621±0,086	NP
MAS034	0,041±0,006	0,029±0,017	NP	0,127±0,043
Suero de C ₅₇ BL ₆ ⁽⁵⁾				
anti IgGmPD	0,027±0,008	0,015±0,004	0,014±0,011	0,023±0,006
anti IgGrPD	0,003±0,002	0,006±0,003	0,013±0,006	0,020±0,014
anti IgMmPD	0,025±0,009	0,012±0,007	0,010±0,001	0,102±0,030

- (1) La especificidad de cada Ac. Mo. se reseña en la tabla VIII.
- (2) Cada valor de absorbancia supone la media de tres determinaciones.
- (3) MCG₆PMA= Células MCG₆ estimulada durante 72 horas con 10 ng/ml de acetato-miristato de forbol.
- (4) NP= No probado.
- (5) Anti IgGmPD= Anti IgG murina de cabra marcada con peroxidasa, IgGrPD= Anti IgG de rata obtenida de cabra marcada con peroxidasa, Anti IgMmPD= anti IgM murina marcada con peroxidasa.

aumentaban su expresividad cuando las células eran tratadas con PMA (Vid. Tablas XLI y XLII).

Los resultados obtenidos tras el tratamiento de los tumores con neuraminidasa no se han tabulado porque eran sensiblemente similares a los reseñados para las células no manipuladas.

XXV.- ANALISIS ESTADISTICO

Para hacer el estudio comparativo de las distintas curvas hemos utilizado en un primer momento el análisis de la varianza de una vía entre cada dos puntos homogéneos (comportamiento de dos muestras problema frente a la misma variable) de distintas curvas, desestimando aquellos puntos cuyo error fuera superior a una milésima.

Posteriormente, los puntos se estudiaron hallando la "t" experimental de Bonferroni para muestras de distinto tamaño.

DISCUSSION

DISCUSION

El concepto de linfomatogénesis inducida por estimulación antigénica repetida o crónica, se basa en el hecho de un incremento en la incidencia de linfomas malignos bajo condiciones de estimulación persistente de los tejidos linforreticulares.

La hipótesis fue desarrollada en sus puntos esenciales por Schwartz en 1972 y se basaba en el descubrimiento de que virus oncogénicos latentes en las células linfocíticas de un huésped, podían ser activados inmunológicamente, asumiendo la premisa de la existencia de circuitos reguladores de la respuesta inmune, que en condiciones normales impedirían la activación de dichos virus oncogénicos en los linfocitos estimulados. Dicha activación viral a través del sistema inmune tendría lugar cuando las células inmunocompetentes, deprimidas parcialmente, reaccionaran de forma inadecuada frente a un antígeno determinado, o varios, que por añadidura no podrían ser eliminados, dada la incapacidad de responder eficazmente frente a aquéllos de las células linfocíticas del huésped.

Esta respuesta parcial, alterada por supuesto, pero existente al fin y al cabo, era inherente a la teoría si quería explicar la llamativa diferencia entre la incidencia de linfomas en pacientes profundamente inmunodeprimidos, - quienes presentan tasas de prevalencia de linfomas similares a las de la población normal, y las que presentan los enfermos que han sido transplantados o sufren inmunodeficiencia

cias no absolutas del sistema linfocítico T, cuya inmunodepresión está limitada sólo en grado relativo (Hoover y Fraumani, 1973; Louis y Schwartz, 1978; Penn, 1978). Así pues, de acuerdo con el concepto de linfomatogénesis a través de la estimulación antigénica persistente, un antígeno estimulará continuamente clonos de linfocitos reactivos si no puede ser eliminado en un tiempo límite por el tejido linforeticular. Eventualmente, este proceso podría conducir a un estado de hiperplasia linforeticular compensatoria, con pérdida de las restricciones de crecimiento, que normalmente conlleva este proceso.

Ya hemos comentado antes que este punto de vista se basa en una variedad de situaciones experimentales y clínicas, particularmente en la incidencia anormalmente alta de reticulosarcomas en receptores de alotransplantes renales humanos, que suponen en estos pacientes un riesgo 350 veces mayor que el de la población en general. La hipótesis tenía un apoyo argumental experimental, al menos en sus aspectos más básicos, en los hallazgos de Pasqualini y cols. en 1970, quienes comprobaron que si se inoculaban intraesplénicamente células leucémicas de ratones AKR en ratones alogénicos (BALB), se producía la aparición de un alto porcentaje de leucemias provenientes de los esplenocitos transformados de BALB, después de inocularlos intraesplénicamente en ratones singénicos. Los autores concluían que la respuesta frente a los tumores AKR producía la aparición de alto número de partículas virales tipo C en las células espléicas (activación viral) que constituiría el primer paso de -

disregulación, completado por el pase intraperitoneal de las células frente a las cuales la respuesta de ratones histocompatibles sería poco eficaz, cuando no inexistente.

La teoría recibió nueva savia cuando en los últimos años de la década de los 70 y primeros de los 80, diversos autores que nosotros vamos a ejemplificar en el trabajo de Baird y cols. en 1981, experimentando con cepas murinas atómicas, observaron que la estimulación antigénica de ratones pertenecientes a esas cepas, producía una incidencia anormalmente elevada de linfomas diversos (B, T y de células null) con elevaciones significativas de glicoproteínas víricas (gp70) en la sangre de esos ratones. Puesto que al radiar ratones no atómicos se reproducían los mismos fenómenos, los autores opinaban que efectivamente la linfomatogénesis tenía un origen viral; pero que no era necesaria la síntesis de partículas virales enteras para que se produjera la transformación neoplásica de los tejidos linforreticulares del huésped, siendo probablemente las proteínas las responsables directas de dicha transformación.

Sin embargo, no todos los autores llegaban a las mismas conclusiones y algunos incluso se mostraban particularmente reacios a aceptar las hipótesis de la linfomatogénesis inducida por activación viral como algo verdaderamente cierto. En efecto, Gleichmann y cols. en 1975, cuando inyectaban en un ratón híbrido (C57BL/10 X HTG)F1 células esplénicas de uno de los padres (C57BL/10), producían una reacción de injerto contra huésped crónica, al no poder las células del híbrido reaccionar contra los esplenocitos de

BL/10 y sí ocurrir lo contrario. De esa forma obtenían una transformación tumoral (fundamentalmente reticulosarcomas) en las células del híbrido, pero también en los esplenocitos parentales inyectados. Además, no observaron correlación alguna entre la aparición de virus RNA tipo C y la tasa de incidencia tumoral.

En opinión de estos autores, la inmunosupresión no era un prerrequisito para la linfomatogénesis, ni la presencia pretransformante de partículas o proteínas víricas tampoco.

En definitiva, la hiperplasia linforreticular de los pacientes con alotransplantes renales no se produciría por un descenso de la inmunovigilancia y el efecto principal de la inmunosupresión farmacológica en estos enfermos consistiría en la preservación del injerto durante un período de varios meses, en el cual podría tener lugar una estimulación antigénica persistente de las células linfoides del receptor.

De esta forma, y siempre desde el sesgo de este último trabajo comentado, la hiperplasia linforreticular dejaba de ser el mecanismo patogénico portador de la transformación maligna final de las células del receptor, para convertirse simplemente en un marcador de la progresión neoplásica, con independencia de su mecanismo de iniciación.

En un modelo más cercano al utilizado por nosotros, Kerbel y cols. en 1980, al inyectar células tumorales

con haplotipo $H-2K^k D^d \times K^d D^d$ en ratones DBA2 ($K^d D^d$), obtuvieron un tumor que en principio pensaron se trataba de una variante de las células inyectadas; pero luego comprobaron que la neoplasia obtenida correspondía a una transformación tumoral de las células del propio receptor, es decir, del ratón DBA/2. Este modelo semialogénico venía a demostrar: primero que era perfectamente posible obtener una transformación neoplásica en células de un huésped con mecanismos de inmunocompetencia normales. En segundo lugar que no era necesario alterar previamente los sistemas inmunorreguladores para provocar esa transformación; y en tercer lugar que tampoco existía una correlación entre la aparición del tumor en el huésped y la de partículas o proteínas víricas en su sangre periférica, pues estos autores no pudieron evidenciar ni unas ni otras.

Bajo nuestro punto de vista, en todos los modelos experimentales comentados hasta aquí, de una forma o de otra se parte de sistemas demasiado elaborados, lo que conlleva un alto riesgo de errores interpretativos, pues o bien se utilizan ya a priori receptores inmunodeprimidos, o bien se inoculan células previamente transformadas pero sin génicas, o bien se hacen pases de elementos celulares semialogénicos, con lo cual la respuesta del huésped resultará mucho más atenuada y por tanto susceptible de resultar alterada.

Por otra parte, la utilización de células no clonadas supone también asumir un riesgo de contaminación de las mismas por elementos celulares alogénicos o heterólogos,

hecho que puede constituir, y de hecho ha constituido al decir de algunos autores (Nelson-Rees y cols., 1981), un punto limitante, al menos teórico, muy difícil de desechar, sobre todo cuando los resultados no pueden interpretarse unívocamente en este tipo de sistemas, cosa que ocurre con poca frecuencia.

Teniendo en cuenta todas esas premisas, nosotros pensamos que si la hipótesis de Schwartz no era aplicable a todos los modelos experimentales o naturales de linfomatogénesis e hiperplasia linforreticular, entonces podría ser viable la inducción de una transformación tumoral de los tejidos linforreticulares de un huésped inmunocompetente, sometiéndole a choques sucesivos de células plenamente alogénicas. Era, por decirlo así, situarnos en el extremo de la línea seguida por Gleicgmann y cols. y Kerbel y los suyos.

Al utilizar células alogénicas tumorales como elementos inmunizantes, el sistema nos ofrecía la ventaja adicional de poder confirmar el concepto de "carcinogénesis inducida por tumores", avanzado por Kerbel y cols. en 1980, - que venía a poner de manifiesto un hecho apenas tenido en cuenta hasta entonces, a pesar de las evidencias existentes en patología humana (Bryant y cols., 1982; Golde y cols., 1977; Narashimhan y cols., 1975; Schwarze y Ude, 1975): el de que un huésped portador de un tumor en progresión, no sólo no fuera capaz de responder adecuadamente frente a él, - sino que en el curso de esa respuesta inoperante, o coincidiendo con ella, tuviera lugar la génesis de un nuevo tumor esta vez proveniente de los propios tejidos, linforreticula

res generalmente, del huésped.

Así pues, el primer paso de nuestro protocolo consistió en clonar el tumor MCG3 (H-2^b), elegir un clono con un crecimiento adecuado, expandirlo e inyectar con sus células a una serie de ratones BALB/c (H-2^d).

Para saber de donde partíamos, antes de inocular las células, hicimos una caracterización mínima del clono, intentando averiguar su estirpe tisular y si conservaba los antígenos de histocompatibilidad propios del tumor al que pertenecía. Las células clonadas eran reconocidas por los mismos antisueros antiH-2 poliespecíficos y monoespecíficos que en el caso de MCG3 no clonado. Igualmente presentaba el antígeno específico de tumor MCG3, incluso con el antisuero absorbido, así como el antígeno Thy 1.2 valorado con un anticuerpo policlonal y otro monoclonal, junto a una ausencia de antígenos H-2 de clase II.

Las células que íbamos a inyectar pertenecían - pues, posiblemente, a un tumor de características celulares compatibles con la línea linfocítica T. En lo sucesivo denominaremos a las células MCG3 clonadas únicamente como células o tumor MCG3.

Como ya establecimos en la sección de Resultados, en la 6ª semana, uno de los 15 ratones inyectados desarrolló ascitis progresiva. Doce murieron entre la 2ª y la 5ª - semanas o se sacrificaron cuando estaban en un estadio vital terminal, y al estudiar sus órganos, observamos en 11

de ellos infiltrados peritoneales de carácter hemorrágico, sin afectación aparente de las regiones ganglionares. Las células extraídas del infiltrado peritoneal, una vez adaptadas al cultivo "in vitro", presentaban los mismos marcadores que las que habían sido inyectadas, es decir, MCG3 (Thy 1.2 positivo, Ia⁻, H-2^{b+}, antígeno específico de MCG3 positivo), lo que sugería que las células infiltrantes eran coincidentes con las del tumor inoculado. En los cultivos de los ganglios regionales, no observamos crecimiento celular alguno, debido muy probablemente a que las células tumorales del infiltrado peritoneal no habían metastatizado las regiones ganglionares locales.

Además, en un tipaje celular previo al pase en cultivo de los ganglios no detectamos la presencia de antígenos propios del haplotipo H-2^b o del antígeno Thy 1.2.

Dos de los ratones, tras 6 inoculaciones de células MCG3, no presentaron signo alguno de afectación vital y cuando fueron sacrificados dos semanas después, no evidenciaron signos aparentes de reacción inflamatoria en sus órganos. Por otra parte, el suero extraído previamente de ellos era citotóxico para MCG3, incluso después de absorbido con células de B10, por lo que muy posiblemente reconociera la misma especificidad que el suero BALB/c \times MCG3 obtenido en inmunizaciones previas. Así pues, estos 2 ratones fueron etiquetados como regresores. En cuanto al ratón que había desarrollado ascitis, la aparición de ésta después de seis inoculaciones, nos hizo pensar que lo más probable era que el ratón se hubiera hecho tolerante al tumor, y por ello -

las células que probablemente encontraríamos en la ascitis, corresponderían a una expansión tumoral de las inoculadas - una semana antes. Sin embargo, cuando comenzamos a tipar - los antígenos H-2 de clase I en la membrana de las células_ extraídas del fluido ascítico, observamos que tanto los antisueros antiH-2^d como los antiH-2^b poliespecíficos y mono- específicos, reaccionaban con las células extraídas (C3Ra).

La explicación que nos pareció más lógica de este fenómeno fue que efectivamente habían crecido células MCG3_ y con ellas un infiltrado macrófago linfocitario y también_ granulocítico del huésped, como consecuencia de la respuesta de éste frente al tumor inoculado. No obstante, una tinción subsecuente de las células con Giemsa, nos permitió ob_ servar en el recuento diferencial, que el infiltrado mono y polimorfonuclear oscilaba entre un 5-10%, según los campos, de los elementos celulares teñidos. Teniendo en cuenta que_ las reactividades de los sueros antiH-2^d provocaban unos ín_ dices en la inhibición de captación de timidina muy eleva_ dos, no parecía que el grado de infiltración de células - del huésped (H-2^d) pudiera dar lugar a reacciones tan inten_ sas con los sueros antiH-2^d.

Por ello, sin descartar esa primera explicación - que nos seguía pareciendo la más plausible, comenzamos a - pensar que tal vez existieran formas celulares híbridas, ya que estos fenómenos de fusión entre tumores inoculados y cé_ lulas del huésped se producen con no poca frecuencia.

Para confirmar o eliminar alguna de estas posibilidades, establecimos cultivos in vitro de las células C3Ra pues de esa forma, tras varios pases, si las reacciones $H-2^{d+}$ se debían a elementos celulares infiltrativos normales, éstos morirían en el cultivo, con lo cual el tipaje $H-2^{d+}$ desaparecería al cabo de un tiempo prudencial; volvimos a teñir con Giemsa las células cultivadas, comprobando que los granulocitos y macrófagos habían desaparecido. El retipaje para H-2 clase I de las células cultivadas, tras el control de tinción, nos deparó una sorpresa mayor, no sólo se mantenían las reacciones positivas con los sueros anti $H-2^d$, sino que los antisueros que reconocían especificidades anti $H-2^b$ no presentaban ninguna reactividad. Con el antisuero específico de tumor (antiMCG3) tampoco se obtenía inhibición alguna en la captación de timidina por las células cultivadas que denominamos C3Rc.

Esto nos hizo volver sobre nuestros pasos y buscar nuevas hipótesis alternativas para explicar la posible presencia de elementos $H-2^{d+}$ en el cultivo. En primer lugar podría haber ocurrido que efectivamente el doble tipaje inicial detectado ($H-2^{d+} + H-2^{b+}$) correspondiera a la presencia de híbridos entre el tumor inyectado y células del animal receptor y que en el proceso de adaptación de las células al cultivo in vitro, éstas hubieran sufrido una modulación antigénica con pérdida de los antígenos propios del haplotipo $H-2^b$ y el específico de MCG3.

También existía la posibilidad, en último término, de que los elementos celulares que habían crecido en el cul

tivo pertenecieran a estirpes tisulares del animal inyectado, tras haber experimentado ciertos cambios que les permitieran crecer de forma indefinida in vitro.

Llegado este punto de la Discusión, creemos interesante comentar algunos datos adicionales obtenidos cuando tipamos C3Ra (las células ascíticas obtenidas en BALB/c por inoculación intraperitoneal de MCG3). Parecía evidente, que si habíamos inyectado un tumor con haplotipo H-2^b, la reacción H-2^{b+} en C3Ra debía corresponder a células MCG3. Ese tumor (MCG3), previamente a su inoculación intraperitoneal en BALB/c, era Thy 1.2 positivo; sin embargo, con el antisuero policlonal anti-Thy 1.2 no se obtenía ninguna reactividad frente a células C3Ra. Esto nos confundió aún más acerca del origen celular de los elementos H-2^{b+}. Tal vez hubiera ocurrido un fenómeno de modulación antigénica con cambio u "oscurecimiento" de la expresividad molecular de Thy 1.2, hecho descrito frecuentemente cuando se pasan células in vivo y más intraperitonealmente. Ahora bien, lo más probable era que el problema radicara en el propio antisuero anti-Thy 1.2, teniendo en cuenta que la potencia y especificidad de los antisueros policlonales presenta a menudo dificultades en la determinación y cuantificación de un antígeno sobre una misma célula, en condiciones de cultivo diferentes, tal y como ha apuntado recientemente Garrido ML en 1985.

Efectivamente, cuando probamos C3Ra con un anticuerpo monoclonal anti-Thy 1.2, la reacción era claramente positiva. Al enfrentar posteriormente el antisuero policlo-

nal y el Ac Mo con células del timoma EL-4 mediante citotoxicidad directa, se observaba que la mortalidad máxima obtenida con anti-Thy 1.2 policlonal era del 45%, mientras que la lograda con anti-Thy 1.2 monoclonal alcanzaba el 99%.

Alternativamente, C3Ra no presentó reactividad alguna con ninguno de los antisueros monoespecíficos anti-Ia, pero sí lo hizo con el antisuero específico de MCG3, lo que nos confirmaba la presencia de estas células en C3Ra.

Hechos estos breves comentarios marginales, volvemos a retomar nuestro proceso argumental con respecto a las células denominadas C3Rc en el punto en que lo habíamos dejado, es decir, nos encontramos ante un conglomerado celular adaptado al crecimiento in vitro, que no poseía ciertos marcadores de membrana característicos del tumor inyectado primitivamente, presentando sin embargo, antígenos de histocompatibilidad iguales o muy similares a los del ratón receptor, y cuya estirpe y características biológicas eran por el momento una incógnita.

Parecía lógico, que antes de iniciar ningún tipo de caracterización ulterior de C3Rc, estudiáramos su comportamiento in vivo, mediante pases intraperitoneales de las células en ratones BALB/c, al coincidir el haplotipo de éstos con el de aquéllas. De esta forma comprobaríamos por una parte si C3Rc era capaz de crecer en un sistema biológico aparentemente singénico en cuanto al sistema H-2, y por otra, las características de ese crecimiento. Dos semanas después de la inyección, los ratones BALB/c inoculados habí

an desarrollado ya ascitis evidente, por lo que se procedió a la extracción del fluido ascítico de uno de ellos, así como de sus ganglios inguinales y mesentéricos.

El tipaje de las células ascíticas coincidía en todos sus puntos con el de C3Rc: H-2^{d+}, H-2^{b-}, antígeno específico de MCG3⁻, Ia⁻, Thy 1.2⁻. Por otro lado, cuando se cultivaron las células extraídas de los ganglios inguinales por una parte y de los mesentéricos por otra, tras un mes de cultivo las células crecidas provenientes de las dos regiones ganglionares ofrecían las mismas características de tipaje que las ascíticas y, evidentemente, que las de C3Rc. A esto debe añadirse que los ratones inyectados a los que no les fue extraída la ascitis, acabaron muriendo y de sus ganglios mesentéricos e inguinales, así como del peritoneo, se obtuvieron células que, una vez cultivadas, tenían el mismo sistema antigénico de membrana que las extraídas en el primer ratón.

Estos últimos experimentos abogaban en favor de un origen tumoral de las células C3Rc, ya que no sólo crecían óptimamente en los huéspedes murinos a los que causaban la muerte, sino que también eran capaces de metastatizar en los ganglios regionales, propiedad ésta reconocida como la más característica de una célula maligna.

