

УДК 576.809.7

А. А. МИХАЙЛОВА, Р. В. ПЕТРОВ, Л. А. ЗАХАРОВА

СИНТЕЗ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СМЕШАННЫХ КУЛЬТУРАХ СИНГЕННЫХ КЛЕТОК ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЛИМФОИДНЫХ ТКАНЕЙ

(Представлено академиком В. В. Петровским 12 VI 1970)

В нашей предыдущей работе было показано, что при совместном культивировании селезеночных клеток мышей разных генотипов наблюдается стимуляция синтеза γ -глобулинов и других водорастворимых белков (¹). Оказалось, что эффект стимуляции белкового синтеза увеличивается в случае смешивания селезеночных клеток с аллогенными клетками лимфатических узлов (²). Это свидетельствует о значении взаимодействия клеток различной гистологической природы.

В последнее время появились работы, доказывающие наличие кооперативных процессов между двумя типами клеток, принимающих участие в иммунном ответе (³⁻⁵). Нами развивается гипотеза о необходимости взаимодействия по крайней мере трех типов клеток — макрофага, стволовой клетки и стимулированного лимфоцита (^{2, 6}).

В связи с этим возникает вопрос о том, происходит ли взаимодействие между сингенными клетками различных лимфоидных и кроветворных тканей в смешанных культурах *in vitro*.

В настоящей работе мы изучали синтез антител и неспецифических γ -глобулинов при совместном культивировании селезеночных клеток с сингенными клетками селезенки или лимфатических узлов иммунных и интактных мышей.

Материал и методика. В опытах использовали инбредных мышей С57BL и А, самцов и самок, весом 18—22 г.

Животных иммунизировали γ -глобулином лошади по схеме: подкожное введение белка в полном адьюванте Фрейнда в дозе 5 мг на мышшь с последующей реиммунизацией через 1—1,5 мес. внутривенным введением этого белка в физиологическом растворе в дозе 3 мг на мышшь. Для приготовления культуры клеток иммунных животных ткань извлекали на 4 сутки после повторного введения антигена. Мышей забивали декапитацией, извлекали стерильно селезенки, брыжеечные, подмышечные и паховые лимфатические узлы и готовили из них клеточные суспензии. В случае селезенки ткань измельчали при помощи минцера, для приготовления суспензии клеток лимфатических узлов размельченную ткань пропускали через иглы с последовательно уменьшающимися диаметрами. Просеянные и отмытые физиологическим раствором клетки культивировали при 37° в среде Игла с добавлением сыворотки крупного рогатого скота, антибиотиков и С¹⁴-глицина (1 μ С/мл). Концентрация культивируемых клеток составляла $7 \cdot 10^7$ клеток в 1 мл.

Для получения смешанных культур во флаконы наливали по 1,5 мл суспензии каждой из двух исследуемых клеточных взвесей. В контрольных флаконах культивировали по 3 мл исходных клеточных суспензий.

По окончании инкубации определяли количество меченых антител и неспецифических γ -глобулинов в культуральной жидкости после осаждения клеток центрифугированием (20 мин., 12 000 об/мин). Для извлечения антител и неспецифических γ -глобулинов использовали иммуносорбенты, избирательно присоединяющие эти белки (⁷). О количестве синтезирован-

ных антител и неспецифических γ -глобулинов судили по приросту радиоактивности на соответствующем иммуносорбенте.

Эффект взаимодействия клеток выражали в виде отношения интенсивности белкового синтеза в смешанных культурах к величине ожидаемого синтеза, рассчитанной по соответствующим несмешанным контролям.

