

Т. П. ЕВГЕНЬЕВА

СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТЕЙ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В ДИФФУЗИОННЫХ КАМЕРАХ

(Представлено академиком Б. А. Астауровым 19 VIII 1971)

Межклеточные контакты и свойства клеточных поверхностей во многом определяют функции клеток и их поведение (¹, ²). Показано, что состояние клеточных поверхностей играет существенную роль при эмбриональной индукции (³), дифференцировке (⁴), малегнизации (⁵) и так далее. Большие успехи в изучении клеточных поверхностей были сделаны при помощи электронного сканирующего микроскопа, недавно введенного в практику биологических исследований (⁶⁻⁸). Применение такого микроскопа позволяет на больших увеличениях наблюдать поверхности целых клеток в трехмерном пространстве, что дает возможность увидеть действительные контакты клеток друг с другом.

В данной работе мы изучали клеточные поверхности лимфоцитов при их культивировании в диффузионных камерах. Интересно было сравнить поверхности лимфоидных клеток от интактных животных с поверхностями лимфоидных клеток от животных с развившимися опухолями и от резистентных к данной опухоли животных. В диффузионные камеры, изготовленные из непроницаемых для клеток миллиметровых фильтров VUFS, помещали взвесь из $3 \cdot 10^6$ лимфоцитов из паховых и подколенных лимфатических узлов крыс линии Вистар. Диффузионные камеры имплантировали внутрибрюшинно либо интактным крысам, либо крысам с развившимися опухолями штамма ЦРМ1. Первичная рабдомиобластома, давшая начало опухоли ЦРМ1, была впервые получена А. Н. Студитским в результате обертывания икроножной мышцы крысы целлофановой пленкой (⁹).

Схема опытов

Серия I А	Лимфоциты от интактного животного	Имплантация в брюшную полость интактной крысы
Серия I Б	То же	Имплантация в брюшную полость крысы с опухолью
Серия I В	Лимфоциты от животного с опухолью	То же
Серия II А	Лимфоциты от резистентного животного	То же
Серия II Б	То же	Имплантация в брюшную полость интактной крысы

Камеры извлекали через 3; 5; 7 суток культивирования, фильтры фиксировали спирт-формолом в течение 20 мин., затем проводили через спирты возрастающей крепости (70°, 96°, 100°) по 5 мин. в каждом. После 100°-спирта фильтры высушивали на воздухе в течение 30 мин. и помещали в вакуумную напылительную установку; напыление проводили золотом. Приготовленные таким образом образцы исследовали в сканирующем электронном микроскопе «Stereoscan».

Серия I А. Через 3 суток культивирования в диффузионной камере лимфоциты лежат на фильтре поодиночке, контактов между ними, как правило, не наблюдается (рис. 1а). Они прикрепляются к фильтру довольно тонкими отростками, исходящими от поверхности клетки (рис. 1б). Через 5 суток культивирования цитоплазма некоторых клеток образует вы-

