

Р. В. ПЕТРОВ, В. Н. ШВЕЦ, В. М. МАНЬКО

**ИЗМЕНЕНИЕ ЭРИТРОИДНОГО ТИПА ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА МИЕЛОИДНЫЙ
ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИМФОЦИТОВ**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 28 V 1971)

Известно, что для всех типов кроветворения имеется одна родоначальная — стволовая клетка (¹, ²). Выбор пути дифференцировки ее определяется рядом факторов. Согласно гипотезе, выдвинутой Чертковым и Фриденштейном (³), Кьюрри и Трентин (⁴), направление дифференцировки стволовой кроветворной клетки определяется строимой кроветворного органа. Это положение иллюстрируется результатами экспериментов (⁵, ⁶). По другим воззрениям одним из важнейших факторов, определяющих направление дифференцировки стволовой клетки, является ее взаимодействие с лимфоцитом (⁷, ⁸). Эта гипотеза также подтверждена экспериментально (⁷⁻¹²).

Отправным моментом данной работы являются результаты исследований И. Н. Головистикова и Р. В. Петрова (⁸, ⁹), показавших, что при трансплантации клеток костного мозга вместе с сингенными лимфоцитами в организм аллогенного реципиента происходит отмена обычной гемопоэтической дифференцировки стволовых элементов, отмена колониеобразования.

Целью настоящей работы было изучение влияния взаимодействия лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками на характер их дифференцировки. В качестве доноров клеток костного мозга, лимфатических узлов и селезенки использованы мыши генотипа СВА. Реципиентами служили два генотипа мышей — сингенные для доноров (СВА) и аллогенные — гибриды (СВА × С57ВL)F₁. Реципиентов облучали в дозе 850 р γ-лучами Co⁶⁰ на установке ЭГО-2, мощность дозы 387 р/мин. Через сутки после облучения инъецировали внутривенно клетки донора СВА. Методы приготовления суспензий клеток изложены ранее (¹⁴). На 7—9 день после инъекции родительских клеток у реципиентов извлекали селезенку и бедренные кости. Материал фиксировали в жидкости Буэна. Количество колоний подсчитывали по методу Тилла и Мак-Куллоха (¹²). Для микроскопического учета колониеобразования материал заливали в парафин и готовили серии срезов толщиной 5—7 м. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином. На срезах подсчитывали число колоний разного типа. Сравнивали количество и морфологический состав колоний, образовавшихся при трансплантации смеси клеток костного мозга и лимфатических узлов, с числом и характером колоний, возникших при трансплантации только костного мозга.

Результаты гистологического анализа кроветворных колоний в селезенке сингенных реципиентов (мыши линии СВА) представлены в табл. 1, из которой видно, что при введении клеток костного мозга СВА или смеси клеток костного мозга и лимфатических узлов в селезенку реципиентов на 9 день не наблюдалось изменений числа кроветворных колоний как при макро-, так и при микроскопическом подсчете. Направление дифференцировки стволовой клетки по пути эритро- и миелопоэза остается неизмен-

Таблица 1

Гистологический анализ кроветворных колоний в селезенке облученных (850 р) мышей СВА и мышей-гибридов (СВА×С57ВL)F₁ после трансплантации костного мозга и лимфоцитов СВА

