

В. Г. ГАЛАКТИОНОВ, Т. В. АНФАЛОВА, О. И. МОРГУНОВ

**АНАЛИЗ ИНДУЦИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ НЕСИНГЕННЫХ
МАКРОФАГОВ, ОБРАБОТАННЫХ РНК СЕЛЕЗЕНКИ
ДОНОРСКОГО И РЕЦИПИЕНТСКОГО ТИПОВ**

(Представлено академиком В. Д. Тимаковым 18 XII 1973)

В предыдущей работе (¹) было показано, что несовместимость по локусу Н-2 между донором переработавших антиген макрофагов («иммунных» макрофагов) и реципиентов приводит к значительному подавлению иммунного ответа по сравнению с индукцией в условиях полной сингенности пары: донор «иммунных» макрофагов — реципиент. На основании результатов работы с аллоантисывороткой против макрофагов донора, отличающегося по локусу Н-2, высказано предположение, что сниженный эффект индукции в генотипически ином организме не связан с иммунным отторжением со стороны реципиента, так как реакция отторжения не успевает развиться за период индукции (²). К аналогичному выводу пришли и другие исследователи (⁴).

В связи со сказанным была предпринята попытка преодолеть наблюдаемое снижение индуцирующей способности несингенных «иммунных» макрофагов. С этой целью проведена серия опытов по изучению влияния интактной РНК, выделенной из селезенки доноров макрофагов и реципиентов, на индуцирующую способность аллогенных «иммунных» макрофагов после инкубации последних с соответствующими препаратами РНК. Опыты проведены на мышах двух инбредных линий: СВА и DBA/2, полученных из питомника лабораторных животных «Столбовая». Все животные были самцами 8–12-недельного возраста. Источником «иммунных» макрофагов служили моноциты перитонеального эксудата (п.э.), проинкубированные *in vivo* с эритроцитами барана по методу, описанному другими авторами (⁵). Для получения клеток п.э. мышам внутрибрюшинно вводили 3 мл раздражающей смеси, содержащей 4% пептона, 0,2% гликогена. Через 50–56 час. этим же мышам в брюшную полость инъецировали 1 мл 10% взвеси эритроцитов барана и через 1,5 часа вымывали клетки п.э. 4 мл среды 199, содержащей 10 ед/мл гепарина. Полученные клетки п.э. подвергали осмотическому шоку дистиллированной водой с целью освободиться от незахваченных эритроцитов. Затем клетки п.э. дважды отмывали средой 199, содержащей 10% сыворотки крупного рогатого скота.

Тотальный препарат РНК получали из селезенки интактных мышей методом экстракции горячим фенолом (³). Полученные препараты РНК спектрофотометрировали при длине волн 230, 260, 280 мкм. Количество РНК в препаратах колебалось от 550 мкг/мл до 1200 мкг/мл. Концентрация белка не превышала 2%. Отмытые и ресуспендированные клетки п.э. инкубировали в течение 30 мин. при 37° с РНК, полученной от мышей сингенных или аллогенных по отношению к «иммунным» макрофагам линий. Проинкубированные с РНК «иммунные» макрофаги вводили в хвостовую вену аллогенным мышам в дозе $1 \cdot 10^6$ или $5 \cdot 10^6$ клеток. На 5-й день после инъекции мышей забивали и, используя метод Ерне (⁶), определяли количество антителообразующих клеток (а.т.о.к.) в селезенке.

Контролем служили группы мышей, которым вводили либо не обработанные РНК «иммунные» макрофаги (контроль индукции), либо «иммунные» макрофаги, обработанные РНК, деградированной РНКазой, или РНК, разрушенной ультразвуком на ультразвуковом дезинтеграторе MSE, 150 Вт (контроль активности РНК). Каждая экспериментальная группа включала не менее 10 мышей. Все данные статистически выверены.

В табл. 1 представлены результаты опытов по индукции иммунного ответа у мышей линии СВА (Н-2^к) «иммунными» макрофагами, получен-

Таблица 1

Количество а.т.о.к. у мышей линии СВА при индукции иммунного ответа с помощью переработавших эритроциты барана клеток перитонеального эксудата («иммунных» макрофагов) от мышей линии DBA/2, обработанных экзогенной интактной РНК селезенки донорского и реципиентского происхождения

№ эксперимента	Число клеток перитонеального эксудата	Число а.т.о.к. при аллогенном сочетании пары: донор «иммунных» макрофагов — реципиент				
		контроль индукции DBA—СВА	(DBA+РНК DBA)—СВА	(DBA+РНК СВА)—СВА	РНК+РНКазы	РНК+ультразвук
1	5·10 ⁶	101±18,8	174,5+14,4 (1,72)	283+23,4 (2,4)	44,5+7,8	37,2+4,8
2		40,3+4,1	—	98+14,0 (2,4)		
3	1·10 ⁶	64,5+6,5	61,0+8,11 (0,9)	139+17,11 (2,2)		
4		24+4,1	50+4,1 (2,0)	123+7,1 (5,1)		

Примечания. В скобках отмечен коэффициент индукции при условии, что этот коэффициент равен единице, когда использовались не инкубированные с РНК макрофаги.

Число а.т.о.к. при сингенном сочетании пары: донор «иммунных» макрофагов — реципиент (СВА — СВА) в эксп. № 1 равно 256±11,6.