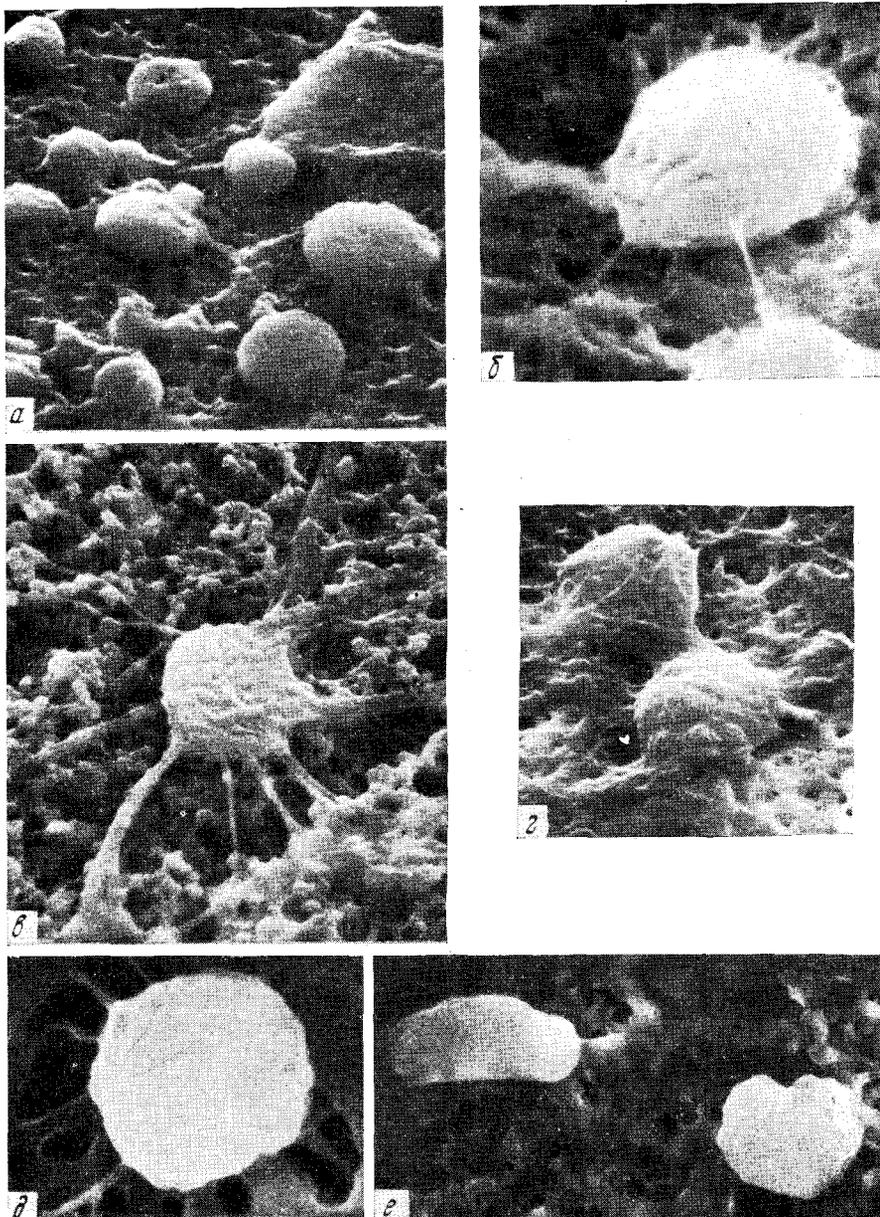


Рис. 1. *a* — лимфоциты на 3 сутки культивирования; серия IA; $\angle 45^\circ$, 2000 \times .
b — прикрепление лимфоцита к фильтру; 3 сутки культивирования; серия IA;
 $\angle 45^\circ$, 5000 \times . *c* — фибробласт на фильтре; 5 сутки культивирования; серия
 IA. $\angle 1^\circ$, 2000 \times . *г* — клетки, оплетенные коллагеновыми волокнами; 7 сутки
 культивирования; серия IA; $\angle 45^\circ$, 2000 \times . *д* — лимфоциты на 3 сутки культи-
 вирования; серия IB; $\angle 1^\circ$, 5000 \times . *e* — лимфоидные клетки через 5 суток
 культивирования; серия IB; $\angle 1^\circ$, 2000 \times

росты, часто протяженность отростков значительно превышает диаметр самой клетки (рис. 1*б*). На 7 сутки культивирования многие клетки, в том числе и лимфоциты, оплетены довольно толстыми (вероятно коллагеновыми) волокнами, которые располагаются как над клетками, так и под ними (рис. 1*г*). Лимфоциты сохраняют прежний вид, иногда между близко расположенными клетками образуются широкие цитоплазматические мостики (рис. 1*е*).