Los resultados anteriores también eran indicativos de que C3Rc se hubiera originado en líneas celulares pertenecientes al ratón BALB/c que fue objeto de la inoculación de MCG3. No obstante, la hipótesis de una posible hibridación

dación entre el tumor inmunizante y las células del huésped seguía sin poder desecharse definitivamente con las investigaciones desarrolladas hasta ese momento.

Por ello, tras clonar C3Rc, se eligieron dos clones cuyo crecimiento parecía óptimo y que, como ya hemos comentado, se denominaron GRA-1 o A1 y GRC3 o C3. En los extractos celulares de esos dos tipos de células clonadas, así como en el obtenido de MCG3, fueron estudiados diversos sistemas isoenzimáticos, pues ésta parecía la mejor forma de confirmar, o desechar, el origen híbrido de C3Rc o bien su origen en tejido del huésped (BALB/c).

Elegimos para ello cuatro sistemas de isoenzimas distintos. En dos de ellos (Dip-1 e IDH), los tejidos de BALB/c y los de C57BL/10 presentan la misma variante alélica y, por tanto, los tumores originados en esas cepas también. En los otros dos (EM y GPI) los alelos de BALB/c y de BL/10 tienen características electroforéticas distintas (Crispens, 1975), por lo que lo que los tumores obtenidos en cada una de las dos estirpes murinas deberán contener isoenzimas igualmente diferentes. Si C3Rc contenía células híbridas deberíamos conseguir una mezcla de formas alélicas representativas, tanto de BALB/c como de BL/10.

Los resultados nos depararon en verdad una nueva sorpresa. Las isoenzimas EM y GPI de A1 y C3 migraban como las de BALB/c y de manera distinta a las de MCG3, que en efecto lo hacían como las de BL/10. Con ello quedaba descartada la hipótesis del origen híbrido de C3Rc y se confirma-

ba su origen en tejidos de BALB/c. Pero en los otros dos sistemas (Dip-1 e IDH) donde se esperaban las mismas formas migratorias en los tres tumores (A1, C3 y MCG3), también resultaron ser distintas, de manera que MCG3 presentaba las variantes alélicas acordes con las de su cepa de origen, pero A1 y C3 presentaban isoenzimas diferentes a las de BALB/c; y en el caso de IDH, el extracto de C3 contenía tanto la variante de migración lenta (característica de BALB/c) como la de migración rápida, extraña a esa última cepa murina citada.

En definitiva, la caracterización isoenzimática de los clones tumorales nos permitió confirmar el distinto origen de MCG3 por un lado y de A1 y C3 por otro; pero también nos ponía sobre la pista de que los dos últimos clones tumorales contenían isoenzimas extrañas a las de la cepa murina en la que con toda probabilidad se habían originado.

Como durante todo ese tiempo no se estaban pasando in vitro otro tipo de células, que pudiera justificar una contaminación de los cultivos, más que las de los tres clones que venimos comentando, o los tumores respectivos de los que se habían obtenido dichos clones, sólo cabía la posibilidad de que el ratón al cual se le habían inoculado las células MCG3 no fuera en realidad una forma pura de BALB/c, sino un híbrido.

En efecto, en 1982 varios investigadores de las universidades de Wisconsin y Minnesota (Kahan y cols.), al determinar la pureza genética de varios lotes murinos obte-

nidos comercialmente de la cepa BALB/c, utilizando diversos antisueros antiH-2 y la detección de isoenzimas de glucosa-fosfato isomerasa (GPI), comprobaron que ni los haplotipos H-2 ni las variante alélicas de GPI correspondían al tipo esperado para dicha cepa. Su conclusión era que estos ratones tenían dotaciones genéticas de origen heterocigoto. Pese a que nuestros ratones BALB/c habían sido comprados a uno de los suministradores mencionados en el trabajo, no era descabellado pensar que el ratón objeto de la inoculación de MCG3 y que posteriormente desarrolló ascitis, estuviera también mezclado genéticamente.

Por otro lado, tampoco nos es posible descartar fidedignamente que la posible mezcla no hubiera tenido lugar en el animalario de nuestro propio laboratorio.

La hipótesis de la mezcla genética para explicar las variantes anómalas de Dip-1 e IDH, resulta aún más sugerente si se tiene en cuenta que esas dos enzimas se codifican en el mismo cromosoma, el I, y dentro de él ambas se encuentran en desequilibrio de asociación en cuanto a su transmisión genética (Nichols y Ruddle, 1973) (junto con Sp constituyen el grupo XIII de asociación en desequilibrio). Es pues lógico pensar que si los locus genéticos de ambas enzimas se segregan juntos en los procesos mito-meióticos, nosotros detectáramos variantes alélicas anormales en los dos sistemas enzimáticos al mismo tiempo.

En cuanto a la especulación sobre cuál fue la cepa que originalmente se cruzó con la de BALB/c, la que cuen

ta con mayores probabilidades es DBA/2, puesto que las variantes isoenzimáticas de esta cepa coinciden con las obtenidas por nosotros en los extractos de A1 y C3 (Vid. esquema adjunto), y por otra parte su haplotipo H-2 es igual al de BALB/c, coincidiendo posiblemente también con el de A1 y C3. Otra cepa murina de las mantenidas habitualmente en nuestro laboratorio cuyas isoenzimas, en los 4 sistemas estudiados por nosotros, coinciden con las de A1 y C3 es CBA, y por tanto podría haber sido también, en principio, la responsable del cruce; pero ninguno de los antisueros antiH-2^k que utilizamos -- BALB/c x CBA, (BALB/c x C57BL/6) x CBA y D-5 monoespecífico -- mostró reactividad alguna con A1 o C3, lo que sugiere la no participación de esta cepa en la posible mezcla genética detectada en BALB/c.

También tomamos en cuenta, en un principio, la posibilidad de que las variantes isoenzimáticas alélicas anómalas de IDH y Dip-1 fueran el producto de un fenómeno de derrepresión genética; no obstante, actualmente no se acepta esta hipótesis en cuanto a las variantes isoenzimáticas anómalas en cepas endogámicas o tumores derivados de ellas, pues se considera que son fruto de mezclas no controladas y por tanto desconocidas para el investigador hasta ese mento (Dr. A. Garrido, comunicación personal).

Aceptado pues que el origen de GRAl y GRC3 estaba en tejidos del ratón BALB/c inoculado que había sufrido la transformación maligna inducida por la inyección intraperitoneal de células tumorales MCG3, se imponía confirmar esta aparente evidencia mediante un tipaje de su haplotipo H-2, comprobando si era concordante con el de BALB/c.

VARIANTES ISOENZIMATICAS DE DIP-1, IDH, EM Y GPI EN DISTIN-
TAS CEPAS MURINAS Y TUMORES GRAL Y GRC3

	IDH	EM	LIP-1	GPI
BALB/c	L	L	L	L
CBA	R	R	R	R
C57BL/6	L	R	L	R
C57BL/10	L	L	L	L
DBA/2	R	L	R	L
A1	?/R	L	R	L
C3	L/R	L	R	L

L: Forma Lenta

R: Forma Rápida

Efectivamente, tanto A1 como C3 exhibían, dentro del grupo de antisueros probados, la misma dotación antigénica que C3Rc, con positividad para los antisueros poliespecíficos y monoespecíficos antiH-2^d y ausencia de reacción con aquellos que reconocían especificidades antiH-2^b.

Igualmente, las células de A1 y C3 parecían no poseer en la membrana antígenos Ia ni Thy 1.2, así como tampoco el antígeno específico de MCG3.

Para confirmar definitivamente los haplotipos H-2 de esos clones y el de MCG3, reiniciamos un nuevo tipaje de las células, esta vez con anticuerpos monoclonales exclusivamente, frente a distintas especificidades de clase I y de clase II, bien privadas para cada uno de los haplotipos H-2^b, H-2^d y H-2^k, o bien públicas para todos o parte de esos haplotipos.

Inclusive, a fin de evitar posibles falsos negativos o positivos en las pruebas, sometimos a las células a tratamientos previos con neuraminidasa para desializar la membrana, o bien las cultivamos con PMA durante 48 horas, al objeto de inducir una mayor expresividad o pérdida antigénica sobre la superficie celular.

El propósito era, en definitiva, hacer más específica la caracterización antigénica.

Los resultados fueron concluyentes en cuanto a -
la confirmación del haplotipo de MCG3, por una parte, -
(H-2^b) y A1 por otra (H-2^d), e igualmente, respecto a la -
ausencia de antígenos Ia en todas las células.

Desgraciadamente, no pudimos confirmar o dese -
char la presencia de antígenos propios de H-2^k sobre la -
membrana de A1, pues el antisuero monoclonal 16.3.22N, que -
teóricamente reconoce la especificidad H-2.23, privada de -
H-2^k, reaccionó con todas las células probadas, al igual -
que con los esplenocitos y timocitos de BALB/c y C57BL/6.

Esto nos llevó a pensar que el anticuerpo monoclo -
nal o no era específico para H-2.23, o bien que estaba dete -
riorado, como así ocurrió cuando observamos el fluido ascí -
tico en que venía contenido dicho anticuerpo monoclonal, y -
comprobamos que estaba completamente contaminado y con gran
abundancia de detritus celulares.

Cuando probamos este mismo anticuerpo monoclonal -
de un lote diferente y aparentemente no contaminado, obser -
vamos las mismas reacciones cruzadas.

Fueran A1 y C3 células heterocigóticas, tal y co -
mo parecían evidenciar los resultados, o no, lo que sí pare -
cía a todas luces evidente es que no provenían de MCG3 --

sino que con toda probabilidad eran correlatos neoplásicos de células pertenecientes al ratón primitivamente inoculado. Nos restaba ahora la tarea de filiar definitivamente la estirpe celular de cada uno de los tumores objeto de esta tesis: MCG3, GRA1 y GRC3.

Según observamos al comienzo de esta Discusión, MCG3 presentaba el antígeno Thy 1.2, dato que sugería su posible estirpe linfocítica T. La forma en que A1 y C3 habían sido generados nos llevaba a pensar, al menos teóricamente, y de acuerdo con la experiencia de otros autores (Pasqualini y cols., Gleichmann y cols.), en una posible ascendencia de carácter linforreticular. Tanto en un caso como en otro, la citocquímica ofrece ciertas posibilidades de esclarecer la línea característica de un tumor murino determinado, dentro del sistema hematopoyético (Kerbel y cols. 1981).

No obstante, los resultados obtenidos con estas técnicas deben considerarse con especial precacución y de una forma meramente orientativa hacia un estudio posterior con métodos más selectivos, ya que si estadísticamente las reacciones citocquímicas en los tumores del sistema hematopoyético siguen las mismas tendencias que las células normales de ese sistema, cuando se trata de tumores particulares es posible obtener tinciones anómalas no propias de una estirpe celular determinada.

La única reacción que evidenciaba una positividad clara era la de la fosfatasa ácida (FAC) en las tres clases de células. Primordialmente, esta tinción es característica

de dos líneas hematopoyéticas: la linfocítica T y la mononuclearfagocítica (Wehinger y Möbins, 1976). Además, la estirpe linfocítica B en sus últimos estadios de diferenciación (linfoplasmocítico y plasmático) es también positiva para fosfatasa ácida.

Con respecto a nuestros tumores, la positividad de tipo granular y localizada en un polo citoplasmático en MCG3, era compatible con el origen que le habíamos asignado provisionalmente, teniendo en cuenta que las esterases inespecíficas, AS-D cloroacetatoesterasa, mieloperoxidasa y fosfatasa alcalina, eran todas ellas negativas.

Una enzima muy característica de los linfocitos T helper, la alfa-naftil acetatoesterasa (Knowles y cols., 1979), presentó sin embargo resultados persistentemente negativos en MCG3. Por otra parte, la tinción de FAc en Al y C3, junto a las reacciones negativas de las enzimas características de las células macrofagohistiocitarias (esterasa inespecífica) y de la mielogramulocíticas (fosfatasa alcalina y mieloperoxidasa) (Quaglino y Flemans, 1956; Kaplow, 1968), nos permitía adscribirlos momentáneamente a una línea linfocítica T o B (Brannstein, 1959; Wachstein y Wolf, 1958).

La estirpe T no parecía muy probable, teniendo en cuenta que esos dos clones tumorales no tenían Thy 1.2 en su membrana y que la reacción del PAS era también negativa. No obstante, tampoco teníamos ningún dato para pensar que Al o C3 fueran neoplasias en los últimos estadios de dife -

renciación de la serie B, máxime cuando, según hemos mencionado, la tinción característica de glúcidos y por tanto de glicoproteínas (PAS) era negativa, resultado no muy propio de células que normalmente contienen grandes cantidades de glicoproteínas (inmunoglobulinas) en su citoplasma (Wislocki y cols., 1949; Mifus y cols., 1958).

Para clarificar en lo posible esta duda, hicimos una prueba con microscopía electrónica, pero ni en A1 ni en C3 pudimos detectar el retículo endoplásmico rugoso tan característico de las células plasmáticas. A estas dificultades se añadía la presencia en estos últimos tumores de pequeñas cantidades de AS-D cloroacetatoesterasa, tinción nada característica de la serie linfocítica B (Yam y cols., 1971). La asignación pues, de A1 o C3 a una línea dentro del sistema hematopoyético era inviable con los datos disponibles en esos momentos.

Todavía dentro de la citoquímica resta por comentar un resultado, cuando menos llamativo. Nos referimos a que la fosfatasa ácida presente en los tres tumores era resistente al tratamiento con tartrato. Esta, al menos en patología humana, es una reacción celular propia de la reticuloendoteliosis leucémica o leucemia de células peludas (Mover y cols., 1972). Sin embargo, en nuestro caso pensamos que se trataba de una tinción anómala, puesto que ninguno de los tres tumores presentaba por microscopía electrónica el complejo ribosómico lamelar, formación prácticamente patognomónica de las células peludas. Además, la alfa-naftilacetatoesterasa presenta fuertes reacciones en los elemen-

tos reticuloendoteliales y éste no era evidentemente nuestro caso. Debemos anotar, no obstante, que algunas células neoplásicas de la línea T contienen fosfatasa ácida resistente al tartrato, e igualmente algunas de la serie B terminal (Mover y cols., 1972) (la propia célula peluda es muy probablemente un correlato de linfocito B muy diferenciado). Después de todo, y a juzgar por los resultados que comentaremos más adelante, quizás esta última reacción no fuera tan anómala en ninguna de nuestras células tumorales.

En resumen, tal vez las conclusiones más claras que podían derivarse de los estudios citocímicos se desprendían de la ausencia de marcadores enzimáticos característicos y muy constantes también de las series granulocítica y mononuclearfagocítica, sugerentes de la no pertenencia de nuestros tumores a una de esas líneas celulares.

La caracterización de diversos receptores de superficie (Fc , Fc , CRI y CR3) así como la detección de inmunoglobulina de membrana (IgS), fue negativa en el caso de MCG3, resultados que no hablaban en contra del origen asignado a este tumor. Al y C3 tampoco expresaban IgS, Fc , CRI o CR3; pero prácticamente todas las células poseían grandes cantidades de receptores para la fracción 7S inmunoglobulínica. Aunque este tipo de receptores está presente en determinadas áreas tisulares de origen aparentemente no hematopoyético (células de la membrana basal glomerular, hepáticas y de la mama), su presencia en una célula debe hacer sospechar en principio que ésta pertenezca a una de las líneas hematopoyéticas, o bien a un correlato tumoral de éstas

(Stein, 1978).

Dentro del sistema linforreticular el receptor Fc gamma ha sido tradicionalmente clasificado como un marcador de la célula B. No obstante, esta estructura molecular está también presente en determinadas poblaciones de células T, células null(killer-natural killer), macrófagos y granulocitos (Stein, 1978). Por tanto, la presencia de receptores Fc no tiene por sí sola un valor discriminativo. Ahora bien, el receptor exhibe algunas particularidades su tiles entre los diferentes tipos celulares en los que se en cuentra. Así, por ejemplo, los macrófagos tienen una mayor afinidad que las células B para los eritrocitos opsonizados con IgG (Huber, 1969), mientras las células B fijan IgGaa mejor que los macrófagos (Dickler, 1972).

En nuestro caso, la existencia de RFc gamma en Al y C3 nos afirmaba aún más en nuestra primera impresión de que las células pudieran pertenecer al sistema linforreticu lar. No obstante, no era posible por el momento deducir de una forma objetiva a qué línea podían ser asignados estos tumores.

En conjunto, los datos de que disponíamos hasta el momento hacían compatible la pertenencia de nuestras células a una serie linfocítica no T, no B, mononuclear-fago cítica o B muy diferenciada. A priori, la condición de célu símilokiller o símilonatural killer de Al y C3 era una idea que resultaba atractiva y que a juzgar por los marcadores de membrana tenía ciertas posibilidades si consideramos que

ni el marcador típico de T (Thy 1.2), ni el de B (IgS) habían sido detectados en aquéllas. Sin embargo, ciertos rasgos de estos tumores no primaban tampoco su posible carácter de trasuntos neoplásicos killer o natural killer. En primer lugar, cuando cuantificamos bioquímicamente la tasa de fosfatasa ácida en MCG3, A1 y C3, observamos que, para cifras equivalentes de proteínas en los extractos los dos últimos contenían cantidades de esa enzima que quintuplicaban a las del primero, lo que nos acercaba más a un origen macrófago-histiocitario o plasmocítico. En segundo lugar, el gran número de hematies que fijaba cada célula en la formación de rosetas, tampoco era algo propio de una célula de estirpe no T no B.

Después de estas consideraciones, seguíamos sin poder establecer una filiación aproximada para GRA1 y GRC3, así que pensamos que lo mejor era investigar, con metodología más específica, qué características funcionales tenían esos tumores; es decir, si su origen se había derivado a partir de una célula killer o natural killer, era posible que exhibieran algunas propiedades de esas células. Alternativamente, esas mismas consideraciones eran igualmente válidas en el caso de una ascendencia mononuclear-fagocítica.

Si, por otra parte, su parentesco estaba en relación con una línea B muy diferenciada, entonces contendrían Ig en su citoplasma, aunque ya comentamos que la apariencia morfológica no apoyaba ese supuesto.

Finalmente, una caracterización más completa del

receptor Fc gamma podría ayudarnos también a dilucidar el origen de Al y C3.

Los resultados demostraron que ninguno de los dos tumores poseía actividad killer, natural killer o fagocítica, no obstante haber sido probados en distintas condiciones de experimentación y frente a blancos diferentes. A pesar de todo, debíamos ser cuidadosos en la interpretación de estos resultados, puesto que un tumor puede perder la actividad propia de su estirpe homóloga normal. Además, el estadio de diferenciación correspondiente al promonocito no exhibe propiedades fagocíticas y morfológicamente se solapa con una célula null (Kerbel y cols., 1981).

También es perfectamente posible que tumores de origen T, B o macrofágicos carezcan de uno o más marcadores esenciales asociados con el tipo celular a que pertenecen (Warner y cols., 1975).

Así pues, para establecer con cierta firmeza el origen de una célula tumoral es esencial hacerlo sobre los resultados positivos, más que excluirlo por otros negativos.

Un enzimoanálisis subsiguiente de MCG3, Al y C3 frente a un AcMo (MAS 034) que reconoce un antígeno específico de la línea macrofágica (MAC-1), no objetivó la presencia de dicho antígeno en ninguno de los clones tumorales; un nuevo dato que nos alejaba aún más del posible carácter fagocítico de Al y C3.

Por otra parte, el receptor Fc mostraba una selectividad de unión a IgG2a murina, hecho que tenía cierta importancia puesto que los macrófagos no suelen exhibir tal selectividad al poseer más de un tipo de receptor Fc gamma (Lane y Cooper, 1982). El receptor Fc gamma de las células null, tampoco obedece a esos criterios de selectividad. Si parece tenerlo, sin embargo, el RFc gamma de las células B (Lane y cols., 1982).

Así pues, resultaba evidente que la prueba más definitiva del origen celular B de nuestros tumores, que ahora nos parecía posible, la obtendríamos demostrando la presencia en ellos de Ig citoplasmática, teniendo en cuenta que las pruebas de que disponíamos no nos permitían etiquetar a estas células dentro de estadios de diferenciación prolinfocíticos (por ser Ia⁻) o linfocíticos B maduros (por ser IgS⁻).