Результаты. При совместном культивировании иммунных селезеночных клеток с сингенными клетками селезенки неиммунизированных доноров наблюдалась интенсификация синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов. Коэффициенты стимуляции в смешанных культурах сингенных селезеночных клеток, полученных от иммунных (им.) и интактных (инт.) доноров, оказались следующими:

	Число опытов	Антитела	Неспецифический γ -глобулин
C57BL (им.) + C57BL (инт.)	12	$1,66 \pm 0,25$ ($P < 0,05$)	$1,57 \pm 0,09$ ($P < 0,001$)
A (им.) + A (инт.)	4	$1,53 \pm 0,16$ ($P < 0,05$)	$1,7 \pm 0,2$ ($P < 0,05$)

По-видимому, при контакте клеток иммунной и неиммунной селезенки происходит вовлечение части неиммунных клеток в процесс синтеза специфических антител и неспецифических γ -глобулинов. Какие клетки вовлекаются в синтез и какие типы клеток в селезеночной суспензии, полученной от иммунных животных, кооперируют с неиммунными клетками, сказать трудно, поскольку селезенка гетерогенна по клеточному составу. Некоторые сведения в этом плане были получены в экспериментах по совместному культивированию селезеночных клеток с сингенными клетками лимфатических узлов иммунных и интактных доноров.

Коэффициенты стимуляции антител и неспецифических γ -глобулинов в смешанных культурах селезеночных клеток с сингенными клетками лимфатических узлов, полученных от иммунных (им.) и интактных (инт.) мышей, следующие:

	Число опытов	Антитела	Неспецифические γ -глобулины
C57BLсел. (инт.) + C57BLл.у. (инт.)	4	—	$0,99 \pm 0,1$ ($P > 0,05$)
C57BLсел. (им.) + C57BLл.у. (инт.)	4	$1,02 \pm 0,2$ ($P > 0,05$)	$1,03 \pm 0,07$ ($P > 0,05$)
C57BLсел. (инт.) + C57BLл.у. (им.)	5	$3,05 \pm 0,87$ ($P < 0,001$)	$1,52 \pm 0,13$ ($P < 0,05$)
A сел. (инт.) + A л.у. (им.)	3	$6,28 \pm 0,37$ ($P < 0,001$)	$2,26 \pm 0,11$ ($P < 0,001$)

Как видно, при совместном культивировании селезеночных клеток, полученных от интактных животных, с клетками лимфатических узлов, полученных от иммунных животных, синтез антител увеличивается в 3 раза в культуре клеток мышей линии C57B1 и в 6 раз в культуре клеток мышей A.

Параллельно с активацией синтеза антител наблюдается также и стимуляция синтеза неспецифических γ -глобулинов. В случае же культивирования иммунных селезеночных клеток с клетками лимфатических узлов интактных доноров интенсивность синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов не увеличивается. Нормальный синтез γ -глобулинов наблюдается также в смешанной культуре селезеночных клеток с сингенными клетками лимфатических узлов неиммунизированных мышей.

По-видимому, при контакте иммунных клеток лимфатических узлов с интактными селезеночными клетками происходит вовлечение части клеток селезеночной популяции в процесс синтеза γ -глобулинов. Поскольку стимуляция синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов наблюдается в случае совместного культивирования иммунных лимфоцитов с неиммунными селезеночными клетками и отсутствует в смеси интактных клеток лимфатических узлов с клетками иммунной селезенки, можно предполагать, что именно активированные антигеном лимфоциты играют ведущую

роль в индукции синтеза иммуноглобулинов в интактных клетках, вовлекая в этот процесс часть клеток селезеночной популяции, скорее всего бластные формы. Это предположение требует дальнейшей экспериментальной проверки.

Поступило
28 V 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹Р. В. Петров, А. А. Михайлова, ДАН, 187, № 4, 922 (1969). ²Р. В. Петров, Усп. совр. биол., 69, 2, 261 (1970). ³J. F. A. P. Miller, G. F. Mitchell, J. Exp. Med., 128, 4, 801 (1968). ⁴G. F. Mitchell, J. F. A. P. Miller, J. Exp. Med., 128, 4, 821 (1968). ⁵G. J. V. Nossal, A. Cunningham et al., J. Exp. Med., 128, 4, 839 (1968). ⁶Р. В. Петров, XII Международн. конгресс по переливанию крови (матер. пленар. заседаний), М., 1969, стр. 192. ⁷А. Е. Гурвич, Г. И. Дризлих, Е. В. Сидорова. Иммунохимический анализ, М., 1968, стр. 234.