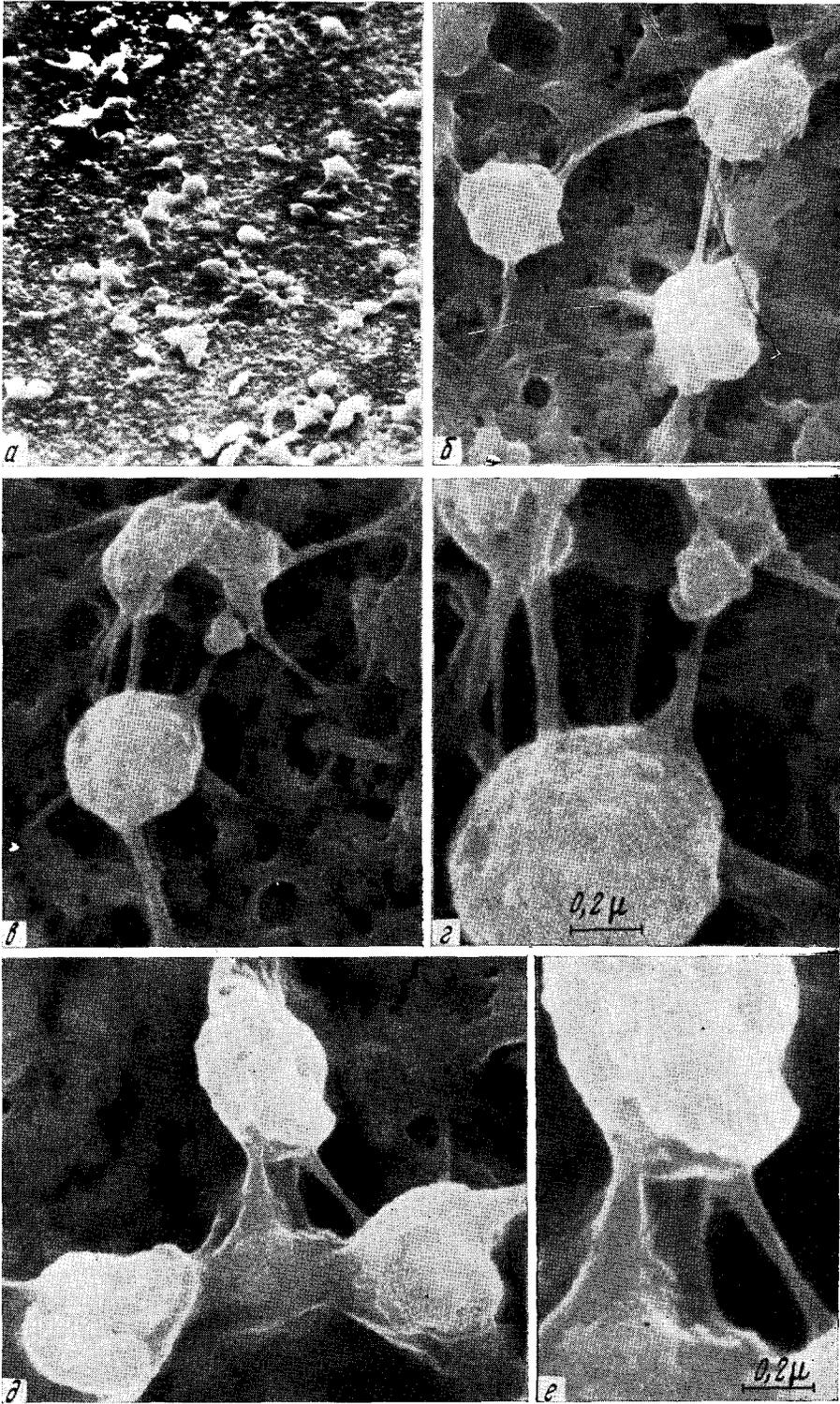


Рис. 2. *a* — лимфоциты на 3 сутки культивирования в диффузионной камере; серия ПА; $\angle 45^\circ$, 1000 \times . *b* — контакты между лимфоидными клетками; 3 сутки культивирования; серия ПА; $\angle 1^\circ$, 2000 \times . *в* — межклеточные контакты на 5 сутки культивирования; серия ПА; $\angle 1^\circ$, 2000 \times . *г* — фрагмент рис. *в*, 10 000 \times . *д* — межклеточные контакты на 7 сутки культивирования; серия ПА; $\angle 1^\circ$, 2000 \times . *е* — фрагмент рис. *д*, 10 000 \times