Tras unos primeros resultados dudosos al probar las células con inmunofluorescencia, obtuvimos datos prácticamente confirmatorios de que efectivamente A1 y C3 contenían Ig citoplasmática, con la técnica de la inmunoperoxidasa. Un enzimoanálisis posterior de los extractos celulares, nos permitió incluso determinar el número de moléculas de IgG que contenía el citoplasma de cada célula de GRA1. La cantidad detectada fue muy discreta (6.000-8.000 moléculas/célula), lo que tal vez explicara el por qué la microscopía electrónica no había evidenciado un retículo endoplásmico prominente en las células tumorales.

En los sobrenadantes de A1 o C3 cultivados no detectamos la presencia de Ig, incluso en aquéllos que previamente habíamos concentrado 100 veces, o bien en otros obtenidos tras estimular la diferenciación celular con PMA.

En definitiva, era muy probablemente correlatos tumorales de células B en sus últimos estadios de diferenciación (linfoplasmático o plasmático), sin actividad secretoria aparente.

Nos resta por comentar, finalmente, los resulta-dos obtenidos con diversos AcMo específicos para ciertos antígenos de diferenciación de células del sistema hematopoyético murino; nos referimos a Lyt 1.2, Lyt 2.2 y Ly 5 (T200).

Tanto MCG3 como A1 expresaban Ly 5, lo que hacía más conclusivo aún su origen hematopoyético, pues este antígeno se expresa de un modo selectivo en las células originadas en médula ósea (Denner y cols., 1980).

En las células estimuladas con PMA, tenía lugar - un incremento en la expresión de este antígeno, hecho no característico de los plasmocitomas según Lanier y cols., aun que sí de las células T. Es muy probable, por tanto, que - efectivamente el nivel de diferenciación de A1 y C3 corres-ponda a un estadio linfoplasmático. Lyt 1.2 y Lyt 2.2 se expresaban también en MCG3, haciendo más consistente el ori-gen linfocítico T que le asignamos desde las primeras prue-bas.

Lyt 1.2 estaba presente asimismo en A1. Este antígeno es expresado en un 23% de los linfomas tipo B (Lanier y cols., 1981), de forma que su presencia en A1 no puede considerarse un fenómeno anormal.

En resumen, nuestros resultados parecen confirmar la hipótesis de Kerbel y cols. sobre la capacidad que los tumores tienen de actuar como agentes inductores, per se, de una transformación neoplásica sobre las células del sistema linforreticular del huésped en el que son inoculados. Esta transformación neoplásica biológicamente inducida parece operar característicamente sobre células de la serie B, al menos en los casos observados en patología humana (Van den Tweel y cols., 1979), al igual que en nuestro propio modelo experimental, donde el tumor inducido parece confirmar esta hipótesis, aunque el número de trabajos experimentales publicados en esta línea son muy escasos aún para poder sacar conclusiones más o menos generalizadas.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1) Un tumor murino -- MCG3 (H-2^b)-- (obtenido en nuestro Departamento inyectando Metilcolantreno en ratones de la cepa C57BL/10), con rasgos inmunológicos, inmunoquímicos y citoquímicos característicos de una línea tumoral linfocítica T (Thy 1.2⁺, Lyt 1.2⁺, Lyt 2.2⁺, RFcδ⁻, Ia⁻, IgS⁻, IgC⁻, Fosfatasa ácida⁺, Fagocitosis⁻), al ser inoculado en un ratón histoincompatible -- BALB/c (H-2^d) -- provocó la aparición de un tumor (C3Rc) de características diferentes a las del inoculado.

- 2) Este nuevo tumor, caracterizado como una línea linfocítica B en sus últimos estadios de diferenciación (IgS⁻, IgC⁺, Ia⁻, RFcδ⁺, Fosfatasa ácida⁺, Esterasas inespecíficas⁻, Fagocitosis⁻, Actividad citotóxica⁻), no presentaba ciertos marcadores característicos del tumor inoculado, ya que era Thy 1.2⁻, Lyt 2.2⁻, H-2^b⁻, Antígeno específico de MCG3⁻, y sí exhibía los antígenos de histocompatibilidad correspondientes al haplotipo del ratón receptor BALB/c, es decir, C3Rc se había originado en los tejidos linfoides del ratón inyectado con MCG3.

- 3) Aunque la mayor parte de los trabajos demuestran que la carcinogénesis mediada por células alogénicas opera fundamentalmente sobre sistemas biológicos previamente inmunodisregulados, de nuestros resultados se deduce que la uti

lización de células también alogénicas; pero con un elevado potencial de supervivencia (células tumorales), es capaz - igualmente de inducir una neoplasia de tipo linfoide en un huésped inmunocompetente.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- Abell CW, Monahan TM: The role of adenosine-3'5'-cyclic mono-
phosphate in the regulation of mammalian cell di-
vision. *J Cell Biol* 59:549, 1973
- Accolla RS, Sekaly RP, McDonald AP, Corte G, Gross N, Carrel
N: Demonstration at the single-cell level of the
existence of distinct clusters of epitopes in two
predefined human Ia molecular subsets. *Eur J Immu-
nol* 12:166, 1982
- Adams DO, Snyderman R: Do macrophages destroy nascent tu-
mors? *J natl Cancer Inst* 62:1341, 1979
- Aglietta M, Piacibello W, Gavosto F: Responsiveness to prog-
taglandin E₁ of different subtypes of normal and
pathological committed granulomonopoietic precu-
sors. *Act Haematol* 69:376, 1983
- Albino AP, Lloyd KO, Houghton AN, Oettgen HF, Old LJ: Hete-
rogeneity in surface antigen and glycoprotein ex-
pression of cell lines derived from different me-
lanoma metastases of the same patient: implica-
tions for the study of tumor antigen. *J Exp Med* -
154:1764, 1981
- Alitalo K, Schwab M, Lin CC, Varmus HE, Bishop JM: Homogene-
ously staining chromosomal regions contain ampli-
fied copies of an abundantly expressed cellular on-
cogene (c-myc) in malignant neuroendocrine cells
from a human colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci*
USA 80:1707, 1983

- Alley CD, Snodgrass MJ: Effectiveness of neuraminidase in - experimental immunotherapy of two murine pulmonary carcinomas. *Cancer Res* 37:45, 1977
- Aoki T, Stephenson JR, Aaronson SA: Demonstration of a cell surface antigen with murine sarcoma virus by immunoelectron microscopy. *Proc Nat Acad Sci USA* - 70:742, 1973
- Apffel CA: Nonimmunological host defenses: a review. *Cancer Res* 36:1527, 1976
- Arden B, Wakeland EK, Klein J: Minor structural variants of H-2K-controlled molecules in wild mice. *Immunogenetics* 16:491, 1982
- Atkinson BF, Ernst CS, Herlyn M, Stepiewski Z, Sears HF, Koprowski H: Gastrointestinal cancer-associated antigen in immunoperoxidase assay. *Cancer Res* 42: - 4280, 1982
- Bach FH: The HLA class II genes and products: the HLA-D region. *Immunol Today* 6, 3:89, 1985
- Bahttacharya A, Dorf ME, Springer TA: A shared alloantigenic determinant on Ia antigens encoded by the I-A and I-E subregions: evidence for I region gene duplication. *J Immunol* 127:2488, 1981
- Baillif RN, Kimbrough C: Studies on leucocyte granules after staining with Sudan black B and May Grünwald-Giemsa. *J Lab Clin Med* 32:155, 1947
- Baird SM, Beattie GM, Lannon RA, Lipsick JS, Jensen FC, Kaplan NO. Induction of Lymphoma in Antigenically -

- Stimulated Athymic Mice. *Cancer Res* 42:198, 1982
- Baldwin RW, Price MR: En: Becker FF ed. *Cancer: A comprehensive treatise*. New York, Plenum Press 1:507, 1982
- Balinsky D, Cayanis E, Geddes E, Bersohn I: Activities and isoenzyme patterns of some enzymes of glucose metabolism in human primary malignant hepatoma. *Cancer Res* 33:249, 1973a
- Balinsky D, Cayanis E, Bersohn I: The effects of various modulators on the activities of human pyruvate kinases isolated from normal adult and fetal liver - and hepatoma tissue. *Internat J Biochem* 4:489, - 1973b
- Ball ED, Graziano RF, Shen L, Fanger MW: Monoclonal antibodies to novel myeloid antigens reveal human neutrophil heterogeneity. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 5374, 1982
- Barclay AN, Mason DW: Induction of Ia antigen in rat epidermal cells and gut epithelium by immunological stimuli. *J Exp Med* 156:1665, 1982
- Bartoli GM, Bartoli S, Galeotti T, Bertoli E: Superoxide dismutase content and microsomal lipid composition of tumours with different growth rates. *Biochim Biophys Acta* 620:205, 1980
- Bartlett GL: Effect of host immunity on the antigenic strength of tumors. *J Natl Cancer Inst* 49:493, - 1972
- Baserga R: The relationship of the cell cycle to tumor -

- growth and control of cell division: a review. -
Cancer Res 25:581, 1965
- Baserga R: Multiplication and division in mammalian cells._
New York, Marcel Dekker pag 53, 1976
- Basham TY, Bourgeade MF, Creasy AA, Merigan TC: Interferon_
increases HLA synthesis in melanoma cells: inter-
feron-resistant and sensitive cell lines. Proc -
Natl Acad Sci USA 79:3265, 1982
- Bast RC, Zbar B, Borsos TS, Rapp HJ: BCG and cancer. N Engl
J Med 290:1413, 1974
- Baumann H, Chu FF, Cook J y cols.: 13th International Can-
cer Congress, part C. Biology of Cancer (2), 13, -
1983
- Baumann H, Doyle D: Effect of trypsin on the cell surface -
proteins of hepatoma tissue culture cells. J Biol
Chem 254:3935, 1979
- Becker S, Haskill S: Non-T cell mediated cytotoxicity in -
MSV tumor-bearing mice. III. Macrophage-mediated_
cytotoxicity against autochthonous MSV tumor-iso-
lated target cells. Int J Cancer 25:535, 1980
- Becker S, Klein E: Decreased "natural killer" effect in tu-
mor bearing mice and its relation to the immunity
against oncornavirus-determined cell surface anti-
gens. Eur J Immunol 6:892, 1976
- Beller DI, Unanue ER: Regulation of macrophage populations.
V. Evaluation of the control of macrophage Ia ex-
pression in vitro. J Immunol 129:971, 1982

- Benoist CO, Mathis DJ, Kanter MR, Williams VE, McDevitt MO: Regions of allelic hypervariability in the murine Aa immune response gene. *Cell* 34:169, 1983
- Berenblum I, Shubik P: A new quantitative approach to the study of the stages of chemical carcinogenesis in the mouse's skin. *Brit J Cancer* 1:383, 1947
- Berges J, De Nechand B, Uriel J: Reappearance of aldolase - in rat liver during compensatory regeneration after partial hepatectomy. *FEBS Lett* 48:76, 1974
- Berke G: Cytotoxic T lymphocytes - How do they function? - *Immunol Rev* 72:1, 1983
- Berke G: Interaction of cytotoxic T lymphocytes and target cells. *Prog Allergy* 27:69, 1980
- Bertram JS, Heidelberger C: Cell cycle dependency of oncogenic transformation induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res* 34:529, 1974
- Beverley PCL, Lindh D, Delia D: The isolation of human haemopoietic progenitor cells using monoclonal antibodies. *Nature* 287:332, 1980
- Biddison WE, Kotsyn DD, Strominger JL, Krangel MS: Delineation of immunologically and biochemically distinct HLA-A2 antigens. *J Immunol* 129:730, 1982
- Biddison WE, Rao PE, Talle MA, Goldstein G, Shaw S: Possible involvement of the T4 molecule in T cell recognition of class II HLA antigens: Evidence from studies of CTL-target cell binding. *J Exp Med* 159:783 1984

- Billingham RE, Silvers WK: The immunobiology of Transplantation. Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice-Hall Inc, pag 69, 1971
- Birnboim HC: DNA strand breakage in human leukocytes exposed to a tumor promoted, phorbol myristate acetate. Science 215:1247, 1982
- Birnboim HC: Importance of DNA strand-break damage in tumor promotion. In: Radioprotectors and Anticarcinogens Nygaard OF, Simic MG, eds. Academic Press, New York pag 539, 1983
- Bishop JM: Oncogenes. Invest y Ciencia 68:52, 1982
- Blume RS, Wolff SH: The Chediak-Higashi syndrome: studies in four patients and a review of the literature. Medicine 51:247, 1972
- Bodmer JR: The HLA system. Histocompatibility Testing, pag. 11, 1984
- Bosslet K, Schirmacher V: Escape of metastasizing clonal - tumor cell variants from tumor-specific cytolytic T lymphocytes. J Exp Med 154:557, 1981
- Boutwell RK: Some biological aspects of skin carcinogenesis. Progr Exp Tumor Res 4:207, 1964
- Boutwell RK: The function and mechanism of promoters of carcinogenesis. CRC Crit Rev Toxicol 2:419, 1974
- Boyd W: The Spontaneous Regression of Cancer. Springfield, Illinois, Charles C Thomas, 1966
- Bradbury EM, Inglis RJ, Matthews HR: Control of cell division by very lysine rich histone (F1) phosphoryla

- tion. Nature 247:257, 1974
- Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye binding. Anal Biochem 72:248, 1976
- Bramwell ME, Harrish H: Some further information about the abnormal membrane glycoprotein associated with malignancy. Proc Roy Soc London B 203:93, 1978
- Brash DE, Haseltine WA: UV-induced mutation hotspots occur at DNA damage hotspots. Nature 298:189, 1982
- Braunstein H: Esterase in leukocytes. J Histochem Cytochem 7:202, 1959
- Brem H, Folkman J: Inhibition of tumor angiogenesis mediated by cartilage. J Exp Med 141:427, 1975
- Brickell PM, Latchman DS, Murphy D, Willison K, Rigby PJ: Activation of a Qa/TLa class I major histocompatibility antigen gene is a general feature of oncogenesis in the mouse. Nature 306:756, 1983
- Brockham M, Magnani JL, Blaszczyk M y cols.: Monoclonal antibodies directed against the human Le^b blood-group antigen. J Biol Chem 256:13223, 1981
- Brooks CG, Kuribayashi K, Sale GE, Henney CS: Characterization of five cloned murine cell lines showing high cytolytic activity against YAC-1 cells. J Immunol 128:2326, 1982
- Brooks RF, Bennet DC, Smith JA: Mammalian cell cycles need two random transitions. Cell 19:493, 1980

- Brown JM: A study of the mechanism by which anticoagulation with Warfarin inhibits blood-borne metastases. *Cancer Res* 33:1217, 1973
- Brown JP, Klitzman JM, Hellström I, Nowinski C, Hellström KE: Antibody response of mice to chemically induced - tumours. *Proc Nat Acad Sci USA* 75:955, 1977
- Bryant E, Ronan SG, Iossifides IA: Plasma cell Myeloma in a patient with a cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer* 50:2122, 1982
- Burnet FM: Immunological surveillance. Pergamon Press, 1970
- Burns GF, Triglia T, Bartlett PF, MacKay IR: Human natural killer cells, and monocytes possess similar cytotoxic mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:7606, 1983
- Burton R, Thompson J, Warner NL: In vitro induction of tumour specific immunity. I. Development of optimal conditions for induction and assay of cytotoxic lymphocytes. *J Immunol Methods* 8:133, 1975
- Burton RC, Warner NL: Tumor immunity to murine plasma cell tumours. III. Detection of common and unique tumor associated on BALB/c, C3H and NZB plasmacytomas - by in vivo and in vitro induction of tumor-immune responses. *Natl Cancer Institute* 58:701, 1977
- Burton RC, Winn HJ: Studies on natural killer (NK) cells. I. NK cell specific antibodies in CE anti-CBA serum. *J Immunol* 126:1985, 1981
- Byers B: Cytology of the yeast life cycle. In: Strathern JN,

- Jones EW, Broach JR eds.: The Molecular Biology - of the Yeast *Saccharomyces*. Cold Spring Harbor, - NY, pag 59, 1981
- Cairncross JG, Mattes MJ, Beresford HR y cols.: Cell surface antigens of human astrocytoma defined by mouse monoclonal antibodies: identification of astrocytoma subsets. Proc Natl Acad Sci USA 79:5641, 1982
- Cairns J: Cancer: Science and Society. San Francisco, Freeman, 1978
- Calamai EG, Beller DI, Unanue ER: Regulation of macrophage populations. IV. Modulation of Ia expression in bone marrow-derived macrophages. J Immunol 128:1692 1982
- Callahan GN: Soluble factors produced during an immune response regulate Ia antigen expression by murine - adenocarcinoma and fibrosarcoma cells. J Immunol 132:2649, 1984
- Callahan GN, Allison JP: H-2 antigens on a murine lymphoma are associated with additional proteins. Nature 271:165, 1978
- Callahan GN, Pardi D, Giedlin MA, Allison JP, Morizot DM, - Martin WJ: Biochemical evidence for expression of a semiallogenic H-2 antigen by a murine adenocarcinoma. J Immunol 130:471, 1983
- Cantor H, Kasai M, Shen FW, Leclerc JC, Glimcher L: Immunogenetic analysis of "natural killer" activity in the mouse. Immunol Rev 44:3, 1979

- Capon DJ, Chen EY, Levinson AD, Seeburg PH, Goeddel DW: Complete nucleotide sequences of the T24 human bladder carcinoma oncogene and its normal homologue. *Nature* 302:33, 1983
- Carrel S, Tosi R, Gross N, Tanigaki N, Carmagnola AL, Accolla RS: Subsets of human Ia-like molecules defined by monoclonal antibodies. *Mol Immunol* 18:403, 1981
- Cerutti PA: Reparable damage in DNA. In: Hanawalt PC, Friedberg EC, Fox CF, eds.: DNA repair mechanisms. Academic Press, New York 1-14, 1978
- Cerutti PA, Amstad P, Emerit I: Tumor promoter phorbol-myristate-acetate induces membrane-mediated chromosomal damage. In: Nygaard OF, Simic MG, eds.: Radioprotectors and Anticarcinogens. Academic Press New York pag 527, 1983
- Chang TW, Kung PC, Gingras SP, Goldstein G: Does the OKT3 monoclonal antibody react with an antigen-recognition structure on human T cells? *Proc Natl Acad Sci USA* 78:1805, 1981
- Cheung WY: Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation. *Science* 207:19, 1980
- Chow DA, Wolosin LB, Greenberg AH: Murine natural anti-tumor antibodies. II. The contribution of natural antibodies to tumor surveillance. *Int J Cancer* 27:459, 1981b
- Chow DA, Miller VE, Carlson GA, Pohajdak B, Greenberg AH: Natural resistance to tumors is a heterogeneous

- immunological phenomenon: evidence for non-NK -
cell mechanisms. *Invas Metas* 1:205, 1981a
- Claas FHJ, Van Steenbrugge: Expression of HLA-like structures on a permanent human tumor line PC-93. *Tissue antigens* 21:227, 1983
- Clarke MF, Gelman EP, Reitz MS: Homology of human T-cell -
leukaemia virus envelope gene with class I HLA -
gene. *Nature*, 305:60, 1983
- Cleaver JE: DNA damage, repair systems and human hypersensiti
tive diseases. *J Environ Pathol Toxicol* 3:53, -
1980
- Coffino P, Bourne HR, Friedrich U: Molecular mechanisms of cy
clic AMP action: a genetic approach. *Recent -*
Prog Horm Res 32:669, 1976
- Colcher D, Hand PH, Nuti M, Schlom J: A spectrum of monoclona
l antibodies reactive with human mammary tumor
cells *Proc Natl Acad Sci USA* 78:3199, 1981
- Collett MS, Erikson RL: Protein Kinase activity associated with
the avian sarcoma virus src gene product. -
Proc Natl Acad Sci USA 75:2021, 1978
- Commission on Biochemical Nomenclature, IUPAC-IUB, Enzyme -
Nomenclature, American Elsevier, New York pag -
216, 1973
- Cooper GM: Cellular transforming genes. *Science* 217:801, -
1982a
- Cooper HS: Peanut lectin-binding sites in large bowel carcino
ma. *Lab Invest* 47:383, 1982b