Таблица 2

Количество а.т.о.к. у мышей линии DBA/2 при индукции иммунного ответа с помощью переработавших эритроциты барана клеток перитонеального эксудата («иммунных» макрофагов) от мышей линии СВА, обработанных экзогенной интактной РНК селезенки донорского и реципиентского происхождения

№ эксперимента	Число клеток перитонеального эксудата	Число а.т.о.к. при аллогенном сочетании пары: донор «иммунных» макрофагов — реципиент		
		контроль индукции СВА—DBA	(СВА+РНК СВА)—DBA	(СВА+РНК DBA)—DBA
1	5·10 ⁶	88+9,7	52+8,5 (0,6)	113+11,6 (1,3)
2		52+10,1	115+15,5 (2,2)	163+24,3 (3,1)
3	1·10 ⁶	116+9,8	114+25,5 (0,98)	296+51,0 (2,5)
4		16,6+2,1	14,5+1,6 (0,87)	28,2+1,8 (1,7)

ными от мышей линии DBA/2 (Н-2^д). Перед введением «иммунные» макрофаги обрабатывали препаратом интактной РНК селезенки донорского (линия DBA/2) и реципиентского (линия СВА) типов. По данным четырех представленных в таблице экспериментов видно, что предварительная инкубация макрофагов с РНК донорского или реципиентского типов вызывает количественно неодинаковое воздействие на процесс индукции антителогенеза. Количество а.т.о.к. при индукции иммунного ответа аллогенными макрофагами, проинкубированными с РНК от мышей той линии, которая послужила источником макрофагов, либо не отличается, либо увеличивается, но не более чем в 2 раза, по сравнению с контрольной группой (индукция «иммунными» макрофагами, не обработанными пре-

паратами РНК,— «контроль индукции»). При инкубации аллогенных макрофагов с РНК той линии, которую использовали в качестве реципиента, накопление а.т.о.к. выражено в большей степени по сравнению с группой, где РНК и макрофаги принадлежат одной и той же линии. Количество а.т.о.к. в этой экспериментальной группе достигает значений, близких к тем, которые имеются при полной сингенности между донором макрофагов и реципиентом (табл. 1).

Аналогичные результаты получены в редипрокной паре: «иммунные» макрофаги линии СВА — реципиент линия DBA/2 (табл. 2). Из четырех экспериментов данной серии опытов только в одном случае можно видеть, стимулирующее влияние РНК донорского типа на процесс индукции (эксп. 2). Во всех остальных случаях коэффициент индукции был ниже единицы. В то же время РНК реципиентского типа оказывает явно выраженное стимулирующее влияние (коэффициент равен 1,3—3,1). Боль-

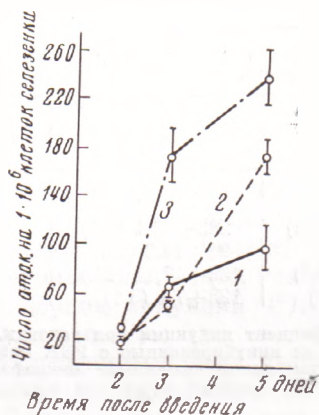


Рис. 1. Динамика накопления а.т.о.к. у мышей линии СВА после введения переработавших антиген клеток п.э. от мышей линии DBA/2 (по схеме DBA/2→СВА). 1 — не обработанные РНК клетки п.э.; 2 — обработанные РНК донора клеток п.э. (DBA/2+РНК DBA/2); 3 — обработанные РНК реципиента (DBA/2+РНК СВА)

шая индуцирующая возможность аллогенных макрофагов, обработанных РНК реципиентского типа, наблюдается и при изучении динамики накопления а.т.о.к. у мышей линии СВА (рис. 1).

В объяснение полученных данных можно высказать два предположения. Первое исходит из того факта, что в результате захвата и переработки антигена макрофагами выделяется гуморальный неспецифический фактор, способствующий процессу индукции (¹). В таком случае предварительная обработка «иммунных» макрофагов препаратами РНК усиливает индукционные возможности макрофагов посредством стимуляции образования этого неспецифического фактора (или факторов), где РНК может выступать в качестве прямой матрицы для синтеза белковых стимулирующих веществ, причем более эффективное действие РНК реципиентского типа кажется очевидным, так как РНК реципиента, привнесенная с аллогенными макрофагами, оказывается в условиях генетически тождественного организма.

Второе предположение базируется на том, что индукция иммунного ответа осуществляется в результате прямого контакта переработавшего антиген макрофага с клеткой — предшественницей антителопродуцентов. Исходя из этих представлений, РНК после инкубации с макрофагами может обуславливать, во-первых, большее количество иммуногенных эритроцитарных детерминант, связанных с плазматической мембраной макрофагов, через активацию соответствующих ферментативных систем (серия опытов с РНК донорского типа), во-вторых, образование на поверхности аллогенных макрофагов дополнительных рецепторов, свойственных генотипу реципиента (например, антигенных факторов Н-2 специфичности), что приводит к большей эффективности межклеточных контактов и опосредованно через этот механизм — к большей эффективности индукции.

Не исключена возможность одновременного участия как гуморального неспецифического стимулятора, так и усиленного контактного взаимодействия.

Институт медицинской генетики
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
21 XI 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Г. Галактионов, Т. В. Анфалова, ДАН, т. 212, № 3 (1973). ² В. Г. Галактионов, Т. В. Анфалова, Журн. общ. биол., № 2 (1974). ³ К. Шеппер, В кн. Методы вирусологии и молекулярной биологии, 1972, М., стр. 337. ⁴ H. Cosenza, L. D. Lesermann, J. Immunol., v. 108, 418 (1972). ⁵ B. Argyris, J. Immunol., v. 99, 744 (1967). ⁶ N. Jerne, A. Nordin, Science, v. 140, 405 (1963). ⁷ M. Hoffmann, N. Dutton, Science, v. 172, 987 (1971).