

В. Г. ГАЛАКТИОНОВ, О. И. МОРГУНОВ, Н. И. СМЕРНОВА

**ВЛИЯНИЕ НОРМАЛЬНОЙ РНК СЕЛЕЗЕНКИ
НА КОЛОНИЕОБРАЗОВАНИЕ В УСЛОВИЯХ АЛЛОГЕННОЙ
ИНГИБИЦИИ**

(Представлено академиком В. Д. Тимаковым 24 VI 1974)

Известно подавление роста и размножения клеток и тканей мышей гомозиготных линий, трансплантированных в гибрид первого поколения. Эффект подавления не связан с иммунным отторжением со стороны реципиента, так как антигены родителей полностью представлены в F_1 гибриде. Открытое явление получило название «аллогенной ингибиции» или «сингенного предпочтения» (^{1, 2}). Частным случаем проявления феномена «аллогенной ингибиции» является снижение количества колониеобразующих единиц (очагов миелоидного кроветворения) в селезенке облученных F_1 реципиентов, получавших клетки костного мозга гомозиготных родителей (³⁻⁵). Подавление колониеобразования может быть отменено использованием клеток селезенки от облученных доноров (⁴), созданием «микросреды» сингенными клетками эмбриональной печени (⁶), введением сингенных лимфоцитов за 24 час. до трансплантации клеток костного мозга (⁷).

Нами была проверена возможность восстановления колониеобразования в F_1 реципиенте при условии трансплантации клеток костного мозга родителей, обработанных РНК, которую получали из селезенки мышей родительских линий или гибридов.

Работа проведена на мышах инбредных линий СВА, С57BL/6, DBA/2 и их гибридах (СВА×DBA) F_1 и (СВА×С57BL) F_1 . Определение количества колониеобразующих единиц в селезенке F_1 проводили по методу Тилла и Мак Кулока (⁸). Во всех случаях реципиентами были облученные мыши F_1 . Донорами клеток костного мозга служили как мыши исходных родительских линий, так и их гибриды. Животных облучали на установке «Стебель 3А» (мощность облучателя 900 р/мин). Мышей (СВА×С57BL) F_1 облучали 900 р. При этой дозе число эндогенных колоний в селезенке гибрида не превышало 0,1–0,2. Мышей (СВА×DBA) F_1 облучали 1050 р. Число эндогенных колоний в этом случае равнялось 0,5–1,3. Через 4–12 час. после облучения мышам вводили внутривенно $0,5 \cdot 10^5$ клеток костного мозга, выделенных из бедренных костей мышей родительских линий или их гибридов. Проведено два варианта опытов. В первом варианте мышам F_1 трансплантировали интактные клетки костного мозга, во втором — клетки костного мозга, проинкубированные с РНК. РНК выделяли из селезенки методом Шеррара (⁹). Инкубацию клеток костного мозга с препаратом РНК проводили в течение 30 мин. при 37°. Проведено 6 опытов с гибридами (СВА×DBA) F_1 и 3 опыта с гибридами (СВА×С57BL) F_1 . Подсчет колоний проводили на 8-е сутки после введения клеток.

В табл. 1 представлены данные по числу колониеобразующих единиц в селезенке (СВА×DBA) F_1 мышей, которым вводили либо интактные клетки костного мозга (I вариант), либо обработанные РНК (II вариант). Видно, что количество колониеобразующих единиц снижено, если F_1 реципиентам трансплантировали клетки костного мозга от СВА родителей. Колониеобразование не подавлялось, когда использовали клетки костного

Таблица 1

Число колониеобразующих единиц в селезенке (СВА×DВА) F₁ при трансплантации клеток костного мозга, обработанных РНК из селезенки интактных мышей родительских и гибридных линий

№ опыта	I вариант			II вариант *			Контроль: облучение (СВА×DВА) F ₁
	СВА → F ₁	DВА → F ₁	F ₁ → F ₁	СВАСВА → F ₁	СВА ^D ВВА → F ₁	СВА ^F 1 → F ₁	
1	7,9	34,0	28,7	—	—	—	4,3
2	8,1	26,2	21,0	7,2	31,4	33,0	0,7
3	9,9	24,0	21,3	15,0	35,0	32,9	0,5
4	9,0	20,5	24,0	16,0	33,5	35,0	0,8
5	9,3	22,4	18,6	12,9	24,2	28,0	0,6
6 **	11,2	26,9	27,0	12,3 12,7 **	29,2	29,8	0,9
Ср.	9,2±0,53	25,7±2,17	23,4±1,6	12,7±1,7	30,6±2,07	31,7±0,96	0,8±0,17

* Индекс обозначает линию, из селезенки которой выделена РНК для инкубации с клетками костного мозга.

** В данном опыте проанализирована группа мышей, в которой клетки костного мозга СВА инкубировали с РНК селезенки, выделенной от мышей линии СС57В.