- Cooper HS, Cox J, Patchefsky AS: Immunohistologic study of blood group substances in polyps of the distal colon: expression of a fetal antigen. *Am J Clin Pathol* 73:345, 1980
- Cooper EL: *Comparative Immunology*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1976
- Copeland ES: A National Institutes Of Health workshop report: Free radicals in promotion -- A chemical pathology study section workshop. *Cancer Res* 43: 5631, 1983
- Crispens CG: Handbook on the laboratory mouse. E/ Thomas CC pag 49, 1975
- Cuello AC, Wells C, Chaplin AJ, Milstein C: Serotonin immunoreactivity in carcinoid tumours demonstrated by a monoclonal antibody. *Lancet* 1:771, 1982
- Daar AS, Fuggle SV, Ting A, Fabre JW: Anomalous expression of HLA-DR antigens on human colorectal cancer cells. *J Immunol* 129:447, 1982
- Damjanov I, Solter D: Experimental teratoma. *Curr Top Pathol* 59:69, 1974
- Daynes RA, Emam M, Kruger GG, Roberts LK: Expression of Ia antigen on epidermal keratinocytes after the grafting of normal skin to nude mice. *J Immunol* 130:1536, 1983
- De Klein A, van Kessel AG, Grosveld G y cols.: A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic leukaemia. *Nature* 300:765,

1982

- De Lusto F, Haskill JS: In situ cytotoxic T cells in a methylcholanthrene-induced tumor. *J Immunol* 121: 1007, 1978
- De Serres FJ: Mutagenicity of chemical carcinogens. *Mutation Res* 41:43, 1976
- Dennert G, Hyman R, Lesley J, Trowbridge IS: Effects of cytotoxic monoclonal antibody specific for T200 glycoprotein on functional lymphoid cell populations. *Cell Immunol* 53:350, 1980
- Dennert G, Podack ER: Cytolysis by H-2 specific T killer cells: Assembly of tubular complexes on target membranes. *J Exp Med* 157:1483, 1983
- Den Otter W, Dulles Hub FJ, Van Lovern H, Pels E: Tumor effects of macrophages injected into animals: a review. In: James K, McBride B, Stuart A: *The macrophage and Cancer*. Edinburgh, Econoprint, p 119, 1977
- Dent PB, Fish LA, White JF, Good EA: Chediak-Higashi syndrome: observations on the nature of the associated malignancy. *Lab Invest* 15:1634, 1966
- Deutsch WA, Linn S: Further characterization of a depurinated DNA-purine base insertion activity from cultured human fibroblasts. *J Biol Chem* 254:12099, 1979
- Devlin JJ, Phaneuf JD, Granger GA: Inhibition of human lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity, natural killer-like cytotoxicity, and cytotoxic T-lym

phocyte mediated cytotoxicity by xenoantisera raised against concanavalin A stimulated human lymphocytes. *Cell Immunol* 68:64, 1982

Dickler HB, Kunkel HG: Interaction of aggregated gammaglobulin with B lymphocytes. *J Exp Med* 136:191, 1972

Diversos autores: Immunological reviews 1985. Números 84 y 85, dedicados enteramente al estudio del MHC

Djeu JY, Heinbaugh JA, Holden HT, Herberman RB: Augmentation of mouse natural killer cell activity by interferon and interferon inducers. *J Immunol* 122:175, 1979

Djeu JY, Huang KY, Herberman RB: Augmentation of mouse natural killer activity and induction of interferon by tumor cells in vivo. *J Exp Med* 151:781, 1980

Donner P, Greiser-Wilke I, Moelling K: Nuclear localization and DNA binding of the transforming gene product of avian myelocytomatosis virus. *Nature* 296:262, 1982

Doolittle RF, Hunkapiller MW, Hood LE y cols: Simian sarcoma virus onc gene, v-sis, is derived from the gene (or genes) encoding a platelet-derived growth factor. *Science* 221:275, 1983

Dourmashkin RR, Deteix P, Simone CB, Henkart PA: Electron microscopic demonstration of lesions on target cell membranes associated with antibody-dependent cytotoxicity. *Clin Exp Immunol* 43:554, 1980

Downward J, Yarden Y, Mayes E y cols: Close similarity of

- epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature* 307:521, 1984
- Doyle D, Baumann H: Turnover of the plasma membrane of mammalian cells. *Life Sci* 24:951, 1979
- Doyle D, Cook J, Baumann H: Regulation of membrane proteins in hepatocytes. In: Aria Im, Popper H, Schacter D Shafritz DA eds.: *The liver: Biological Pathobiology*. New York, Raven Press p 185, 1982
- Doyle D, Tweto J: Measurement of protein turnover in animal cells. *Methods in Cell Biology* X:235, 1975
- Duker RC, Chervenaki R, Cohen JJ: Endogenous endonuclease-induced DNA fragmentation: an early event in cell mediated cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 6361, 1983
- Dunham LJ: Cancer in man at site of prior benign lesion of skin or mucous membrane: a review. *Cancer Res* 32: 1359, 1972
- Dvorak HF, Orenstein NS, Carvalho AC y cols: Induction of a fibrin-gel investment: an early event in line 10 hepatocarcinoma growth mediated by tumor secreted products. *J Immunol* 122:166, 1979
- Eagle H, Foley GE, Koprowski H, Lazarus H, Levine EM, Adams RA: Growth characteristic of virus-transformed cells. *J Exp Med* 131:363, 1970
- Eaves G: The invasive growth of malignant tumors as a purely mechanical process. *J Pathol* 109:233, 1973

- Eckner RJ, Steeves RA: A clasification of the murine leukae mia viruses. Neutralization of pseudotypes of - friend spleen focus-forming virus by tipe-speci - fic murine antisera. J Exp Med 136:832, 1972
- Edwards PAW, Foster CS, Mc Ilhinney RAJ: Monoclonal antibo dies to teratomas and breast. Transplant Proc 12: 389, 1980
- Elwood JC, Lin YC, Cristofalo VJ, Weinhouse S, Morris HP: - Glucose utilization in homogenates of the Morris_ hepatoma 5123 and related tumors. Cancer Res 23:_ 906, 1963
- Ehrlich P: Arbeiten aus deur Kungl Institut Fur Experimente lle Therapie Zu Frankfurt AM Main 1:65, 1906
- Ehrlich P: In Himmelweit F ed: The Collected Papers of Paul Ehrlich. Pergamon, Oxford II:550, 1957
- Eibergen R, Lamberts HB, Oldhoff J, Ploeg EvD, Schrafford_ Koops H, Nieveg HO: Immune phagocytosis in vivo_ of human malignant melanoma cells. Acta Med Scan 192:141, 1972
- Emerit I, Cerutti PA: Tumor promoter phorbol-12-myristate-_ 13-acetate induces chromosomal damage via indi - rect action. Nature 293:144, 1981
- Engvall E, Miyashita M, Ruoslahti E: Monoclonal antibodies_ in analysis of oncoplacental protein SP1 in vivo_ and in vitro. Cancer Res 42:2028, 1982
- Erickson RL, Purchio AP, Erickson E, Collett MS, Brugge JS: Molecular events in cells transformed by Rous sar

- coma virus. J Cell Biol 87:319, 1980
- Evans GA, Margulies DH, Camerini-Otero RD, Ozato K, Seidman JG: Structure and expression of a mouse major histocompatibility antigen gene, H-2L^d. Proc Natl Acad Sci USA 79:1994, 1982
- Evans R, Alexander P: Role of macrophages in tumor immunity I. Cooperation between macrophages and lymphoid cells in syngeneic tumor immunity. Immunology 23: 615, 1972
- Evans R, Alexander P: Mechanisms of extracellular killing of nucleated mammalian cells by macrophages. In Nelson DS ed: Immunobiology of the Macrophage. New York, Academic Press p 535, 1976
- Evans R, Haskill S: In Herberman RH ed: The Reticuloendothelial System. A comprehensive treatise. New York, Plenum Press V:155, 1983
- Fan J, Ahmed A, Bonavida B: Studies on the induction and expression of T-cell mediated immunity. X. Inhibition by Lyt 2.3 antisera of cytotoxic T lymphocyte mediated antigen-specific and non-specific cytotoxicity: evidence for the blocking of the binding between T lymphocytes. J Immunol 125:2444, 1980
- Farina FA, Shatton JB, Morris HP, Weinhouse S: Isozymes of pyruvate kinase in liver and hepatomas of the rat. Cancer Res 34:1439, 1974
- Farr AG, Wechter WJ, Kiely JM, Unanue ER: Induction of cytotoxic macrophages after in vitro interactions be-

- tween Listeria-immune T cells and macrophages: role of H-2. J Immunol 122:2405, 1979
- Farram E, Targan SR: Identification of human natural killer soluble cytotoxic factor(s) (NKCF) derived from NK-enriched lymphocyte populations: Specificity of generation and killing. J Immunol 130:1252, 1983
- Fauchet R, Bouhallier O, Genetet B: B cell typing by rosetting with AET-treated sheep red blood cells. Histocompatibility testing, UCLA, Los Angeles p 289 1980
- Fauci AS, Steinberg AD, Haynes BF, Whalen G: Immunoregulatory aberrations in systemic lupus erythematosus. J Immunol 121:1473, 1978
- Fellons EA y cols: Interferon-dependent induction of mRNA for the major histocompatibility antigens in human fibroblast and lymphoblastoid cells. Proc Natl Acad Sci USA 79:3082, 1982
- Ferluga J, Allison AS: Cytotoxicity of isolated plasma membranes from lymph node cells. Nature 255:708, 1975
- Fibach E, Peled T, Treves A, Kornberg A, Rachmilewitz EA: Modulation of the maturation of human leukemic promyelocytes (HL-60) to granulocytes or macrophages. Leukemia Res 6:781, 1982
- Fidler IJ: Inhibition of pulmonary metastasis by intravenous injection of specifically activated macrophages. Cancer Res 34:1074, 1974

- Fidler IJ: Therapy of spontaneous metastases by intravenous injection of liposomes containing lymphokines. - Science 208:1469, 1980
- Fidler IJ, Gersten DM, Hart IR: The biology of cancer invasion and metastasis. Adv Cancer Res 28:149, 1978
- Fidler IJ, Gersten DM, Kripke ML: The influence of immune status on the metastasis of three murine fibrosarcomas of different immunogenicities. Cancer Res - 39:3816, 1979
- Fidler IJ, Hart IR: Biological diversity in metastatic neoplasms: origins and implications. Science 217:998 1982
- Fidler IJ, Kripke ML: Tumor cell antigenicity, host immunity, and cancer metastasis. Cancer Immunol Immunother 7:201, 1980
- Fink MA ed: The macrophage in neoplasia. Academic Press, - New York p 194, 1976
- Fishman PH, Brady RO, Bradley M, Aaronsen DS, Todaro GJ: - Absence of a specific ganglioside galactosyltransferase in mouse cells transformed by murine sarcoma virus. Proc Natl Acad Sci USA 71:298, 1974
- Fishman WH: Perspectives on alkaline phosphatase isoenzymes Am J Med 56:617, 1974
- Fishman WH, Inglis NR, Stolbach LL, Krant MJ: A serum alkaline phosphatase isoenzyme of human neoplastic - cell origin. Cancer Res 28:150, 1968
- Fishman WH, Sell S ed: Oncodevelopmental gene expression. -

Academic Press, New York p 254, 1976

- Flannery GR, Robbins RA, Baldwin RW: Natural killer cells - infiltrate transplanted chemically induced sarcomas. *Cell Immunol* 61:1, 1981
- Fleming KA, Mc Michael A, Morton JA, Woods J, Mc Gee JOD: - Distribution of HLA class I antigens in normal human tissue and in mammary cancer. *J Clin Pathol* 34:779, 1981
- Foley EJ: Antigenic properties of methylcholanthrene-induced tumors in mice of the strain of origin. *Cancer Res* 13:835, 1953
- Folkman J: Tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res* 19:331, 1974
- Folkman J, Hochberg M: Self-regulation of growth in three - dimensions. *J Exp Med* 138:745, 1973
- Foster CS, Dinsdale EA, Edwards PAW, Neville AM: Monoclonal antibodies to human mammary gland. II. Distribution of determinants of breast carcinomas. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 394:295, 1982a
- Foster CS, Edwards PAW, Dinsdale E, Neville AM. Monoclonal antibodies to the human mammary gland. I. Distribution of determinant in non-neoplastic mammary - and extramammary tissues. *Virchow Arch (Pathol Anat)* 394:279, 1982b
- Foulds L: Tumour progression and neoplastic development. In Mühlbock O, Emmelot P ed: *Cellular control mechanisms and cancer*. Amsterdam, Elsevier Press, - p 242, 1964

- Fox N, Damjanov I, Knowles BB, Solter D: Teratocarcinoma antigen is secreted by epididymal cells and coupled to maturin sperm. *Exp Cell Res* 137:485, 1982a
- Fox N, Damjanov I, Knowles BB, Solter D: Immunohistochemical localization of mouse stage-specific embryonic antigen 1 in human tissues and tumor. *Cancer Res* 43:669, 1983
- Fox N, Damjanov I, Martínez-Hernández A, Knowles BB, Solter D: Immunohistochemical localization of the early embryonic antigen (SSEA-1) in postimplantation mouse embryos, and fetal and adult tissues. *Dev Biol* 83:391, 1981
- Fox N, Shevinsky LH, Knowles BB, Solter D, Damjanov I: Distribution of murine stage-specific antigens in the kidneys of three rodent species. *Exp Cell Res* 138:330, 1982b
- Friedman JM, Fialkow PJ: Cell marker of human tumorigenesis. *Transplant Rev* 28:2, 1976
- Friend C, Freedman HA: Effects and possible mechanism of action of dimethylsulfoxide on Friend cell differentiation. *Biochem Pharmacol* 27:1309, 1978
- Fujimoto S, Greene MI, Schon AH: Regulation of the immune response to tumor antigens. I. Immunosuppressor cells in tumor-bearing hosts. *J Immunol* 116:791, 1976
- Gahmberg CG, Hakomori S: Surface carbohydrates of hamster fibroblast. I. Chemical characterization of surface

- ce-labeled glycosphingolipids and a specific ceramide tetrasaccharide for transformants. *J Biol Chem* 280:2438, 1975
- Gahmberg CG, Kiehn D, Hakomori S: Changes in a surface-labeled galactoprotein and in glycolipid concentrations in cells transformed by a temperature-sensitive polyoma virus mutant. *Nature* 248:413, 1974
- Galli SJ, Bast RC, Bast BS y cols: Bystander suppression of tumor growth: evidence that specific targets and bystanders are damaged by injury to a common microvasculature. *J Immunol* 129:170, 1982
- Gallo RC, Von Staal MS: Human retroviruses and adult T-cell leukemia lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 69:1209, 1982
- Garrido Torres-Puchol ML: Antígenos de histocompatibilidad en distintos clones del tumor murino GRC9. Relación con el crecimiento in vivo. Tesis Doctoral (inédita) p 208, 1985
- Gately MK, Mayer MM, Henney CS: Effect of anti-lymphotoxin on cell-mediated cytotoxicity: Evidence for two pathways, one involving lymphotoxin and the other requiring intimate contact between the plasma membranes of killer and target cells. *Cell Immunol* 27:82, 1976
- Gatenby PA, Basten A, Creswick P: Sneaking through: a T-cell dependent phenomenon. *Br J Cancer* 44:753, 1981
- Gatti RA, Good RA: Occurrence of malignancy in immunodeficiency diseases. A literature review. *Cancer* 28:

89, 1971

- Gelboin HV, Levy HB: Polyinosinic-polycytidylic acid inhibits chemically induced tumorigenesis in mouse skin. *Science* 167:205, 1970
- German J: Genes which increase chromosomal instability in somatic cells and predispose to cancer. In Steinberg AG, Bearn SG ed: *Progress in Medical Genetics Vol VIII*. Grune and Stratton p 61, 1972
- Gidlund M, Oru A, Wignell H, Senik A, Gresser I: Enhanced NK cell activity in mice injected with interferon and interferon inducers. *Nature* 273:750, 1978
- Giles RC, Capra JD: Structure, function and genetics of human class II molecules. *Adv Immunol* 37:1, 1985
- Gillette RW, Fox A: The effect of T lymphocyte deficiency on tumor induction and growth. *Cell Immunol* 19:328, 1980
- Gleichmann E, Peters K, Lattman E, Gleichmann H: Immunologic induction of reticulum cell sarcoma: donor-type lymphomas in the graft-versus-host model. *Eur J Immunol* 5:406, 1975
- Gleichmann H, Gleichmann E: Immunosuppression and neoplasia I. A critical review of experimental carcinogenesis and the immunosurveillance theory. *Klin Wochenschr* 51:255, 1973
- Glick MC: In Weiss L: *Fundamental aspects of metastasis*. North-Holland, Amsterdam p 9, 1977
- Gillespie GY, Hansen CB, Hoskins RG, Russell SW: *Inflammato*

- ry cells in solid murine neoplasms.IV. Cytolytic_ T lymphocytes isolated from regressing or progressing Moloney sarcomas. J Immunol 119:564, 1977
- Glick MC, Rabinowitz Z, Sachs L: Surface membrane glycopeptides correlated with tumorigenesis. Biochemistry 12:4864, 1973
- Goding JW, Burns GF: Monoclonal antibody OKT9 recognizes - the receptor for transferrin on human acute lym - phocytic leukemia cells. J Immunol 127:1256, 1981
- Gold P, Freedman SO: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. J Exp - Med 121:439, 1965
- Golde DW, Saxon A, Stevens RR: Macroglobulinemia and hairy_ cell leukemia. N Engl J Med 296:92, 1977
- Goldman RD, Kaplan NO, Hall TC: Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. Cancer Res 24:389, 1964
- Goldstein DJ, Rogers C, Harris H: A search for trace expre - sion of placental like alkaline phosphatase in - non-malignant human tissues: demonstration of its occurrence in lung, cervix, testis and thymus. - Clin Chem Acta 125:63, 1982
- Goldstein G, Lifter J, Mittler R: Immunoregulatory changes_ changes in human disease detected by monoclonal - antibodies to T lymphocytes. In Michael AJ, Fabre JW: Monoclonal antibodies in clinical medicine. - London, Academic Press p 30, 1982

- Goodfriend TC, Sokol DM, Kaplan NO: Control of synthesis of lactic acid dehydrogenases. *J Mol Biol* 15:18, 1966
- Gooding LR: Characterization of a progressive tumor from C3H fibroblasts transformed in vitro with SV-40 virus: immunoresistance in vivo correlates with phenotypic loss of H-2K^k. *J Immunol* 129:1306, 1982
- Goodwin JS, Massner RP, Bankhurst AD, Peake GT, Saiki JH, Williams RC: Prostaglandin-producing suppressor cells in Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 297:963, 1977
- Gootwine E, Webb CG, Sachs L: Participation of myeloid leukaemic cells injected into embryos in haematopoietic differentiation in adult mice. *Nature* 299:63, 1982
- Gorczynski RM: Evidence for in vitro protection against murine sarcoma virus-induced tumors by T lymphocytes from immune animals. *J Immunol* 112:533, 1974
- Gorelik E: Concomitant tumor immunity and the resistance to a second tumor challenge. *Adv Cancer Res* 39:71, 1983
- Gorer PA, Lyman S, Snell GD: Studies on the genetic and antigenic basis of tumor transplantation: linkage between a histocompatibility gene and "Fused" in mice. *Proc R Soc London*, 135:449, 1948
- Gorelik E, Segal S, Shapiro J, Katzab S, Ron Y, Feldman M: Interactions between the local tumor and its metastases. *Cancer Metastasis Rev* 1:95, 1982

- Gospodarowicz D, Greenburg G, Bialecki H: Factors involved in the modulation of cell proliferation in vivo and in vitro: the role of fibroblast and epidermal growth factors in the proliferative response of mammalian cells. *In vitro* 14:85, 1978
- Graham RC, Lundholm V, Karnovsky MJ: Cytochemical demonstration of peroxidase activity with 3-amino-9-ethylcarbazole. *J Histochem Cytochem* 13:150, 1965
- Granger GA, Hiserodt JC, Yamamoto RS, Ross MW: LT molecules form a subunit system of cell toxins. In de Weck AL, Kristensen F, Landy M (ed): *Biochemical Characterization of Lymphokines*. New York, Academic Press, p 279, 1980
- Grant JP, Bigner DD, Fischinger PJ, Bolognesi DP: Expression of murine leukaemia virus structural antigens on the surface of chemically induced murine sarcoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 71:5037, 1974
- Gräsbeck R, Norman CJ, de la Chapelle A: The leucocyte-mitogenic effect of serum from rabbits immunized with human leucocytes. *Acta Med Scand (Supp)* 412:39, - 1964
- Greaves MF: In Bolesma E, Rünke Ph (eds): *Tumor markers: impact and prospects*. Elsevier, Amsterdam p 201, - 1979
- Greaves M: Analysis of the clinical and biological significance of lymphoid phenotypes in acute leukaemia. *Cancer Res* 41:4752, 1981
- Greenberg AH, Greene M: Non-adaptive rejection of small tu-