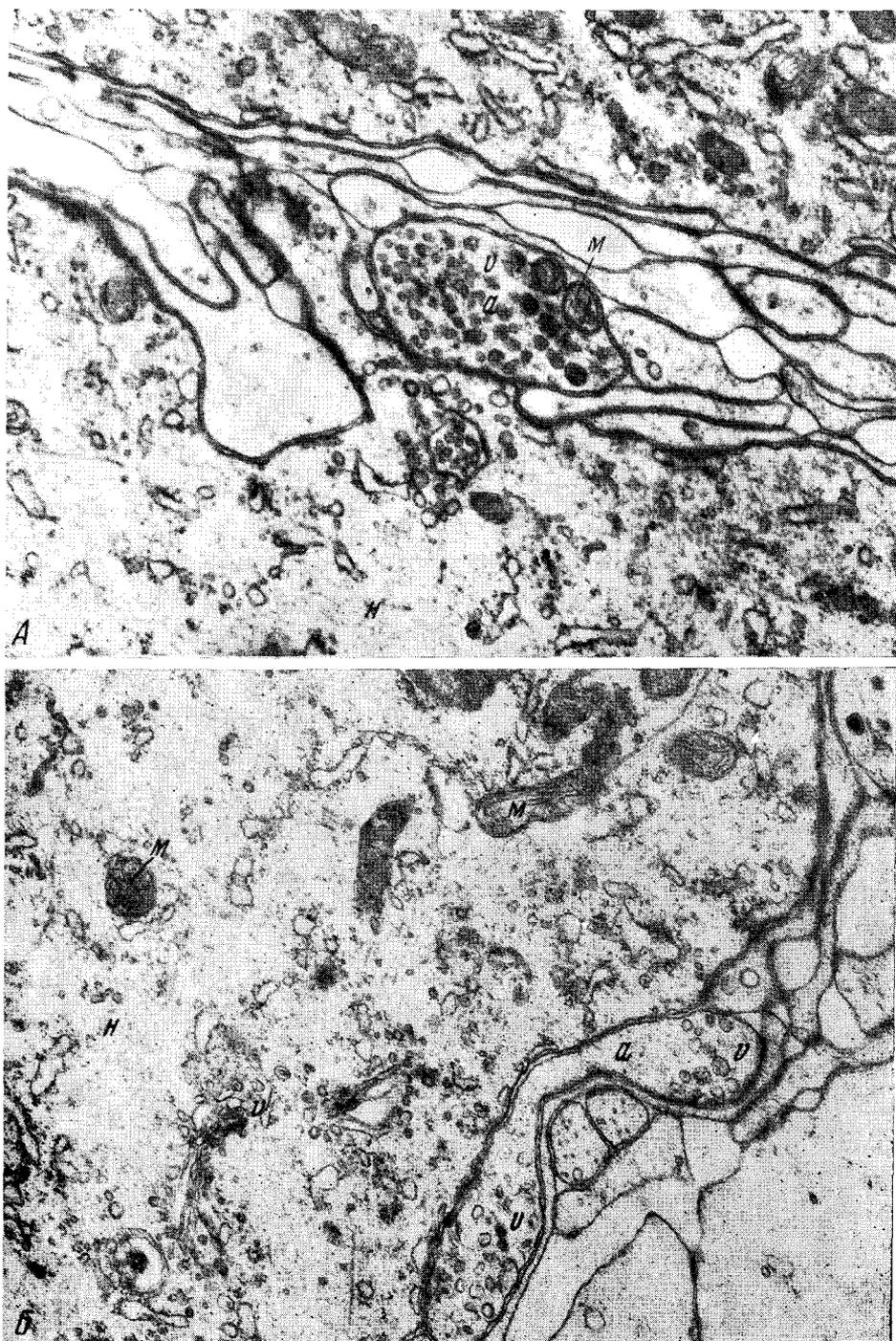


Рис. 1. Аксо-соматический синапс на теле крупного нейрона (n) педаального ганглия легочного моллюска *Lymnaea stagnalis*. А — в пресинаптическом окончании аксона (a) много синаптических пузырьков различной величины и электронной плотности (v) и митохондрий (m). Контактующие мембраны утолщены. Фиксация глутаральдегидом с четырехокисью осмия, контрастирование уранилом и моноокисью свинца. Б — в срезе часть цитоплазмы с органоидами (m, v) и прилежащий аксон (a) с синаптическими пузырьками (v). 8400 X

Серия I Б. Если диффузионные камеры с лимфоцитами от интактных крыс имплантировать крысам с развившимися опухолями, то уже на 3 сутки культивирования можно заметить дегенеративные изменения клеточных поверхностей многих лимфоцитов, большинство клеток либо совсем не имеют отростков, либо их количество крайне незначительно (рис. 1*д*). Образование фибробластов в этих условиях проходит несколько ускоренными темпами, через 5 суток культивирования в диффузионных камерах встречается значительное количество фибробластов, оплетенных коллагеновыми волокнами.

Серия I В. Лимфоциты, взятые от животного с развившейся (в течение 3 недель) опухолью при культивировании в диффузионных камерах, которые были имплантированы крысам с опухолями того же штамма, имеют еще более поврежденные поверхности. Отростки в виде очень тонких микротрубочек редки и служат только для прикрепления клеток к фильтру (рис. 1*е*).