Число трансплантированных клеток СВА		Число реци- пиентов *	Эритроидные колонии (э)	Миелоидные колонии (м)	Мегакарио- цитарные колонии	Недифферен- цированные колонии	Смешанные колонии	э/м	Среднее число колоний	
клетки кост- ного мозга	клетки лим- фатических узлов								при микроскопи- ческом учете	при макроскопи- ческом учете
Мыши СВА										
5·10 ⁴	—	8 (2)	11,7±2,5	6,2±1,6	2,6±0,8	0,1±0,1	1,4±0,5	1,9:1	22,0±4,0	10,9±2,4
5·10 ⁴	10 ⁵	8 (2)	8,4±1,6	4,5±0,7	2,0±0,7	1,1±0,3	1,2±0,5	1,8:1	17,2±2,0	9,5±1,8
—	10 ⁵	9 (2)	0,3±0,2	0,2±0,1	0,1±0,1	0,3±0,1	0	1,5:1	0,9±0,3	0,9±0,4
—	—	7 (2)	0,3±0,1	3,1±0,7	1,1±0,4	0,1±0,1	0	1:10	4,6±1,1	0,3±0,1
Мыши-гибриды (СВА × С57ВL)F ₁ (7—9 день)										
10 ⁵	—	24 (4)	21,0±1,1	10,0±0,6	3,0±0,3	1,5±0,3	2,7±0,4	2:1	38,1±1,2	25,1±2,6
10 ⁵	2—4·10 ⁵	18 (3)	0,5±0,1	29,1±2,1	4,5±0,6	0,3±0,1	1,1±0,2	1:58	35,5±2,7	9,6±2,0
4·10 ⁵	—	10 (1)	Сливной рост с преобладанием эритроидных колоний							46,6±1,6
4·10 ⁵	3·10 ⁵	5 (1)	3,2±1,3	32,2±10,8	4,2±1,3	0,4±0,2	4,0±1,7	1:10,6	44,0±13,6	17,0±5,0
—	2·10 ⁵	12 (3)	0	0	0	0	0	—	0	0
—	—	20 (4)	0,6±0,2	0,2±0,1	0,4±0,2	0,1±0,1	0,1±0,1	3:1	1,4±0,3	0,8±0,6
Селезеночные 2·10 ⁵	клетки	11 (4)	15,5±2,2	9,0±1,6	2,0±0,4	4,0±0,8	1,7±0,5	1,7:1	31,8±2,6	10,0±1,1

* В скобках число опытов.

ным и характеризуется преимущественным формированием эритропоэтических колоний в обоих случаях.

При трансплантации клеток костного мозга мышей линии СВА в смеси с сингенными лимфоцитами гибридным реципиентам в их селезенках регистрировалось меньшее количество макроскопически учитываемых колоний, чем при введении только клеток костного мозга (табл. 1). Это согласуется с опубликованными ранее данными (12). Однако при микроскопическом анализе колоний в селезенке F₁ гибридов инактивация колониеобразующих элементов не регистрируется. Отношение эритроидных колоний к миелоидным также не отличается от того, которое типично для сингенной трансплантации (табл. 1, первая строка). Добавление лимфоцитов СВА к клеткам костного мозга этой же линии и трансплантация такой смеси F₁ гибридам диаметрально изменило характер дифференцировки стволовых клеток, обусловив преимущественное образование миелопоэтических колоний.

Известно, что в селезеночной ткани мышей в отличие от костного мозга содержится меньшая концентрация стволовых элементов при высоком содержании лимфоцитов (3, 13, 14). Поэтому ожидалось, что при трансплантации гибридным реципиентам клеток селезенки стволовые элементы будут подвергаться описанной выше передифференцировке под влиянием большого количества лимфоцитов, находящихся среди селезеночных клеток. Однако этого не произошло (см. табл. 1). Этому факту может быть дано два объяснения: или изменение эритроидного типа дифференцировки на миелоидный под влиянием лимфоцитов типично только для стволовых клеток костного мозга, или для этого процесса требуются лимфоциты из лимфатических узлов.

Учет результатов взаимодействия кроветворных стволовых клеток с сингенными лимфоцитами в организме гибридного реципиента проведен и посредством микроскопического анализа кроветворных колоний, вырастающих в костномозговой полости бедра. Результаты этих опытов пока-

Таблица 2
Гистологический анализ 7-дневных кроветворных очагов в костномозговой полости бедра облученных (850 р) мышей-гибридов (СВА×С57ВL)₁F₁ после инъекции костного мозга и лимфоцитов СВА *