- mor inocula as a model of immune surveillance. Nature 264:356, 1976
- Greengard P: Phosphotylated proteins as physiological effectors. Science 199:146, 1978
- Greenstein JP: Biochemistry of Cancer. Academic Press, New York p 315, 1954
- Grimm E, Price Z, Bonavida B: Studies on the induction and expression of T-cell-mediated immunity. VIII. - Effector-target junctions and target cell membrane disruption during cytolysis. Cell Immunol 46:77, 1979
- Grisham JW, Greenberg DS, Smith GJ, Kaufman DG, Smith GJ: - Cycle related toxicity and transformation nitrosoguanine. Proc Natl Acad Sci USA 77:4913, 1980
- Grossi CE, Zicca A, Cadoni A, Mingari MC, Moretta A, Moretta L: Ultrastructural characteristics of human T cell clones with various cytolytic activities. - Eur J Immunol 13:670, 1983
- Gusterson BA, Warburton MJ, Mitchell D, Ellinson M, Neville AM: Distribution of myoepithelial cells and basement membrane proteins in the normal, benign and malignant breast. Cancer Res 42:4763, 1982
- Gutiérrez F, García-Olivares E, Garrido F, Osorio C: Cito - toxicidad celular dependiente de anticuerpos de eritrocitos de pollo marcados con Cromo⁵¹. Laboratorio 66:301, 1978
- Habu S, Fukui H, Shimamura K y cols: In vivo effects of an-

- ti-asialo GMI.I. Reduction of NK activity and enhancement of transplanted tumor growth in nude mice. *J Immunol* 127:34, 1981
- Hadden LW, Hadden EH: Guanosine-3'-5'-cyclic monophosphate: a possible intracellular mediator of mitogenic influences in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* - 69:3024, 1972
- Haddox MK, Magun BE, Russell DH: Differential expression of type I and type II cyclic AMP dependent protein kinases during cell cycle and cyclic AMP-induced growth arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:3345 1980
- Hakomori S: Fucolipids and blood group glycolipids in normal and tumor tissue. *Progr Biochem Pharmacol* 10: 167, 1975
- Hakomori S: Blood group ABH and Ii antigens of human erythrocytes: chemistry polymorphism and their developmental change. *Semin Haematol* 18:39, 1981
- Haller O, Gidlund M, Kurneck JT, Wigzell H: In vivo generation of mouse natural killer cells: role of the spleen and thymus. *Scand J Immunol* 8:207, 1978
- Haller O, Hansson M, Kiessling R, Wigzell H: Role of non-conventional natural killer cells in resistance against syngeneic tumor cells in vivo. *Nature* - 270:609, 1977
- Hamlin JL, Pardee: Control of DNA synthesis in tissue culture cells. *In vitro* 14:119, 1978

- Hammond KD, Balinsky D: Activities of key glucogenic enzymes and glycogen synthetase in rat and human livers, hepatomas, and hepatoma cell cultures. *Cancer Res* 38:1317, 1978a
- Hammond KD, Balinsky D: Isozyme studies of several enzymes of carbohydrate metabolism in human adult, and fetal tissues, tumor tissues, and cell cultures. *Cancer Res* 38:1323, 1978b
- Hancock WH, Becker GJ, Atkins RC: A comparison of fixative and immunohistochemical techniques for use with monoclonal antibodies to cell surface antigens. *Am J Clin Pathol* 78:825, 1982
- Hanna N: Role of natural killer cells in control of cancer metastases. *Cancer Metastases Rev* 1:45, 1982
- Hanna N, Burton RC: Definitive evidence that natural killer (NK) cells inhibit experimental tumor metastases in vivo. *J Immunol* 127:1754, 1981
- Hanna N, Fidler IJ: The role of natural killer cells in the destruction of circulating tumor emboli. *J Natl Cancer Inst* 65:801, 1980
- Harris DT, MacDonald HR, Cerottini JC: Direct transfer of antigen-specific cytolytic activity to noncytolytic cells upon fusion with liposomes from cytolytic T cell clones. *J Exp Med* 159:261, 1984
- Harris H, Hopkinson DA: Handbook of enzyme electrophoresis human genetics. North-Holland Publishing Company 1976

- Hart IR: "Seed and Soil" revisited: mechanisms of site-specific metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1:5, 1982
- Hart IR, Fidler IJ: Cancer invasion and metastasis. *Q Rev Biol* 55:121, 1980
- Hartwell L: Cell division from a genetic perspective. *J Cell Biol* 77:627, 1978
- Haskill JS: ADCC effector cells in a murine adenocarcinoma. I. Evidence for blood-borne bone marrow-derived monocytes. *Int J Cancer* 20:432, 1977
- Haskill JS, Procter JW, Yamamura Y: Host responses within solid tumors. I. Monocytic effector cells within rat sarcomas. *J Natl Cancer Inst* 54:387, 1975
- Hawrylko E: Mechanisms by which tumors escape immune destruction. In Waters H (ed): *The Handbook of Cancer Immunology*. Garland STPM Press, New York p 1, 1978
- Hayashi K, Fujiki H, Sugimura T: Effects of tumor promoters on the frequency of metallothionein 1 gene amplification in cells exposed to cadmium. *Cancer Res* 43:5433, 1983
- Hayward WS, Neel BG, Astrain SM: Activation of a cellular oncogene by promoter insertion in AVL induced lymphoid leukosis. *Nature* 290:475, 1981
- Haywood GR, McKahan CF: Antigenic specificities on murine sarcoma cells. Reciprocated relationship between normal transplantation antigens (H-2) and tumor-specific immunogenicity. *J Exp Med* 133:1171, 1971
- Hellström I, Rollins N, Settle S, Chapman P, Chapman W, -

- Hellström KE: Monoclonal antibodies to two mouse bladder carcinoma antigens. *Int J Cancer* 29:175, 1982
- Hellström KE, Hellström I, Brown JP: Human tumor-associated antigens identified by monoclonal antibodies. - *Springer Semin Immunopathol* 5:127, 1982
- Henkart PA: Mechanism of lymphocyte-mediated cytotoxicity. - *Ann Rev Immunol* 3:31, 1985
- Henkart PA, Millard PJ, Reynolds CW, Henkart MP: Cytolytic activity of purified cytoplasmic granules from cytotoxic rat LGL tumors. *J Exp Med* 160:75, 1984
- Henney CS: T cell-mediated cytotoxicity: An overview of some current issues. *Contemp Top Immunobiol* 7:245, 1977
- Henry C, Marbrook J, Vann DC, Kodin D, Wofsy C: Limiting dilution analysis. In Mishell BB, Shiigi SM (ed): *Selected Methods in Cellular Immunology*. p 138, 1980
- Herberman RB (ed): *Basic and Clinical Tumor Immunology*. Boston p 285, 1983
- Herberman RB, Djeu JY, Kay HD y cols: Natural killer cells: characteristics and regulation of activity. *Immunol Rev* 44:43, 1979
- Herberman RB, Holden HT: Natural cell-mediated immunity. - *Adv Cancer Res* 27:305, 1978
- Herberman RB, Holden HT, Varesio L y cols: Immunologic reactivity of lymphoid cells in tumors. *Contemp Top*

Immunobiol 10:61, 1980

- Herberman RB, Nunn ME, Holden HT: Low density of Thy-1 antigen on mouse effector cells mediating natural cytotoxicity against tumor cells. *J Immunol* 121: 304, 1978
- Herberman RB, Nunn ME, Holden HT, Staal S, Djeu JY: Augmentation of natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic target cells. *Int J Cancer* 19:555, 1977
- Herberman RB, Nunn ME, Lavrin DH: Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int J Cancer* 16:216, 1975
- Herberman RB, Nunn ME, Lavrin DH, Asofsky R: Effect of antibody to antigen on cell-mediated immunity induced in syngeneic mice by murine sarcoma virus. *J Natl Cancer Inst* 51:1509, 1973
- Herlyn M, Steplewski Z, Herlyn D, Koprowski H: Colorectal carcinoma-specific antigen: detection by means of monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:1438, 1979
- Heusser C, Boesman M, Nordin JH, Isliker H: Effect of chemical and enzymatic radiodination on in vitro human C1q activities. *J Immunol* 110:820, 1973
- Hewitt HB, Blake ER, Wlader AS: A critique of the evidence for active host defence against cancer, based on personal studies of 27 murine tumours of spontaneous origin. *Br J Cancer* 33:241, 1976

- Hibbs JB, Lambert LH, Remington JS: Resistance to murine tumors conferred by chronic infection with intracellular protozoa, *Toxoplasma gondii* and *Besnoitia jillisoni*. *J Infect Dis* 124:587, 1971
- Hibbs JB, Lambert LH, Remington JS: Control of carcinogenesis: a possible role for the activated macrophage. *Science* 177:998, 1972
- Hickey WF, Lee V, Trojanowski JQ, Schlaepfer WW: Immunohistochemical application of monoclonal antibodies - against myelin basic protein and neurofilament triplet protein subunits: advantages over antisera and technical limitations. *J Histochem Cytochem* 41:67, 1983
- Hirata F, Axelrod J: Enzymatic methylation of phosphatidylethanolamine increases erythrocyte membrane fluidity. *Nature* 275:219, 1978
- Hirata F, Axelrod J: Phospholipid methylation and biological signal transmission. *Science* 209:1082, 1980
- Hiserodt JC, Bonavida B: Studies on the induction and expression of T cell-mediated immunity. IX. Inhibition of the lethal hit in T cell-mediated cytotoxicity by heterologous rat antiserum made against alloimmune cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 126:256, 1981
- Hiserodt JC, Britvan LC, Targan SR: Characterization of the cytolytic reaction mechanism of the human natural killer lymphocyte: Resolution into binding, programming and killer cell-independent steps. *J Im-*

munol 129:1782, 1982

- Hiserodt JC, Britvan LJ, Targan SR: Differential effects of various pharmacologic agents on the cytologic reaction mechanism of the human natural killer lymphocyte: Further resolution of programming for lysis and KCIL into discrete stages. J Immunol 129:2266, 1982
- Hiserodt JC, Tiangco GJ, Granger GA: The LT system in experimental animals. IV. Rapid specific lysis of ^{51}Cr labelled allogeneic target cells by highly unstable high mw lymphotoxin-receptor complex(es) released in vitro by activated alloimmune murine T lymphocyte. J Immunol 123:332, 1982a
- Holden HT, Haskill JS, Kirchner H, Herberman RB: Two functionally distinct anti-tumor effector cells isolated from primary murine sarcoma virus-induced tumors. J Immunol 117:440, 1976
- Honn KV, Canavaugh P, Evens C, Taylor JD, Sloane BF: Tumor cell-platelet aggregation: induced by cathepsin B-like proteinase and inhibited by prostacyclin. Science 217:540, 1982
- Hood L, Steinmetz M, Malissen B: Genes of the major histocompatibility complex of the mouse. Ann Rev Immunol 1:529, 1983
- Hoover R, Fraumeni JF: Risk of cancer in renal-transplant recipients. Lancet 2:55, 1973
- Hopper KE, Harrison J, Nelson DS: Partial characterization of antitumor effector macrophages in the peritoneum

- neal cavities of concomitantly immune mice and mice injected with macrophage stimulating agents. *J Reticuloendothel Soc* 26:259, 1979
- Hopper KE, Nelson DS: Specific triggering of macrophage accumulation at the site of secondary tumor challenge in mice with concomitant tumor immunity. *Cell Immunol* 47:163, 1979
- Horowitz AD, Greenebaum E, Weinstein IB: Identification of receptors for phorbol ester tumor promoters in intact mammalian cells and of an inhibitor of receptor binding in biologic fluids. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:2315, 1981
- Houck JC: General introduction to the chalone concept. *J Natl Cancer Inst Monogr* 38:1, 1973
- Huber H, Douglas SD, Fudenberg HH: The IgG receptor: an immunological marker for the characterization of mononuclear cells. *Immunology* 17:7, 1969
- Huttunen K, Ilonen J: The determination of natural killer activity of human peripheral blood lymphocytes by measuring the DNA-synthesis of proliferating target cells (K-562 cell line). *Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect C* 91:197, 1983
- Hymie G: Oncogenes. *Mayo Clin Proc* 60:697, 1985
- Hynes RO: Cell surface proteins and malignant transformation. *Biochim Biophys Acta* 458:73, 1976
- Ibsen KH: Interrelationships and function of the pyruvate kinase isozymes and their variant forms: a review. *Cancer Res* 37:341, 1977

- Ihle JN, Lee JC: The immune response of (C57BL/6 x C3H)F1 - mice to the endogenous AKR-MuLV. *Med Microbiol - Immunol (Berl)* 164:207, 1977
- Ingenito GG, Calkins CE: Evidence for interaction between T cell populations of tumor-bearing and normal mice in immune suppression. *J Immunol* 127:1236, 1981
- Isa AM, Sanders BR: Enhancement of tumor growth in allogeneic mice following impairment of macrophage function. *Transplantation* 20:296, 1975
- Jepsen LV, Skottun TA: A rapid one-step method for isolation of human granulocytes from whole blood. *Scand J Clin Invest* 42:235, 1982
- Johnson RT, Rao PN: Mammalian cell fusion: induction of premature chromosome condensation in interphase nuclei. *Nature* 226:717, 1970
- Johnson SM, Robinson R: The composition and fluidity of normal and leukaemic or lymphomatous lymphocyte plasma membranes in mouse and man. *Biochem Biophys Acta* 558:282, 1979
- Jondal M, Svedmyr E, Klein E, Singh S: Killer T-cells in a Burkitt's lymphoma biopsy. *Nature* 255:405, 1975
- Josephs SF, Favera RD, Gelmann EP, Gallo RC, Staal FW: 5' viral and human cellular sequences corresponding to the transforming gene of simian sarcoma virus. *Science* 219:503, 1983
- Kahan B, Auerbach R, Alter BJ, Bach FH: Histocompatibility and Isoenzyme differences in commercially supplied BALB/c mice. *Science* 217:379, 1982

- Kahle R, Hiserodt JC, Bonavida B: Characterization of antibody mediated inhibition of natural killer cytotoxicity: Evidence for blocking of both recognition and lethal hit stages of cytolysis. *Cell Immunol* 80:97, 1983
- Kahn-Perles B, Goldstein P: Cell membrane cytolysis by membranes from non-cytolytic cells. *Eur J Immunol* 8:71, 1978
- Kamo I, Friedman H: Immunosuppression and the role of suppressive factors in cancer. *Adv Cancer Res* 25:271, 1977
- Kanayama Y, Hiraoka A, Machii T y cols: Ultrastructure of normal human T cells subpopulations: Paralell tubular arrays in T gamma lymphocytes and clustered dense bodies in T mu lymphocytes. *Acta Haematol* 70:220, 1983
- Kaplow LS: Leucocyte alkaline phosphatase cytochemistry. Applications and methodes. *Ann NY Acad Sci* 155:911, 1968
- Karre K, Klein GO, Kiessling R, Klein G, Roder JC: Low natural in vivo resistance to syngeneic leukemias in natural killer deficient mice. *Nature* 284:624, 1980
- Katz P, Simone CB, Henkart PA, Fauci AS: Mechanisms of antibody-dependent cellular cytotoxicity: The use of effector cells from chronic granulomatous disease patients as investigative probes. *J Clin Invest* 65:55, 1980

- Kaufman JF, Auffray C, Kornman AJ, Shackelford DA, Strominger J: The class II molecules of the human and murine major histocompatibility complex. *Cell* 36:1, 1984
- Kawase I, Urdal DL, Brooks CG, Henney CS: Selective depletion of NK cell activity in vivo and its effect on the growth of NK-sensitive and NK-resistant tumor cell variants. *Int J Cancer* 29:567, 1982
- Kay HD, Smith DL, Sullivan G, Mandell GL, Donowitz GR: Evidence for a nonoxidative mechanism of human natural killer (NK) cell cytotoxicity by using mononuclear effector cells from healthy donors and from patients with chronic granulomatous disease. *J Immunol* 131:1784, 1983
- Keenan TW, Morre DJ: Mammary carcinoma: Enzymatic block in disialoganglioside biosynthesis. *Science* 182:935 1973
- Kefalides NA: Structure and biosynthesis of basement membranes. *Int Rev Connect Tissue Res* 6:63, 1973
- Keller R: Promotion of tumor growth in vivo by antimacrophage agents. *J Natl Cancer Inst* 57:1355, 1976
- Keller R: A consideration of the involvement of mononuclear phagocytes in tumor resistance. In Ferrone S, Gorini S, Herberman RB, Reisfeld RA: *Currents Trend in Tumor Immunology*. New York, Garland STPM Press p 121, 1979
- Kennet RH: Enzyme-linked antibody assay with cells attached to polyvinyl chloride plates. In Kennett RH, Mc_

- Kearn TJ, Bechtol KB (ed): Monoclonal antibodies: A new dimension in biological analyses. p 376, - 1980
- Kerbel RS, Florian M, Man MS, Dennis J, McKenzie IFC: Carcinogenicity of tumor cell populations: origin of a putative H-2 isoantigenic loss variant tumor. J Natl Cancer Inst 64:1221, 1980
- Kerbel RS, Roder JC, Pross HF: Induction of a malignant lymphoreticular cell line which displays spontaneous killer cell activity. Int J Cancer 27:87, 1981
- Key M, Haskill S: Macrophage-mediated antibody-dependent destruction of tumor cells in DBA/2 mice: in vitro identification of an in situ mechanism. J Nat Cancer Inst 66:103, 1981
- Kiessling R, Klein E, Pross H, Wigzell H: Natural killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells: characteristics of the killer cell. Eur J Immunol 5:117 1975a
- Kiessling R, Petranyi G, Klein G, Wigzell H: Genetic variation of in vitro cytolytic activity and in vitro rejection potential of non-immunized semi-syngeneic mice against a mouse lymphoma line. Int J Cancer 15:933, 1975b
- Kiessling R, Petranyi G, Klein G, Wigzell H: Non-T cell resistance against a mouse Moloney lymphoma. Int J Cancer 17:275, 1976

- Kijimoto S, Hakomori S: Enhanced glycolipid: alpha-galactosyltransferase activity in contact-inhibited hamster cells, and loss of this response in polyoma transformants. *Biochem Biophys Res Commun* 44:557, 1971
- Kim KJ, Kanellopoulos-Langeris C, Merwin RM, Asoffski R: Establishment and characterization of BALB/c lymphoma lines with B cell properties. *J Immunol* 122:549, 1979
- Kindt TJ, Robinson MA: Major Histocompatibility Complex Antigens. In Paul WE (ed): *Fundamental Immunology*. Raven Press, NY, p 347, 1984
- King TJ, Di Berardino MA: Transplantation of nuclei from the renal adenocarcinoma. I. Development of tumor nuclear-transplant embryos. *Ann NY Acad Sci* 126:115, 1965
- King D, Jones PP: Concomitant induction of the cell surface expression of Ia determinants and accessory cell function by a murine macrophage tumor cell line. *J Immunol* 131:315, 1983
- Klein G: Tumor antigens. *Ann Rev Microbiol* 20:223, 1966
- Klein J: The Major Histocompatibility Complex of the mouse. *Science* 203:516, 1979
- Klein J: *Immunology. The Science of self-nonsel discrimination*. John Wiley and sons, 1982
- Klein J, Figueroa F, David CS: H-2 haplotypes, genes and antigens: second listing. *Immunogenetics* 17:553, 1983b

- Klein J, Figueroa F, Nagy ZA: Genetics of the Major Histocompatibility Complex: the final act. *Ann Rev Immunol* 1:119, 1983a
- Klein E, Vanky F, Galili U, Vose BM, Fopp M: Separation and characteristics of tumor-infiltrating lymphocytes in man. *Contemp Top Immunobiol* 13:79, 1980
- Knowles DM, Halper JP, Machin GA: Acid alpha-naphtyl acetate esterase activity in human neoplastic lymphoid cells. Usefulness as a T-cell marker. *Am J Pathol* 96:257, 1979
- Knowles BB, Rappaport J, Solter D: Murine embryonic antigen (SSEA-I) is expressed on human cells and structurally related human blood group antigen I is expressed on mouse embryos. *Dev Biol* 93:54, 1982
- Koch GLE, Smith MJ: Concanavalin A acceptor glycoproteins: a new type of marker for the classification of tumor cells. *Brit J Cancer* 47:527, 1983
- Köhler G, Milstein C: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256:495, 1975
- Koziner B, Gebhard D, Denny T y cols: Analysis of T-cell differentiation antigens in acute lymphatic leukemia using monoclonal antibodies. *Blood* 60:752, 1982
- Kozumbo WJ, Seed JL, Kensler TW: Inhibition by 2(3)-tert-butyl-4-hydroxyanisol and other antioxidants of epidermal ornithine decarboxylase activity induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer* -