Серия II А. Совсем иначе ведут себя лимфоциты от резистентных (к данной опухоли) животных в условиях их культивирования в диффузионных камерах, имплантированных крысам с привитой опухолью того же штамма. Лимфоциты, лишенные возможности мигрировать к клеткам-мишеням, выпускают многочисленные отростки, длина которых часто превышает диаметр самой клетки. Часть отростков служит для прикрепления лимфоцитов к фильтру, однако основная масса отростков служит для соединения клеток друг с другом (рис. 2*а—в, д*). На 5 сутки культивирования количество клеток, соединенных отростками, еще больше возрастает. Сама поверхность такого возбужденного лимфоцита имеет характерные неровности, некоторые из которых переходят в отростки. Толщина отростков самая разная — от тонких микротрубочек (200—500 Å) до довольно толстых цитоплазматических тяжей (0,1—0,2 μ). Часто трудно разобрать, какой именно клетке принадлежит тот или иной отросток, так как границ между отростками двух соседних клеток наблюдать не удается (рис. 2*г, е*). Количество коллагена очень незначительно, хотя на 7 сутки культивирования встречаются отдельные клетки фибробластоподобного вида.

Серия II Б. Лимфоциты от тех же самых резистентных животных при культивировании в диффузионных камерах, имплантированных интактным крысам, ведут себя примерно таким же образом, как и лимфоциты интактных крыс в подобных условиях. Отростки клеток служат, как правило, лишь для прикрепления клеток к фильтру; между лимфоцитами соединения либо нет, либо оно осуществляется с помощью одного толстого тяжа. На 7 сутки культивирования, так же как в сериях IА, IБ, IВ в диффузионных камерах образуется значительное количество фибробластов и коллагеновых волокон.

Таким образом, изучение лимфоидных клеток в сканирующем электронном микроскопе показало, что характер клеточных поверхностей определяется условиями культивирования. Ранее нами было найдено, что при совместном культивировании в диффузионных камерах лимфатических узлов с опухолевой тканью лимфоциты от резистентных к данной опухоли животных способны лизировать опухолевые клетки только при условии имплантации камер интактным крысам; те же самые лимфоциты теряют способность прилипать к клеткам-мишеням и разрушать их при имплантации камер животным с развившимися опухолями⁽¹⁰⁾. Принимая во внимание резкую гипертрофию надпочечников у животных с опухолями (и, в частности, с опухолями штамма ЦРМ), можно предполагать, что лимфоциты у таких животных оказываются в угнетенном или в поврежденном состоянии благодаря высокому уровню кортикостероидов⁽¹¹⁾. Применение электронного сканирующего микроскопа позволило выявить свойства клеточных поверхностей, характерные для иммунного лимфоцита и для лимфоцита животного с развившейся опухолью. Оказалось, что иммунные лимфоциты, будучи отделенными от клеток-мишеней непроницаемыми филь-

трами, тем не менее активно выпускают отростки, которыми они не только прикрепляются к фильтру, подобно лимфоцитам от интактных животных, но и соединяются друг с другом. Способность выпускать отростки и контактировать друг с другом резко снижается у лимфоцитов при их культивировании в диффузионных камерах, имплантированных животным с развившимися опухолями. Вероятно, отсутствие выраженного иммунного ответа на опухолевые трансплантаты можно объяснить деструктивными изменениями поверхностей лимфоцитов у животных с опухолями, в результате чего акцепция чужеродного антигена такой поверженной клеткой становится невозможной.

Институт эволюционной морфологии
и экологии животных им. А. Н. Северцова
Академии наук СССР
Москва

Поступило
13 VIII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. Sheridan, *J. Cell Biol.*, **45**, 91 (1970). ² Ю. А. Ровенский, И. Л. Славная, Ю. М. Васильев, *Цитология*, **13**, 5, 574 (1971). ³ C. Grobstein, *Exp. Cell Res. Suppl.*, **8**, 234 (1961). ⁴ A. Moscona, *Int. Rev. Exp. Pathol.*, **1**, 371 (1962). ⁵ M. Abercrombie, E. Ambrose, *Cancer Res.*, **22**, 525 (1962). ⁶ E. Ambrose, M. Ellisson, *Europ. J. Cancer*, **4**, 459 (1968). ⁷ T. Hayes, R. Rease, *Adv. Biol. Med. Phys.*, **12**, 85 (1968). ⁸ G. Hodges, *Europ. J. Cancer*, **6**, 235 (1970). ⁹ А. Н. Студитский, *ДАН*, **146**, 724 (1962). ¹⁰ Т. П. Евгеньева, *ДАН*, **177**, 964 (1967). ¹¹ Т. Evgenjeva, *Europ. J. Cancer*, **4**, 425 (1968).