Число трансплантированных клеток СВА		Число реципиентов (СВА×С57ВL) ₁ F ₁	Эритроидные колонии (э)	Миелоидные колонии (м)	Мегакариоцитарные колонии	Наличие реципиентные колонии	Смешанные колонии	в/м	Среднее число колоний в костномозговой полости бедра
клетки костного мозга	клетки лимфатических узлов								
10 ⁵	—	14	1,6±0,3	2,8±0,2	1,2±0,1	0	0,7±0,1	1:1,7	6,3±0,8
10 ⁵	2·10 ⁶	11	0,1±0,1	0,7±0,3	0,1±0,1	0	0,2±0,1	1:7	1,1±0,4
—	2·10 ⁶	14	0	0,2±0,1	0,1±0,1	0	0,1±0,1	—	0,4±0,2
—	—	13	1,2±0,1	1,4±0,1	0,7±0,1	0	0,4±0,1	1:1,2	3,7±0,5

* Результаты суммированы по трем опытам.

зали ту же закономерность (табл. 2): отношение эритроидных очагов к миелоидным изменяется в сторону большего образования миелоидных колоний при трансплантации смеси костного мозга с клетками лимфатических узлов. Здесь развивается значительное угнетение эндогенного колониеобразования.

Приведенные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что трансплантация клеток костного мозга летально облученным животным обуславливает развитие большего числа эритроидного типа селезеночных и костномозговых колоний вне зависимости от генотипа реципиента. Отношение количества эритроидных колоний к миелоидным в селезенке колеблется около 2:1 как у сингенных, так и у гибридных реципиентов. Добавление к костномозговому трансплантату сингенных клеток лимфатических узлов направляет дифференцировку стволовых колониеобразующих элементов в сторону миелопоэза, если такая клеточная смесь трансплантируется аллогенному (гибридному) реципиенту. При этом в количественном отношении колониеобразующая активность донорского костного мозга полностью сохраняется в селезенке реципиентов, но угнетается в костномозговой полости. Однако величина селезеночных колоний резко уменьшается так, что становится возможным только их микроскопический учет. Отсутствие эффекта перенаправления дифференцировки при трансплантации клеточной смеси сингенным реципиентам указывает на то, что для реализации данного типа взаимодействия «лимфоцит — стволовая клетка» требуется наличие антигенной стимуляции лимфоцитов (в данном случае со стороны чужеродного реципиента).

Институт биофизики
Министерства здравоохранения СССР
Москва

Поступило
21 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. P. Lewis, F. E. Trobaugh, *Nature*, **204**, 589 (1964). ² V. Juraskova, L. Tkadlesek, V. Drasil, *Folia biol.*, **10**, 381 (1964). ³ И. Л. Чертков, А. Я. Фриденштейн, *Усп. совр. биол.*, **62**, в. 1 (4) (1966). ⁴ J. L. Curry, J. J. Trentin, *Development Biol.*, **15**, 395 (1967). ⁵ N. S. Wolf, J. J. Trentin, *J. Exp. Med.*, **127**, 205 (1968). ⁶ Y. Kitamura, T. Kawata et al., *Transplantation*, **10**, 455 (1970). ⁷ Р. В. Петров, В кн. XII Международн. конгр. по переливанию крови (Матер. пленарных заседаний), 1969, стр. 192. ⁸ И. Н. Головистиков, Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, *ДАН*, **194**, 1208 (1970). ⁹ Р. В. Петров, *Усп. совр. биол.*, **69**, в. 2, 261 (1970). ¹⁰ G. F. Mitchell, J. F. A. P. Miller, *J. Expl. Med.*, **128**, 821 (1968). ¹¹ G. J. V. Nossal, A. Cunningham et al., *J. Expl. med.*, **128**, 839 (1968). ¹² D. L. Groves, W. E. Lever, T. Makinodan, *Nature*, **221**, 95 (1969). ¹³ J. E. Till, E. A. McCulloch, *Radiation Res.*, **14**, 243 (1961). ¹⁴ Р. В. Петров, Ю. М. Зарецкая, *Трансплантационный иммунитет и радиационные химеры*, 1965.