Res 43:2555, 1983

Krensky AM, Sánchez-Madrid F, Robbins E, Nagy JA, Springer TA, Burakoff SJ: The functional significance, distribution, and structure of LFA-1, LFA-2, and LFA-3: Cell surface antigens associated with CTL-target interactions. *J Immunol* 131:611, 1983

Kripke ML, Borsos T: Immune surveillance revisited. *J Natl Cancer Inst* 52:1393, 1974

Kuribayashi K, Gillis S, Kern DE, Henney CS: Murine NK cell cultures: effects of interleukin-2 and interferon on cell growth and cytotoxic reactivity. *J Immunol* 126:2321, 1981

Kwan C, Mishell RI: Cell surface markers. In Mishell BB, Shiigi SM (ed): *Selected Methods in Cellular Immunology*. p 209, 1980

Lampson LA, Fisher CP, Whelan JP: Striking paucity of HLA-A, B, C and beta2-microglobulin on human neuroblastoma cell lines. *J Immunol* 130:2471, 1983

Land H, Parada LF, Weinber RA: Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. *Nature* 304:596, 1983

Landegren U, Ramstedt U, Axberg I, Ullberg M, Jondal M, Wigzell H: Selective inhibition of human T cell cytotoxicity at levels of target recognition or initiation of lysis by monoclonal OKT3 and Leu-2a antibodies. *J Exp Med* 155:1579, 1982

Lane BC, Bricker MD, Cooper SM: Fc receptors of mouse cell

- lines. II. IgG binding specificity and identification of the Fc receptor on a lymphoid leukemia. *J Immunol* 128:1825, 1982
- Lane BC, Cooper SM: Fc receptors of mouse cell lines. I. - Distinct proteins mediate the IgG subclass-specific Fc binding activities of macrophages. *J Immunol* 128:1819, 1982
- Lanier LL, Warner NL, Ledbetter JA, Herzenberg LA: Quantitative immunofluorescent analysis of surface phenotypes of murine B cell lymphomas and plasmacytomas with monoclonal antibodies. *J Immunol* 127: - 1691, 1981
- Larhammar D, Hammerling M, Denaro T, Lund L, Flavell RA: - Structure of the murine immune response I-AB locus: sequence of the I-AB gene and an adjacent Beta chain second domain exon. *Cell* 34:179, 1983
- Lattime EC, Pecoraro GA, Stutman O: Natural cytotoxic cells against solid tumors in mice. III. A comparison of effector cell antigenic phenotype and target cell recognition structures with those of NK cells *J Immunol* 126:2011, 1981
- Lattime EC, Pecoraro GA, Stutman O: The activity of natural cytotoxic cells is augmented by interleukin 2 and interleukin 3. *J Exp Med* 157:1070, 1983
- Law LW: Studies of thymic function with emphasis on the role of the thymus in oncogenesis. *Cancer Res* 26: - 551, 1966
- Law LW: Studies of the significance of tumor antigens in in

- duction and repression of neoplastic disease: -
presidential address. *Cancer Res* 29:1, 1969
- Lazarides E: Intermediate filaments: a chemically heterogeneous, developmentally regulated class of protein
Annu Rev Biochem 51:219, 1982
- Leclerc JC, Canter H: T-cell mediated immunity to oncornavirus-induced tumors.II. Ability of different T -
cell sets to prevent tumor growth in vivo. *J Immunol* 124:851, 1980
- Leder P, Battey J, Lenoir G y cols: Translocation among antibody genes in human cancer. *Science* 222:765, -
1983
- Lee JC, Ihle JN: Mechanisms Of C-type viral leukemogenesis. I. Correlations of in vitro lymphocyte blastogenesis to viremia and leukemia. *J Immunol* 123:2351, -
1979
- Lee V, Wu HL, Schlaepfer WW: Monoclonal antibodies recognize individual neurofilament triplet proteins. -
Proc Natl Acad Sci USA 79:6089, 1982
- Lee W-H, Murphree AL, Benedict WF: Expression and amplification of the N-myc gene in primary retinoblastoma.
Nature 309:458, 1984
- Leeuwenberg JFM, Spits H, Tax WJM, Capel PJA: Induction of non-specific cytotoxicity by monoclonal anti-T3 antibodies. *J Immunol* 132:1418, 1984
- Lehman FG: In Fishman WH, Sell S (ed): *Onco-developmental Gene Expression*. Academic Press, New York p 731, -
1976

- Lenaz G, Curatola G, Fiorini RM, Parenti-Castelli G: Membrane fluidity and its role in the regulation of cellular processes. 13th International Cancer Congress, Part C. Biology of Cancer (2) p 25, 1983
- Lennox ES, Lowe AO, Cohn J, Evan G: Specific antigens on methylcholanthrene induced tumors of mice. In: Alien Histocompatibility antigens on cancer cells. - Transplant Proc 13:1758, 1981
- Lenaz G, Sechi AM: Architecture and asymmetry of biomembranes. Ital J Biochem 25:427, 1976
- Lennox ES, Sikora K: Definition of human tumor antigens. In Michael AJ, Fabre JW (eds): Monoclonal Antibodies in Clinical Medicine. Academic Press, London p111 1982
- Leopardi E, Rosenau W: Human T cell mediated cytotoxicity: Role of subsets and neutralization of cytotoxicity by anti-alpha-lymphotoxin serum. Cell Immunol 70:148, 1982
- Leopardi E, Rosenau W: Production of alpha-lymphotoxin by human T-cell subsets. Cell Immunol 83:73, 1984
- Levy MH, Wheelock EF: The role of macrophages in defense against neoplastic disease. Adv Cancer Res 20:131, 1974
- Liabeuf A, Le Borgue de Kaouel C, Kourilsky FM, Malissen B, Manuel Y, Sanderson AR: An antigen determinant of human Beta-2 microglobulin masked by the association with HLA heavy chains at the cell surface: analysis using monoclonal antibodies. J Immunol -

127:1542, 1981

- Lill PH, Fortner GW: Identification and cytotoxic reactivity of inflammatory cells recovered from progressing_ or regressing syngeneic UV-induced murine tumors. *J Immunol* 121:1854, 1978
- Lillehej HS, Choe BK, Rose NR: Monoclonal anti-human prosta_tic acid phosphatase antibodies. *Mol Immunol* 19: - 1199, 1982
- Liotta LA, Kleinerman J, Catanzaro P, Rynbrandt D: Degrada_tion of basement membrane by murine tumors cells. *J Natl Cancer Inst* 58:1427, 1977
- Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, Hart I, Foltz CM: Metas_tatic potential correlates with enzymatic degrada_tion of basement membrane collagen. *Nature* 284:67 1980
- Liu WT, Rogers MJ, Law LL, Chang KSS: Properties of BBL-5 - leukemia cells cultivated in vitro. *J Natl Cancer Inst* 58:1661, 1977
- Ljüngstrom O, Hjelmquist G, Engström E: Phosphorylation of_ purified rat liver pyruvate kinase by cyclic 3'5' AMP stimulated protein kinase. *Biochim Biophys Ac_ta* 358:289, 1974
- Lohmann-Mathes ML: Induction of macrophage-mediated cytoto_xicity. In Nelsen DS (ed): *Immunobiology of the - Macrophage*. Academic Press, New York p 465, 1976
- Louie S, Schwartz RS: Immunodeficiency and the pathogenesis of lymphomas and leukemia. *Seminars of Haematology* 15:117, 1978

- Lundgren G, Simmon RL: Effect of neuraminidase on the stimulatory capacity of cells in human mixed lymphocyte cultures. Clin Exp Immunol 9:915, 1971
- Luscher EF, Kaser-Glanzmann R, Bertschmann M: Serum cytotoxic factors which may influence tumor cell growth. In Wissler RW, Wood S: Endogenous Factors Influencing Host-Tumor Balance. Chicago, University of - Chicago Press, p 167, 1967
- MacDonald HR, Glasebrook AL, Cerottini JC: Clonal heterogeneity in the functional requirement for Lyt-2/3 - molecules on cytolytic T lymphocytes: Analysis by antibody blocking and selective trypsinization. J Exp Med 156:1711, 1982
- Malissen M, Malissen B, Jordan BR: Exon/Intron organization and complete nucleotide sequence of an HLA gene. Proc Natl Acad Sci USA 79:8973, 1982
- Mann DL, Popovic M, Sarin P, Haynes BF, Gallo RC, Blatner WA: Cell lines producing human T-cell lymphoma virus show altered HLA expression. Nature 305:58, - 1983
- Mantovani A: Effects on in vitro tumor growth of murine macrophages isolated from sarcoma lines differing in immunogenicity and metastasizing capacity. Int J Cancer 22:741, 1978
- Mantovani A: Origin and Function of Tumor-Associated Macrophages in Murine and Human Neoplasms. In Tada T, Yamamura Y (eds): Progress in Immunology V. Academic Press, New York p 1001, 1984

- Mantovani A, Allavena P, Sessa C, Bolis G, Mangioni C: Natural killer activity of lymphoid cells isolated from human ascitic ovarian tumors. *Int J Cancer* 25:573, 1980.
- Mantovani A, Evens R: Tumor-infiltrating leukocytes. *Immunol Today* 6:143, 1985.
- Markert CL (ed): *Isozymes: I, Molecular Structures*. New York, Academic Press, p 128, 1975.
- Marshall-Clarke S, Chayen A, Parkhouse RME: Monoclonal antibody N1M-R2 shows differential activity with virgin and memory B cells. *Eur J Immunol* 12:733, 1982.
- Martin SE, Martin WJ: Anti-tumor antibodies in normal mouse sera. *Int J Cancer* 15:658, 1975.
- Martin WJ, Gipson TG, Rice JM: H-2^a associated alloantigen expressed by several transplacentally linked induced lung tumors of C3Hf mice. *Nature* 265:738, 1977.
- Martz E: Early steps in specific tumor cell lysis by sensitized mouse T lymphocytes. I. Resolution and characterizations. *J Immunol* 115:261, 1975.
- Martz E, Heagy W, Gronkowski SH: The mechanism of CTL-mediated killing: Monoclonal antibody analysis

of the roles of killer and target-cell membrane proteins. Immunol Rev 72:73, 1983.

Martz E: Mechanisms of specific tumor cell lysis by alloimmune T lymphocytes: Resolution and characterization of discrete steps in the cellular interaction. Contemp Top Immunobiol 7:301, 1977.

Mayschak DT, Glass E, Kacy S y cols.: Inhibition of growth of hamster pancreatic ductal adenocarcinoma cells "in vitro" by PGE₂ and 16,16-dimethyl PGE₂ a preliminary report. Prostaglandins and cancer: First International Conference, p. 385, Alan R Liss, New York.

McBride WH, Peters LJ, Mason KA, Barrow G: The effect of Corynebacterium parvum on T cell dependent tumor regression. J Reticuloendothel Soc 27:151, 1980.

McCann J, Ames BN: Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals: Discussion. Proc Natl Acad Sci USA 73:950, 1976.

McKay RDG, Hochfield SF: Monoclonal antibodies distinguish antigenically discrete neuronal types in the vertebrate central nervous system. Proc Natl Acad Sci USA 79:6747, 1982.

- McKeehan WL, McKezhan KA: Serum factors modify the cellular requirement for Ca^{2+} , K, Mg^{2+} , phosphate ions, and 2-oxocarboxylic acids for multiplication of normal human fibroblasts. Proc Acad Sci USA 77: 3417, 1980.
- McLean GD, Seehafer J, Shaw ARE y cols.: Antigenic heterogeneity of human colorectal cancer cell lines analysed by a panel of monoclonal antibodies. I. Heterogenous expression of Ia-like and HLA-like antigenic determinants. J Natl Cancer Inst 69:357, 1982.
- Means AR, Dedman JR: Calmodulin: an intracellular calcium receptor. Nature 285:73, 1980.
- Medawar PB, Hunt R: Vulnerability of methylcholanthrene induced tumours to immunity induced by syngeneic foetal cells. Nature 271:164, 1978.
- Medrano EE, Pardee AB: Prevalent deficiency in tumor cells of cycloheximide-induced cycle arrest. Proc Natl Acad Sci USA 77:4123, 1980.
- Menard S, Colnaghi MI, Della Porta G: Natural anti-tumor serum reactivity in BALB/c mice. I. Characterization and interference with tumor growth. Int J Cancer 19:267, 1977.
- Meuer SC, Acuto O, Hussey RE y cols.: Evidence for the T3 associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor. Nature 303:808, 1983.
- Meuer SC, Fitzgerald KA, Hussey RE y cols.: Clonotypic structures involved in antigen specific human

- T cell function: relationship to T3 molecular complex. *J Exp Med* 157:705, 1983.
- Meruelo D, Paolino A, Flieger M, Offer M: Definition of a new T lymphocyte cell surface antigen Ly 11.2. *J Immunol* 125:2713, 1980.
- Merrill JB, Ullberg M, Jondal M: Influence of IgG and IgM receptor triggering on human natural killer cell cytotoxicity measure on the level of the single effector cells. *Eur J Immunol* 11:536, 1981.
- Millard PJ, Henkart MP, Reynolds CW, Henkart PA: Purification and properties of cytoplasmic granules from cytotoxic rat LGL tumors. *J Immunol* 132:3197, 1984.
- Miller EC: Some current perspectives on chemical carcinogenesis in humans and experimental animals: Presidential address. *Cancer Res* 38:1479, 1978.
- Minden P, Jarret C, McClatchy JK y cols.: Antibodies to melanoma cells and BCG antigens in sera from tumor free individuals and from melanoma patients. *Nature* 263:774, 1976.
- Mintz B, Illmensee K: Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 72:3585, 1975.
- Mitus MJ, Bergna LJ, Mednicoff JB: Cytochemical studies of glycogen content of lymphocytes in lymphocytic proliferations. *Blood* 13:748, 1958.

- Moller G, Moller E: Immunological surveillance against neoplasia. In Castro JE (ed): Immunologic aspects of cancer. Baltimore, University Park Press, p 206, 1978.
- Morello D, Daniel F, Baldocci P, Cayre Y, Gachelin G, Kourilsky M: Absence of significant H-2 and Beta-2-microglobulin mRNA expression by mouse embryonal carcinoma cells. Nature 296:260, 1982.
- Morretta A, Pantaleo G, Mingari M, Moretta L, Cerottini JC: Clonal heterogeneity in the requirement for T3, T4, and T8 molecules in human cytolytic T lymphocytes function. J Exp Med 159:921, 1984.
- Mover S, Li CY, Yam LT: Semicuantitative evaluation of tartrate-resistant acid phosphatase activity human blood cells. J Lab Clin Med 80:711, 1972.
- Müller R, Slamon DJ, Tremblay J, Cline MJ, Verma IM: Differential expression of cellular oncogenes during pre- and postnatal development of the mouse. Nature 299:640, 1982.

Naiditch WP, Cunningham DD: Hexose uptake and control of fibroblast proliferation. J Cell Physiol 92: - 319,1977

Narashimham P, Jagathambal k, Elizalde AM: Chronic lymphocytic leukemia and lymphosarcoma, associated with multiple myeloma report of three cases.- Arch Inter Med 135:729,1975

Natali PG, Bigotti A, Ferrone S: Human histocompatibility antigens in malignant tumors of nonlymphoid origin. Histocompatibility Testing 1984, p 417

Nathan C, Cohn Z : Role of oxygen-dependent mechanisms - in antibody-induced lysis of tumor cells by ! activated macrophages. J Exp Med 152:198,1980

Nathan CF, Mercer-Smith JA, Desantis MN, Pallandino MA: Role of oxygen in T cell-mediated cytotoxicity. J Immunol 129:2164,1982

Nelson DS (Ed): Immunobiology of the macrophage. New York Academic Press, 1976

Nelson DS, Hopper KE, Nelson M: Role of macrophages in - resistance to cancer. In Waters H (ed): The - Handbook of cancer Immunology. New York, Garland STPM Press, p 107, 1978

Nelson DS, Nelson M, Farram E, Inou Y: Cancer and subver

sion of host defenses. Aust J Exp Biol Med Sci
59:229,1981

Nelson M, Nelson DS: Macrophages and resistance to tumors
I. Inhibition of delayed-type hypersensitivity -
reactions by tumor cells and soluble products
affecting macrophages. Immunology 34:277,1978

Nelson M, Nelson DS, McKenzie IFC, Blanden RV: Thy and -
Ly markers on lymphocytes initiating tumor re-
jection. Cell Immunol 60:34,1981

Nelson-Rees WA, Daniels DW, Flandermeyer RR: Cross-conta-
mination of cells in culture. Science 212:446 -
1981

Neumann SF, Falkenberg F, Pfeleiderer G: Purification and
immunological characterization of the human -
hexokinase isoenzymes I and III (ATP D hexose
6 phosphatase EC. 2.7.1.1.). Biochim Biophys -
Acta 334:328,1974

Neville AM, Foster CS, Moshakis V, Gore M: Monoclonal -
antibodies and human tumor pathology. Hum Path
13:1067,1982

Neville ME, Hiserodt JC: Inhibition of human antibody-
dependent cellular cytotoxicity, cell-mediated
cytotoxicity, and natural killing by a xeno-
genic antiserum prepared against "activated" -

alloimmune human lymphocytes. J Immunol 128: -
1246,1982

Nichols EA, Ruddle FH: A review of enzyme polymorphism, -
linkage and electrophoretic conditions for me
use and somatic cell hybrids in Starch gels.
J Hist and Cytol 21:1066,1973

Nicolson GL: Transmembrane control of normal and tumor
cells. I. Cytoplasmic influence on cell surface
components. Biochim Biophys Acta 457:57,1976

Nicolson GL, Custead SE: Tumor metastasis is not due to
adaptation of cells to a new organ environment
Science 215:176,1982

Nieminen P, Paasivuo R, Saksela E: Effect of a monoclonal
anti-large granular lymphocyte antibody on the
human NK activity. J Immunol 128:1097,1982

Noble RL, Hoover L: A classification of transplantable -
tumors in the Nb rats controlled by estrogen -
from dormancy to autonomy. Cancer Res 35:2935,
1975

North RJ, Kirstein DP: T-cell mediated concomitant immu-
nity to syngeneic tumors. J Exp Med 145:275 -
1977

Novikoff AB: The endoplasmic reticulum: a cytochemist's

- view. Proc Acad Sci USA 73:2781, 1976.
- Novogradsky A: Induction of lymphocyte cytotoxicity by modification of the effector or target cells with periodate or with neuraminidase and galactose oxidase. J Immunol 114:1089, 1975.
- Nowell PC: Cytogenetics. In cancer: A comprehensive treatise, Vol 1, Beckee FF (ed). New York, Plenum Press, p 3, 1982.
- Nowell PC: Genetic instability in cancer cells: relationship to tumor cell heterogeneity. In Owens AH, Coffey DS, Baylin SB (ed): Tumor Cell Heterogeneity. New York, Academic Press, p 351, 1982.
- Nowinski R, Boglund C, Lane J y cols.: Human monoclonal antibody against Forssman antigen. Science 210: 537, 1980.
- Old LJ, Stockert E, Boyse EA, Kim JM: Antigenic modulation. Loss of TL antigen from cells exposed to TL antibody. Study of the phenomenon in vitro. J Exp Med 127:523, 1968.
- Old LJ, Boyse EA, Stockert E: Typing of mouse leukemias by serological methods. Nature 25:813, 1964.
- Ossowski L, Quigley JP, Kellerman GM, Reich E: Fibrinolysis associated with oncogenic transformation. Requirement of plasminogen for correlated changes in cellular morphology, colony formation in agar, and cell migration. J Exp Med 138:1056, 1973.