Таблица 2

Число колониеобразующих единиц в селезенке (СВА×С57ВL) F₁ при трансплантации клеток костного мозга, обработанных РНК из селезенки интактных мышей родительских и гибридных линий

№ опыта	I вариант			II вариант *			Контроль: облучение (СВА×С57ВL) F ₁
	СВА → F ₁	С57ВL → F ₁	F ₁ → F ₁	С57ВLС57ВL → F ₁	С57ВLСВА → F ₁	С57ВL ^F 1 → F ₁	
1	5,3	17,1	18,2	12,3	16,6	20,7	0,2
2	6,3	—	—	7,6	14,3	16,8	0,1
3	4,3	—	—	5,7	14,0	14,2	0,1
Ср.	5,3±0,6	17,1	18,2	8,5±0,67	15,0±0,26	17,2±0,63	0,13±0,01

* Условие то же, что и в табл. 1.

мозга DВА/2 мышей. Результаты первого варианта опытов послужили основой для анализа влияния РНК на колониеобразующую способность подвергающихся аллогенной ингибиции клеток костного мозга мышей линии СВА.

Предварительная инкубация клеток костного мозга мышей этой линии с сингенной РНК (РНК из селезенки мышей линии СВА) не приводила к восстановлению колониеобразования. При инкубации клеток костного мозга мышей той же самой линии с РНК из селезенки DВА/2 (линии, не подвергающейся аллогенной ингибиции) происходило восстановление количества колониеобразующих единиц. Аналогичный эффект наблюдался в случае, когда клетки костного мозга СВА мышей инкубировали с РНК из селезенки F₁. РНК из селезенки СС57W мышей не восстанавливала колониеобразования.

В табл. 2 представлены результаты опытов, проведенных с (СВА×С57ВL) F₁ гибридами. В данной аранжировке опытов ингибирующий эффект отмечается для клеток костного мозга мышей линии С57ВL, что соответствует результатам исследований, проведенных другими авторами

(10). Так же как и в предыдущей серии опытов, инкубация клеток костного мозга С57ВL мышей с «сингенной» РНК приводит лишь к очень незначительному увеличению количества колониеобразующих единиц в селезенке F₁ реципиента. В то же время инкубация клеток костного мозга мышей линии С57ВL с РНК от мышей СВА, неподвергающихся аллогенной ингибиции, и от (СВА×С57ВL)F₁ обуславливает восстановление колониеобразования в F₁ реципиенте.

Как показывают результаты проведенных опытов, имеется прямая связь между характером колониеобразования в F₁ гибриде и восстанавливающим эффектом РНК. Если клетки костного мозга подвергаются аллогенной ингибиции в F₁ реципиенте, то РНК из селезенки такой линии не может обусловить восстановление. Напротив, РНК от не ингибируемой линии мышей или F₁ восстанавливает способность к колониеобразованию.

Дать какое-либо бесспорное объяснение наблюдаемым явлениям трудно. Высказывается мнение, что строма селезенки является селекционирующим «ситом» для лимфоидных и кровяных мигрирующих клеток. Очевидно, селекция осуществляется за счет структурного соответствия поверхности мигрирующих клеток и клеток стромы. Не исключено, что РНК от мышей тех линий, которые не подвергаются ингибиции, и от F₁ гибридов так модифицирует плазматическую мембрану клеток костного мозга, что создает условия для лучшей задержки на строме селезенки стволовых элементов ингибируемой линии.

Институт молекулярной генетики
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
24 VI 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Р. В. Петров, В. М. Манько, В кн. Общие вопросы патологии, т. 3, 1972, стр. 9.
² К. Е. Hellström, J. Hellström, G. Haughton, Nature, v. 204, 661 (1964). ³ E. A. McCulloch, J. E. J. Till, Cell. and Comp. Physiol., v. 61, 301 (1963). ⁴ R. V. Petrov, V. A. Koslov, L. S. Sestlavina, Studia biophysica, v. 10, 143 (1968). ⁵ R. V. Petrov, V. A. Koslov, L. S. Sestlavina, Cell. and Tissue Kinetica, v. 1, 369 (1968). ⁶ A. Lengerova, V. Zeleny, Folia Biology, v. 15, 340 (1969). И. Н. Головистиков, Ю. В. Зыков, С. С. Гамбаров, Бюлл. эксп. биол. и мед., т. 5, 109 (1974). ⁸ J. E. J. Till, E. A. McCulloch, Radiation Res., v. 14, 213 (1961). ⁹ К. Шеррер, В кн. Методы вирусологии и молекулярной биологии, 1972, стр. 337. ¹⁰ В. М. Манько, А. А. Михайлова, Л. С. Сестлавина, В кн. Общие вопросы патологии, т. 3, 1972, стр. 154.