- Ostrand-Rosenberg S, Cohn AL, Sandoz JW: Multiple splenic lymphoid cell subpopulations regulate H-2 antigen expression on teratocarcinoma cells in vivo.
- Outzen HC, Custer RP, Eaton GJ, Prehn RT: Spontaneous and induced tumor incidence in germ-free nude mice. J Reticuloendothel Soc 17:1, 1975.
- Owerbach D, Lernmark A, Platz P y cols.: HLA-D region Beta-chain DNA endonuclease fragments differ between HLA-DR identical healthy and insulin-dependent diabetic individuals.
- Ozello L: The behavior of basement membranes in intraductal carcinoma of the breast. Am J Pathol 35: 887, 1959.
- Palade GE: Intracellular aspects of the process of protein synthesis. Science 189:347, 1975.
- Papaionneau VE, Mcburney MW, Gardner RL: Fate of teratocarcinoma cells injected into early mouse embryos. Nature 258:70, 1975.
- Parham P, Androlewicz MJ, Brodsky FM, Holmes NJ, Ways JP: Monoclonal antibodies: purification, fragmentation and application to structural and

functional studies of class I MHC antigens. J Immunol Methods 53:133,1982

Parish CR, Hayward JA: The lymphocyte surface. I. Relation between Fc receptors, C3 receptors and surface immunoglobulin. Proc R Soc Lond B 187: 47,1974

Parmiani G, Carbone G, Invernizzi MA y Cols: Alien histocompatibility antigens on tumor cells. Immunogenetics 9: 1,1979

Pasqualina CD, Saal F, Braylan RC, Rabasa SL: Induction of leukemia in BALB mice by allogeneic AKR leukemia cells. Int J Cancer 5:338,1970

Pastan I, Johnson GS: Cyclic AMP and the transformation of fibroblast. Adv Cancer Res 19:303,1974

Paterson MC, Gentner NE. Introduction: environmentally induced DNA lesions and their biological consequences. In: Repairable lesions in microorganisms. Hurst A, Nasim A, (eds) Academic Press New York, p 1,1984

Payne LN: In "Oncogenesis and herpesviruses". Biggs PM, Dethle G, Payne LN (eds). Int Agency for Res Cancer, Lyon, p 21, 1972

Payne CM, Glasser L, Fiederlein R, Lindberg R: New ultras

structural observations: Paralell tubular array
in human T gamma lymphoid cells. J Immunol -
Methods 65:307,1983

Pearse AGE: "Histochemistry: theoretical and applied".
London, Churchill Livingston (1972)

Pelus LM: Antigenic and humoral control of normal and -
leukemic human myelopoiesis prostaglandins -
and cancer. First International Conference,
Alan R Liss (ed), p 399, 1982

Penn I: Malignancies associated with immunosuppressive
or cytotoxic therapy. Surgery (St Louis), -
83: 492,1978

Penn I, Starzl TR: A summary of the status of "de novo"
cancer in transplant recipients. Transplant -
Proc 4:719, 1972

Perry LL, Greene MI: T cell subset interactions in the-
regulation of syngeneic tumor immunity. Fed -
Proc 40:39,1981

Peto R, gray R, Brantom P, Grasso P: Effects on two -
strains of inbred rats of chronic ingestion -
of diethyl- or dimethyl-nitrosamine: an unu-
sually detailed dose-response study. "Possible
Role of Nitrosamines in Human Cancer" confe-
rence, Abril 4-7,1982

Pierce GE: Tumor immunity as related to the clinical course of cancer. In Waters H (ed): The Handbook of Cancer Immunology, vol 3. New York, Garland STPM Press, p 71, 1978.

Pierce GB, Shikes R, Fink LM: Cancer: A Problem of Developmental Biology. Englewood Cliffs, NJ; Prentice-Hall, 1978.

Pike MC, Snyderman R: Depression of macrophage function by a factor produced by neoplasms: a mechanism for abrogation of immune surveillance. J Immunol 117:1243, 1976.

Pitot HC, Goldsworthy T, Moran S: The natural history of carcinogenesis: Implications of experimental carcinogenesis in the genesis of human cancer. J Supramolec Struct 17:133, 1981.

Plata R, Jongeneel V, Cerottini JC, Brunner KT: Antigenic specificity of the cytolytic T lymphocyte (CTL) response to murine sarcoma virus-induced tumors. Eur J Immunol 6:823, 1976.

Plata F, Tilkin AF, Levy JP, Lilly F: Quantitative variations in the expression of H-2 antigens on murine leukemia virus-induced tumor cells can affect the H-2-restriction patterns of tumor-specific cytolytic T lymphocytes. J Exp Med

154:1795, 1981.

Plater C, Debre P, Leclerc JC: T cell-mediated immunity to oncornavirus-induced tumors. III. Specific and nonspecific suppression in tumor bearing mice. Eur J Immunol 11:39, 1981.

Podack ER: The molecular mechanism of lymphocyte-mediated tumor cell lysis. Immunol Today 6:21, 1985.

Podack ER, Denner G: Assembly of two types of tubules with putative cytolytic function by cloned natural killer cells. Nature 302:442, 1983.

Pohajdak B, Gomez JL, Wilkins J, Greenberg AH: Tumor activated NK cells trigger monocyte oxidative metabolism. J Immunol 132:726, 1984.

Poland A, Glover E, Kende AS: Stereospecific, high affinity binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by hepatic cytosol: evidence that the binding species is receptor for induction of aryl hydrocarbon hydroxylase. J Biol Chem 251:4936, 1976.

Pollack SB, Hallenbeck LA: In vivo reduction of NK activity with anti-NK 1 serum: direct evaluation of NK cells in tumor clearance. Int J Cancer 29:203, 1982.

- Poste G, Fidler IJ: The pathogenesis of cancer metastasis. *Nature* 283:139, 1980.
- Poste G, Nicolson GL: Modification of the arrest of metastatic tumor cells in the microcirculation after treatment with plasma membrane vesicles from highly metastatic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:399, 1980.
- Prat M, Comoglis PM: Involvement of sialic acids in the immunological specificity of plasma membrane glycoproteins. *Immunochemistry* 13:97, 1975.
- Prehn RT: Discussion. In Smith RT, Landy M (ed): *Immune Surveillance*. New York, Academic Press, p 453, 1970.
- Prehn RT: Do tumors grow because of the immune response of the host?. *Transplant Rev* 28:34, 1976.
- Prehn RT, Lappe MA: An immunostimulation theory of tumor development. *Transplant* 7:26, 1971.
- Prescott DM: The cell cycle and the control of cellular reproduction. *Adv Genet* 18:99, 1976.
- Prescott DM: *Reproduction of Eucaryotic Cells*. New York Academic Press, p 118, 1976.
- Pringle JR, Hartwell LH: The *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle. In Strathern JN, Jones EW, Broach JR

(ed): The Molecular Biology of the Yeast *Saccharomyces*. N Y Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory, p 97, 1981.

Proctor JW, Rudenstein CM, Alexander P: A factor preventing the development of lung metastases in rats with sarcomas. *Nature* 242:29, 1973.

Puccetti P, Holden HT: Cytolytic and cytostatic anti-tumor activities of macrophages from mice injected with murine sarcoma virus. *Int J Cancer* 23:123, 1979.

Quaglino D, Flemans R: Peroxidase staining in leucocytes. *Lancet* 2:1020, 1958.

Quaranta V, Pellegrino MA, Ferrone S. Serologic and immunochemical characterization of the specificity of four monoclonal antibodies to distinct antigenic determinants expressed on subpopulations of human Ia-like antigens. *J Immunol* 126:548, 1981.

Quash G, Keolouangkhot T, Gazzolo L, Ripoll H, Saez S: Diamine oxidase and polyamine oxidase activities in normal and transformed cells. *Biochem J* 177:275, 1979.

- Rachubinski RA, Verma PS, Bergeron JJM: Synthesis of rat liver microsomal cytochrome b5 by free ribosomes. *J Cell Biol* 84:705, 1980.
- Rahman AFR, Longenecker BM: A monoclonal antibody specific for the Thomsen-Friedenreich cryptic T antigen. *J Immunol* 129:2021, 1982.
- Rattle HWE, Kneale GG, Baldwin JP: Histone complexes, nucleosomes, chromatin and cell-cycle dependent modification of histones. In Nicolini CA (ed): *Chromatin Structure and Function*. New York, Plenum Press, p 451, 1978.
- Ravid Z, Goldblum N, Zairov R y cols.: Establishment and characterization of a new leukaemic T-cell line (PEER) with an unusual phenotype. *Int J Cancer* 25:705, 1980.
- Rebhun LI: Cyclic nucleotides, calcium and cell division. *Int Rev Cytol* 49:1, 1977.
- Reddy EP, Reynolds RK, Santos E, Barbacid M: A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogen. *Nature* 300:149, 1982.
- Reinherz EL, Kung PC, Pesando JM, Ritz J, Goldstein G, Schlossman SF: Ia determinants on human T-cell subsets defined by monoclonal antibody: activation

stimuli required for expression. *J Exp Med* 150:1472, 1979.

Reinherz EL, Meuer SC, Fitzgerald KA y cols.: Comparison of T3 associated 49- and 43-kilodalton cell surface molecules on individual human T cell clones. Evidence for peptide variability in T cell receptor structures. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:4104, 1983.

Reinherz EL, Schlossman SF: The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 19:821, 1980.

Reinisch CL, Andrew SL, Schlossman SF: Suppressor cell regulation of immune response to tumors: abrogations by adult thymectomy. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:2989, 1977.

Reitsma PH, Rothberg PG, Astrin SM, y cols.: Regulation of myc gene expression in HL-60 leukaemia cells by a vitamin D metabolite. *Nature* 306:492, 1983.

Reynolds CW, Reichardt D, Henkart M, Millard P, Henkart P: Functional characterization of antibodies against purified cytoplasmic granules from rat LGL tumors. *J Immunol* 132:1230, 1984.

Rieber J, Bacalao J, Alonso G: Turnover of high molecular weight cell surface proteins during growth and expression of malignant transformation. *Cancer Res* 35:2104, 1975.

- Riesenfeld I, Orn A, Gidlun M Axberg I Alm GV, Wigzell H:
Positive correlation between in vitro NK activity and in vivo resistance towards AKR lymphoma cells. *Int J Cancer* 25:399, 1980.
- Ritz J, Schlossman SF: Review: Utilization of monoclonal antibodies in the treatment of leukemia and lymphoma. *Blood* 59:1, 1982.
- Roberts MM, Bathgate EM, Stevenson A: Serum immunoglobulin levels in patients with breast cancer. *Cancer* 36:221, 1976.
- Robertson M: Message of myc in context. *Nature* 309:585, 1984.
- Robbins PW: Comparisons of major cell surface proteins of normal and transformed cells. *Amer J Clin Path* 63:671, 1975.
- Robins RA, Flannery GR, Baldwin RW: Tumor-derived lymphoid cells prevent tumor growth in Winn assays. *Br J Cancer* 40:946, 1979.
- Roder JC, Argov S, Klein M y cols.: Target-effector cell interaction in the natural killer system. V. Energy requirements, membrane integrity, and the possible involvement of lysosomal enzymes. *Immunology* 40:107, 1980.

- Roder J, Duwe A: The beige mutation in the mouse selectively impairs natural killer cell function. *Nature* 278:451, 1979.
- Roder JC, Heliotis T, Klein M y cols.: A new immunodeficiency disorders in human involving NK cells. *Nature* 284:553, 1980.
- Roder JC, Halistes T: Do NK cells play a role in anti-tumor surveillance?. *Immunol Today* 1:96, 1980.
- Roder JC, Helfand SL, Werkmeister J, McGarry R, Beaumont TJ, Duwe A: Oxygen intermediates are triggered early in the cytolytic pathway of human NK cells. *Nature* 298:569, 1982.
- Roitt IM, Greaves MF, Torrigiana G, Brestoff J, Playfair JHL: The cellular basis of immunological responses. *Lancet* 2:367, 1969.
- Rogentine GN Jr, Plocinik BA: Carbohydrate inhibition studies of the naturally occurring human antibody to neuraminidase treated human lymphocytes. *J Immunol* 113:848, 1974.
- Rogers MJ, Gooding LR, Marguiles DH, Evans GA: Analysis of a defect in the H-2 genes of SV40 transformed C3H fibroblasts that do not express H-2K_F. *J Immunol* 130:2418.

Rosenberg S: Lymphokine-activated Killer cells: A new approach to immunotherapy of cancer. J Natl C Inst 75:595, 1985.

Rosenberg EB, McCoy JL, Green SS y cols.: Destruction of human lymphoid tissue culture cell lines by human peripheral lymphocytes in ^{51}Cr -release cellular cytotoxicity assays. J Natl Cancer Inst 52:345, 1974.

Ross GD, Winchester J: Method for enumerating lymphocyte populations. In Rose N, Friedman R (ed): Manual of Clinical Immunology. p 213, 1980.

Rossow PW, Riddle VJG, Pardee AB: Synthesis of labile, serum-dependent protein in early G1 control animal growth. Proc Natl Acad Sci USA 76:4446, 1979.

Rubio CA, Biberfeld P: The basement membrane of the uterine cervix in dysplasia and squamous carcinoma. An immunofluorescent study with antibodies to basement membrane antigen. Acta Pathol Microbiol Scand A83:744, 1975.

Ruggiero R, Bonfil RD, Pasqualini CD: Etiología del cáncer: hacia una teoría unificada. Sangre 29(1): 52, 1984.

Ruiter DJ, Bhan AK, Harrist TJ, Sober AJ, Mhin MC Jr: Ma-

for histocompatibility antigen and mononuclear inflammatory infiltrate in benign nevocytic proliferations and malignant melanoma. *J Immunol* 129:2808, 1982.

Rumpold H, Kraft D, Oberer G, Bock G, Gebhart W: A monoclonal antibody against a surface antigen shared by human large granular lymphocytes and granulocytes. *J Immunol* 129:1458, 1982.

Russel DH: Polyamines in normal and neoplastic growth. New York, Raven Press, 1973.

Russell SW, McIntosh AT: Macrophages isolated from regressing Moloney sarcomas are more cytotoxic than those recovered from progressing sarcomas. *Nature* 268:69, 1977.

Russell JH: Internal desintegration model of cytotoxic lymphocyte-induced target damage. *Immunol Rev* 72:97, 1983.

Sachs D: The major histocompatibility complex. In Paul WE (ed): *Fundamental Immunology*. New York, Raven Press, p 303, 1984.

Srivastava BIS, Rossowski W, Minowada J: Cytochemical comparison of immunologically characterized human leukaemia/lymphoma cell lines representing different levels of maturation. *Br J Cancer* 47:771

1983.

Sanderson CJ: The mechanism of lymphocyte-mediated cytotoxicity. Biol Rev Cambridge Philos Soc 56:153, 1981.

Sato GH, Ross R: Hormones and cell culture: A and B. N Y Cold Spring Harbor Laboratory, 1979.

Sato S, Matsushima T, Sugimura T: Hexokinase isozyme patterns of experimental hepatomas of rats. Cancer Res 29:1437, 1969.

Sato S, Sugimura T, Chien TC, Takakura K: Aldolase isozyme patterns of human brain tumors. Cancer 27:223, 1971.

Sato K, Weirhouse S, Morris HP: Glycogen synthetases and phosphorylases in rat hepatomas. Adv Enz Reg 11: 343, 1973.

Scolnick EM, Papageorge AG, Shih TY: Guanine nucleotide-binding activity as an assay for src protein of rat-derived murine sarcoma viruses. Proc Natl Acad Sci USA 76:5355, 1979.

Scott RE, Florine DL, Wille JJ Jr, Yun K: Coupling of growth arrest and differentiation at a distinct state in the G1 phase of the cell cycle: Gp. Proc Natl Acad Sci USA 79:845, 1982a.

Scott RE, Hoerl BJ, Wille JJ y cols.: Coupling of proadi-

- pocyte growth arrest and differentiation. II. A cell cycle model for the physiological control of cell proliferation. *J Cell Biol* 94:400, 1982.
- Scott RE, Marjorie RW, Wille JJ Jr: Mechanisms for the initiation and promotion of carcinogenesis: A review and a new concept. *Mayo Clin Proc* 59:107, 1984.
- Scribner JD, Stuss R: Tumor initiation and promotion. *Int Rev Exp Pathol* 18:137, 1978.
- Scherer E, Emmelot P: Kinetics of induction and growth of precancerous liver-cell foci, and liver tumour formation by diethylnitrosamine in the rat. *Europ J Cancer* 11:689, 1975.
- Schapira F: Isozymes and cancer. *Adv Cancer Res* 18:77, 1973.
- Schmidt V, Leben L, Atfield G, Festenstein H: Variation of expression of histocompatibility antigens on tumor cells: absence of H-2K^k gene products from a Gross-virus-induced leukemia in BALB.K. *Immunogenetics* 14:323, 1981.
- Schneider EM, Pawelec GP, Liangru S, Wernet P: A novel type of human T cell clone with highly potent Natural Killer-like cytotoxicity divorced from large granular lymphocyte morphology. *J Immunol*

133:173, 1984.

Schulte-Hermann R, Timmermann-Trosiener I, Schuppler J: _
Promotion of spontaneous preneoplastic cells in
rat liver as a possible explanation of tumor _
production by nonmutagenic compounds. Cancer _
Res 43:839, 1983.

Schultz GS, Ebner KE: Alpha-lactalbumin levels in human _
mammary tumors, sera, and mammary cell culture _
lines. Cancer Res 37:4489, 1977.

Schwab M, Alitalo K, Klempnauer KH y cols.: Amplified DNA
with limited homology to myc cellular oncogene _
is shared by human neuroblastoma cell lines and
a neuroblastoma tumour. Nature 305:245, 1983.

Schwartz RS: Immunoregulation, oncogenic viruses, and ma-
lignant lymphomas. The Lancet 10 Jun, p 1266, _
1972.

Schwartz RS: Another look at immunologic surveillance. N _
Engl J Med 293:181, 1975.

Schwartz RH: Role of gene products of the major histocom-
patibility complex in the cell activation and _
cellular interaction. In Paul WE (ed): Fundamen-
tal Immunology. New York, Raven Press, p 379, _
1984.

- Schwartz H, Fischinger PJ, Ihle JN y cols.: Properties of mouse leukemia viruses. XVI. Suppression of spontaneous fetal leukemias in akr mice by treatment with broadly reacting antibody against the viral glycoprotein gp71. *Virology* 93:159, 1979.
- Schwartz EW, Ude P: Immunoblastic sarcoma with leukemia blood picture on the terminal state of mycosis fungoides. *Virchows Arch Pathol Anat* 369:167, 1975.
- Seaman WE, Blackman MA, Gindhart TD y cols.: Beta-estradiol reduces Natural Killer cells in mice. *J Immunol* 121:2193, 1978.
- Seeburg PH, Colby WW, Capon DJ, Goeddel DV, Levinson AD: Biological properties of human c-Ha-rastl genes mutated at codon 12. *Nature* 312:71, 1984.
- Sharma C, Marjeswar R, Weinhouse S: Effects of diet and insulin on glucose-adenosine triphosphate phosphotransferases of rat liver. *J Biol Chem* 238:3840, 1963.
- Sethi KK, Brandis H: Neuraminidase induced loss in the transplantability of murine leukemia L1210, induction of immunoprotection and the transfer of induced immunity to normal DBA/2 mice by serum and peritoneal cells. *Br J Cancer* 27:106, 1973.

- Shearer WT, Gottlieb C, Kornfeld S: Humoral immunostimulation. VII. Sialic acid masks antigenic sites on an antibody-selected variant cell line. *J Immunol* 119:614, 1977.
- Shevinsky LH, Knowles EB, Damjanov I, Solter D: Monoclonal antibody to murine embryos defines a stage-specific embryonic antigen expressed on mouse embryos and human teratocarcinoma cell. *Cell* 30:697, 1982.
- Sikora K, Koch C, Brenner S, Lennox E: Partial purification of tumour specific transplantation antigens from methylcholanthrene induced murine sarcomas by immobilised lectins. *Br J Cancer* 40:831, 1979.
- Sikora K, Stern P, Lennox E: Immunoprotection by embryonal carcinoma cells for methylcholanthrene induced murine sarcomas. *Nature* 269:813, 1977.
- Simmonds JG, Fuller CR, Buchanan PD: Distribution of surface, cytoplasmic and secreted IgG subclasses in human lymphoblastoid cell lines and normal peripheral blood lymphocytes. *Scand J Immunol* 14:1, 1981.
- Simmons RL, Lipschultz ML, Rios A, Ray PK: Failure of neuraminidase to unmask histocompatibility antigens on trophoblast. *Nature (New Biol)* 231:111, 1971.

- Simrell CR, Klein PA: Antibody responses of tumor-bearing mice to their own tumors captured and perpetuated as hybridomas. *J Immunol* 123:286, 1979.
- Singer SJ, Nicolson JL: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175:720, 1972.
- Sinha BK, Goldenberg GJ: The effects of trypsin and neuraminidase on the circulation and organ distribution of tumor cells. *Cancer* 34:1956, 1974.
- Slaga TJ, Fisher SM, Weeks CE, Klein-Szanto AJP, Reiners J: Studies on the mechanisms involved in multistage carcinogenesis in mouse skin. *J Cell Biochem* 18:99, 1982.
- Small M, Trainin N: Separation of populations of sensitized lymphoid cells into fractions inhibiting and fraction enhancing syngenic tumor growth in vivo. *J Immunol* 117:292, 1976.
- Sneider TW, Fetter VR: Alternative "de novo" and "salvage" pathways to thymidine triphosphate synthesis: possible implications for cancer chemotherapy. *Cancer Res* 29:2398, 1969.
- Solter D, Knowles EB: Developmental stage-specific antigens during mouse embryogenesis. *Curr Top Dev Biol* 13:139, 1979.

- Solter D, Damjanov I: Teratocarcinoma and the expression of oncodevelopmental genes. *Methods Cancer Res* 18:277, 1979.
- Sorgente N, Kuettner KL, Soble LW, Eisenstein R: The resistance of certain tissue to invasion. II. Evidence for extractable factors in cartilage which inhibits invasion by vascularized mesenchyme. *Lab Invest* 32:217, 1975.
- Sparrow RL, McKenzie IPC: A function for human T200 in Natural Killer cytotoxicity. *Transplantation* 36:166, 1983.
- Speers WC: Conversion of malignant murine embryonal carcinomas to benign teratomas by chemical induction of differentiation in vivo. *Cancer Res* 42:1843, 1982.
- Springer GF: Blood group and forssman antigenic determinant shared between microbes and mammalian cells. *Prog Allergy* 15:9, 1971.
- Springer GF, Desai BR, Fry WA, Tegtmeyer H, Scanlon EF: Human-carcinoma-associated precursor antigens of the blood group MN system and the host's immune response to them. *Prog Allergy* 26:42, 1979.
- Springer GF, Murthy MS, Desai BR y cols.: Patients' immune response to breast and lung carcinoma-associated

ciated Thomsen-Fridenreich (T) specificity. *Klin Wochenschr* 60:121, 1982.

Springer T, Galfre G, Secher DS, Milstein C: Mac-1: a macrophage differentiation antigen identified by monoclonal antibody. *Europ J Immunol* 9:301, 1979

Springer GF, Murthy MS, Desai PR, Scanlon EF: Breast cancer patient's cell-mediated immune response to Thomsen-Friedenreich (T) antigen. *Cancer* 45:2949, 1980.

Steeg PS, Moore RN, Johnson HM, Oppenheim JJ: Regulation of murine macrophage Ia-antigen expression by products of activated splen cells. *J Exp Med* 152:1734, 1980.

Stein H: The immunology and immunochemical basic for Kiel classification. In Lennert K (ed): *Malignant lymphoma other than Hodgkin's disease*. New York, Springer-Verlag, p 529, 1978.

Steiner S, Brennen PJ, Malnick JL: Fucosyl-glycolipid metabolism in oncornavirus-transformed cell lines. *Nature (New Biol)* 245: 19, 1973.

Steinmetz M, Moore W, Frelinger JG y cols.: A pseudogene homologous to mouse transplantation antigens: transplantation antigens are encoded by eight exons which correlate with protein domains.

Cell 25:683, 1981.

Stern PL, Gidlund M: Natural Killer cells mediate lysis of embryonal carcinoma cells lacking MHC. Nature 285:341, 1980.

Stern PL, Willison KR, Lennox E y cols.: Monoclonal antibodies as probes for differentiation and tumor associated antigens: a forssman specificity on teratocarcinoma stem cells. Cell 14:775, 1978.

Stewart TA, Mintz B: Successive generation of mice produced from an established culture line of euploid teratocarcinoma cells. Proc Natl Acad Sci USA 78:6314, 1981.

Stone MR, Novinsky RC: Topological mapping of murine leukemia virus proteins by competition-binding assays with monoclonal antibodies. Virology 100:370, 1980.

Strominger JL, Orr HT, Farham P y cols.: An evaluation of the significance of amino acid sequence homologies in human histocompatibility antigens (HLA-A) and (HLA-B) with immunoglobulins and other proteins, using relatively short sequences. Scand J Immunol 11:573, 1980.

Stutman O: Immunodepression and malignancy. Adv Cancer Res 22:261, 1975.

- Stutman O: Age dependent regression of M-MSV tumors in
CBA/mice: requirements for macrophage adherent_
cell population. Adv Exp Biol Med 73B:371,1975.
- Stutman O, Paige CJ, Figarella EF: Natural cytotoxic cells
against solid tumors in mice. I. Strain and age
distribution and target cell susceptibility. J
Immunol 121:1819, 1978.
- Sugarbaker EV: Patterns of metastasis in human malignan-
cies. In Marchalonis JJ (ed): Cancer Biology Re_
views. New York, Marcel Dekker, p 2, 1980.
- Szulman AE: The ABH blood groups and development. Curr
Top Dev Biol 14:127, 1980.
- Takey F, Levy JG, Kilburn DG: Characterization of suppre-
sor cells in mice bearing syngeneic mastocyto-
ma. J Immunol 118:412, 1977.
- Talmadge JE, Meyers KM, Prieur DJ, Starkey JR: Role of NK
cells in tumor growth an metastasis in beige mi
ce. Nature 284:622, 1980.
- Talmadge JE, Wolman SR, Fidler IJ: Evidence for the clo -
nal origin of spontaneous metastases. Science_
217:361, 1982.
- Tanabe T, Nukabe T, Nishikawa Y y cols.: Primary structu-
re of the alpha-subunit of transducin and its_

- relationship to ras protein. *Nature* 315:242, 1985
- Tanaka T, Harano Y, Sue F, Morimura H: Crystallization, characterization and metabolic regulation of two - types of pyruvate kinase isolated from rat tissues. *J Biochem* 62:71, 1967
- Tanaka Y, Sakane T, Usui T: Natural killer (NK) activity in patients with chronic granulomatous disease. *Hiroshima J Med Sci* 30:135, 1981
- Taniyama T, Holden HT: Cytolytic activity of macrophages - isolated from primary murine sarcoma virus (MSV)-induced tumors. In *J Cancer* 24:151, 1979
- Targan SR, Newman W: Definition of a "trigger" stage in the NK cytolytic reaction sequence by a monoclonal antibody to the glycoprotein T-200. *J Immunol* 131: 1149, 1983
- Taub R, Kirsch I, Morton C y cols: Translocation of the - cMyc gene into the immunoglobulin heavy chain locus in human Burkitt lymphoma and murine plasmocytoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:7837, 1982
- Taylor AT, Stafford MA, Jones OW: Properties of thymidine - kinase partially purified from human fetal and - adult tissue. *J Biol Chem* 247:1930, 1972
- Teebor GW, Becker FF: Regression and persistence of hyperplastic hepatic nodules induced by N-2-fluorenylacetamide and their relationship to hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 31:1, 1971

- Theofilopoulos AN, Dixon FJ, Bokisch VA: Binding of soluble immunocomplexes to human lymphoblastoid cells. I. Characterization of receptors for IgG₁ and complement and description of the binding mechanism. *J Exp Med* 140:877, 1974
- Terskikh VV: Periods of rest in normal and malignant cell systems. In *Cellular Cycle* p 165 Moscow, 1973
- Testorelli C, Marelli O, Schmidt W, Festenstein H: Changes in H-2 antigen expression on a murine spontaneous leukaemia (K36) detected by cell-mediated cytotoxicity assay. *J Immunogenetics* 7:19, 1980
- Thomas L: Cellular and humoral aspects of the hypersensitivity states. Cassell, London p 529, 1959
- Thomson DM, Eccles S, Alexander P: Antibodies and soluble tumor-specific antigens in blood and lymph of rats with chemically induced sarcomata. *Br J Cancer* 28:6, 1973
- Thompson JJ, Herlyn MF, Elder DE, Clark WH, Steplewski Z, Koprowski H: Expression of DR antigens in freshly frozen human tumors. *Hybridoma* 1:161, 1982
- Tidman N, Janossy G, Bodger M, Granger S, Kung PC, Goldstein G: Definition of human thymocyte differentiation pathways utilizing double-staining techniques with monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 45:457, 1981
- Ting CC, Rodrigues D, Ting RC, Wivel N, Collins MJ: Suppression of T-cell mediated immunity by tumor cells: immunogenicity versus immunosuppression and preli

minary characterization of the supressor factor
Int J Cancer 24:644, 1979

Ting CC, Tsui SC, Rogers MJ: Host control of tumor growth.
Science 197:571, 1977

Tilanjı VP, Zetterqvist O, Engström L: Regulation in vitro
of rat liver pyruvate kinase by phosphorylation
dephosphorylation reactions, catalysed by cyclic
AMP dependent protein kinases and a histone phos
phatase. Biochim Biophys Acta 422:98, 1976

Todaro GJ, Green H: High frequency of SV40 transformation -
of mouse cell line 3T3. Virology 28:756, 1966

Todaro GJ, Marquardt H, Twardzik DR y cols: Transforming -
factors produced by tumor cells. In: Tumor Cell
Heterogeneity. Academic Press p 205, 1982

Tsoukas CD, Carson DA, Fong S, Vaughan JH: Molecular inter-
actions in human T-cell-mediated cytotoxicity to
EBV.II. Monoclonal antibody OKT3 inhibits a post
killer-target recognition/adhesion step. J Immu-
nol 129:1421, 1982

Tsoukas CK, Fox RI, Carson DA, Fong S, Vaughan JH: Molecu -
lar interactions in human T cell mediated cyto -
toxicity to Epstein-Barr virus.I. Blocking of -
effector cell function by monoclonal antibody -
OKT3. Cell Immunol 63:113, 1982

Turner WA, Taylor JD, Honn KV: Effects of prostaglandin "A"
series on tumor cells "in vitro". Prostaglandins
and Cancer: First International Conference. Alan
Liss p 369, 1982

- Tweto J, Friedman E, Doyle D: Proteins of the hepatoma tissue culture cell plasma membrane. *J Supramol Struct* 4:141, 1976
- Unkeless JC, Tobia A, Ossowski L y cols: An enzymatic function associated with transformation of fibroblasts by oncogenic viruses. I. Chick embryo fibroblast cultures transformed by avian RNA tumor viruses. *J Exp Med* 137:35, 1973
- Uotila M, Engvall R, Ruoslahti E: Monoclonal antibodies to human alphafetoprotein. *Mol Immunol* 17:791, 1980
- Urban JL, Barton RC, Holland JM, Kripke ML, Schreiber H: Mechanisms of syngeneic tumor rejection: susceptibility of host-selected progressor variants to various immunological effector cells. *J Exp Med* 155:557, 1982
- Van Duuren BL, Sivak A, Segal A, Seidman I, Katz G: Dose-response studies with a pure tumor-promoting agent, phorbol myristate acetate. *Cancer Res* 33:2165, 1973
- Van Heyningen V, Barron L, Brock DJH, Crichton D, Lawrie S: Monoclonal antibodies to human alpha-fetoprotein analysis of the behaviour of three different antibodies. *J Immunol Methods* 50:123, 1982
- Van Wauwe J, Goosens J: Monoclonal anti-human T-lymphocyte antibodies: enumeration and characterization of T-cell subsets. *Immunology* 42:157, 1981
- Varani J: Chemotaxis of metastatic tumor cells. *Cancer Metastasis Rev* 1:17, 1982

- Volanakis SE, Stroud RM: Rabbit Ciq: purification, functional and structural studies. *J Immunol Methods* 2:-25, 1972
- Vose BM, Moore M: Suppressor cell activity of lymphocytes - infiltrating human lung and breast tumors. *Int J Cancer* 24:579, 1979
- Vose BM, Vanky F, Klein E: Human tumor lymphocyte-interac - tion in vitro. V. Comparison of the reactivity of tumor-infiltrating, blood, and lymph node lymphocytes with autologous tumor cells. *Int J Cancer* - 20:895, 1977
- Wachstein M, Wolf G: The Histochemical demonstration of esterase activity in human blood and bone marrow - smears. *J Histochem Cytochem* 6:457, 1958
- Wagner H, Hardt C, Heeg K, Rollingshoff M, Pfizenmaier K: T_H cell derived helper factor allows in vivo induc - tion of cytotoxic T cells in nu/nu mice. *Nature* - 284:278, 1980
- Walker EB, Lanier LL, Warner NL: Induction of Ia and H-2 an - tigen on a macrophage line by immune interferon. *J Exp Med* 155:629, 1982
- Warner NL, Harris AW, Gutman GA: Membrane immunoglobulin - and Fc receptors of murine T and B cell lymphomas. In Seligmann M, Preud'homme JJ, Kourilisky FM - (ed): Membrane receptors of lymphocytes. p 203, - 1975
- Warner NL, Woodruff MF, Burton RC: Inhibition of the growth of lymphoid tumors in syngeneic athymic (nude) mi

- ce. *Int J Cancer* 20:146, 1977
- Warren BA, Shubik P: The growth of the blood supply to melanoma transplants in the hamster cheek pouch. *Lab Invest* 15:464, 1966
- Waterfield MD, Scrase GT, Whittle N y cels: Platelet-derived factor is structurally related to the putative transforming protein p28^{sis} of simian sarcoma virus. *Nature* 304:35, 1983
- Wauwe JP, DeMey JR, Goossens JG: OKT3: A monoclonal anti-human T lymphocyte antibody with potent mitogenic properties. *J Immunol* 124:2703, 1980
- Weber G: *Enzymology of cancer cells*. *New Engl J Med* 296:541 1977
- Weber G, Mc Lea MA: The molecular correlation concept of neoplasia. *Adv Enz Reg* 4:115, 1966
- Weber G, Queener SF, Ferdinandus JA: Control of gene expression in carbohydrate, pyrimidin and DNA metabolism. *Adv Enz Reg* 9:63, 1971
- Wehinger H, Möbius W: Cytochemical studies on T and B lymphocytes and lymphoblasts with special reference to acid phosphatase. *Acta Haematol* 56:129, 1976
- Weinberg JB, Hibbs JB: The role of macrophages in cancer resistance and therapy. In Waters H: *Immunological Aspects of Cancer*. New York, Garland STPM Press, p 51, 1978
- Weinhouse S, Shatton JB, Criss WE, Morris HP: In Weinhouse S, Cno T (eds): *Isozymes and Enzyme Regulation in*

Cancer. Gann Monograph on Cancer Research, University of Tokyo Press p 1. 1972

Weisburger JH, Williams GM: Metabolism of chemical carcinogens. In Becker FF (ed): Cancer: A Comprehensive Treatise. Plenum Publishing, 1:241, 1982

Weiss A, Imboden J, Shoback D, Stobo J: Role of T3 surface molecules in human T cell activation: T3 dependent activation results in a rise in cytoplasmic free calcium. Proc Natl Acad Sci USA 81:4169, 1984

Weiss EH, Mellor A, Golden Ly cols: The structure of a mutant H-2 gene suggest that the generation of polymorphism in H-2 genes may occur by gene conversion-like events. Nature 301:671, 1983

Weiss L, Haydock K, Pickren JW, Lane WW: Organ vascularity and metastatic frequency. Am J Pathol 101:101, 1980

Weitzen ML, Innis E, Yamamoto RS, Granger GA: Inhibition of human NK-induced cell lysis and soluble cell-lytic molecules with anti-human LT antisera and various saccharides. Cell Immunol 77:42, 1983

Welsh RM, Zinkernagel RM, Hallenbeck LA: Cytotoxic cells induced during LCM virus infection in mice. II. Specificities of the natural killer cells. J Immunol 122:475, 1979

Wheat TE, Goldberg E: In Markert C (ed): Isozymes vol 3, Developmental Biology. Academic Press, New York pag 325, 1975

- Wheelock EF, Brodovsky H: Dormant cancer: In Prolonged -
Arrest of Cancer. ed. Stoll B, p 87, 1982
- Whitfield JF, Boynton AL, MacManus JP y cols: The roles of -
calcium and cyclic AMP in cell proliferation. Ann
NY Acad Sci 339:216, 1980
- Wier ML, Hoerl BJ, Scott RE: The integrated control of stem
cell proliferation and differentiation (abstract)
Fed Proc 42:388, 1983
- Williams LK, Sullivan A, Mc Ilhinney RAJ, Neville AM: A mo-
noclonal antibody marker of human primitive endo-
derm. Int J Cancer 30:731, 1982
- Wirth JJ, Carney WP, Wheelock EF: The effect of particle si
ze on the immunodepressive properties of silica. -
J Immunol Methods 32:357, 1980
- Wislocki BG, Rheingold JJ, Dempsey EW: The occurrence of -
the periodic acid Schiff reaction in various nor-
mal cells of blood and connective tissues. Blood -
4:562, 1949
- Wolfe SA, Tracey DE, Henney CS: Induction of "natural ki -
ller" cells by BCG. Nature 262:534, 1979
- Wolosin LB, Greenberg AH: Murine natural anti-tumor antibo-
dies. I. Rapid in vivo binding of natural antibody -
by tumor cells in syngeneic mice. Int J Cancer -
23:519, 1979
- Wong GI, Clark-Lewis JL, McKinn-Breschkin JL, Harris AW, -
Schrader JM: Interferon gamma induces enhanced ex
pression of Ia and H-2 antigens on B lymphoid, ma

- macrophage and myeloid cell lines. *J Immunol* 131: -
788, 1983
- Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, Sun T-T: Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *J Cell Biol* -
95:580, 1982
- Woods KL, Cove DH, Howell A: Predictive classification of human breast carcinomas based on lactalbumin synthesis. *Lancet* 2:14, 1977
- Wright SC, Bonavida B: Selective lysis of NK-sensitive target cells by a soluble mediator released from murine cells and human peripheral blood lymphocytes. *J Immunol* 126:1516
- Wright SC, Bonavida B: Studies on the mechanism of natural killer (NK) cell-mediated cytotoxicity (CMC). I. Release of cytotoxic factors specific for NK-sensitive target cells (NKCF) during co-culture of NK effector cells with NK target cells. *J Immunol* 129:433, 1982
- Wright SC, Bonavida B: Studies on the mechanism of natural killer cell-mediated cytotoxicity. IV. Interferon-induced inhibition of NK target cell susceptibility to lysis is due to a defect in their ability to stimulate release of natural killer cytotoxic factors. *J Immunol* 130:2965, 1983
- Wright SC, Bonavida B: Studies on the mechanism of natural killer cell mediated cytotoxicity. V. Lack of NK specificity at the level of induction of natural

natural killer cytotoxic factors in cultures of human, murine, or rat effector cells stimulated with NK sensitive or resistant mycoplasma for cell line. *J Immunol* 132:2336, 1984

Wright SC, Weitzen ML, Kahle R, Granger GA, Bonavida B: Studies on the mechanism of natural killer cytotoxicity. II. Coculture of human PBL with NK-sensitive or resistant cell lines stimulates release of natural killer cytotoxic factors (NKCF) selectively cytotoxic to NK-sensitive target cells. *J Immunol* 130:2479, 1983

Yam LT, Li CY, Crosby WH: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am J Clin Pathol* 55: 283, 1971

Yogeeswaran G, Sheinin R, Wherrett JR, Murray RK: Studies on glycosphingolipids of normal and virally transformed 3T3 mouse fibroblast. *J Biol Chem* 247:5146 1972

Young WW, Hakomori SI, Durdik JM, Henney CS: Identification of ganglio-N-tetraosylceramide as a new cell surface marker for murine natural killer cells. *J Immunol* 124:199, 1980

Yuhas JM, Tarleton AE: Dormancy and spontaneous recurrence of human breast cancer in vitro. *Cancer Res* 38: 3584, 1978

Yun K, Hoerl BJ, Scott RE: Efficient differentiation of proadipocyte stem cells on nonadherent surfaces: evidence for differentiation without DNA synthe-

- sis. *J Cell Physiol* 117:249, 1983
- Yunis EJ, Martínez C, Smith J, Statman O, Good RA: Spontaneous mammary adenocarcinoma in mice: influence of thymectomy and reconstitution with thymus grafts or spleen cells. *Cancer Res* 29: 174, 1969
- Zarbl H, Sukumar S, Arthur AV, Martin-Zanca D, Barbacid M: Direct mutagenesis of Ha-ras-1 oncogenes by N-nitroso-N-methylurea during initiation of mammary carcinogenesis in rats. *Nature* 315:382, 1985
- Zinkernage RM, Doherty PC: Role of polymorphic Major transplantation antigens determining T-cell restriction-specificity, function and responsiveness. *Adv Immunol* 27:51, 1979
- Zubler RM, Lange CH, Lambert PH, Miescher PA: Detection of immune complexes in unheated sera by a modified I^{125} C1q binding test. *J Immunol* 116:232, 1976
- Zucker-Franklin D, Grusky G, Yang JS: Arylsulphatase in natural killer cells: its possible role in cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:6977, 1983

