

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

СИНТЕЗ АНТИТЕЛ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ γ -ГЛОБУЛИНОВ В СМЕШАННЫХ КУЛЬТУРАХ СИНГЕННЫХ И АЛОГЕННЫХ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 9 VI 1971)

Известно, что в индукции иммунного ответа принимают совместное участие несколько типов лимфоидных клеток (¹⁻⁴). Нами показано, что межклеточные взаимодействия, интенсифицирующие синтез иммуноглобулинов, могут происходить и на уровне зрелых антителопродуцентов, которые взаимодействуют с другими клеточными формами, входящими в состав селезеночной популяции неиммунизированных животных (^{5, 6}).

С целью дальнейшего изучения этого вопроса мы исследовали, как меняется интенсивность синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов при совместном культивировании клеток лимфатических узлов, полученных от иммунных животных, с сингенными и аллогенными клетками костного мозга и селезенки, полученных от интактных животных.

Опыты проводили на инбредных мышах СВА, С57BL и А, самцах и самках, весом 18—22 г, полученных из питомника лабораторных животных АМН СССР «Столбовая».

Животных иммунизировали γ -глобулином лошади по схеме: подкожное введение белка в полном адьюванте Фрейнда в дозе 5 мг на 1 мышь с последующей реиммунизацией через 1—1,5 месяца внутривенным введением этого белка в физиологическом растворе в дозе 3 мг на 1 мышь. Для приготовления культуры клеток лимфатических узлов иммунных животных ткань извлекали на 4 сутки после повторного введения антигена. Мышей забивали декапитацией, брыжеечные, подмышечные и паховые лимфоузлы извлекали стерильно, измельчали с помощью ножниц и пропускали через иглы с последовательно уменьшающимися диаметрами. Для приготовления суспензии клеток костного мозга кости голени и бедра задних конечностей интактных мышей освобождали от мышц и вымывали из них костный мозг охлажденным физиологическим раствором с помощью шприца.

Суспензии клеток почек и селезенки готовили путем продавливания измельченной ткани сквозь решетку из нержавеющей стали с последующим пипетированием в охлажденном физиологическом растворе. Полученные клеточные суспензии просеивали сквозь двойной слой стерильной марли и отмывали 2 раза охлажденным физиологическим раствором (рН 7).

Клетки культивировали в течение 22 час. при 37° в среде. Игла с добавлением сыворотки крупного рогатого скота, антибиотиков и С¹⁴-глицина (1 μ С/мл). Общий объем культивируемой взвеси во флаконе составлял 3 мл, концентрация клеток равнялась 3—4 · 10⁷ клеток/мл. В случае смешанных культур во флаконы наливали по 1,5 мл суспензии каждой из двух исследуемых клеточных взвесей.

По окончании инкубации определяли количество меченых антител и неспецифических γ -глобулинов в культуральной жидкости после разрушения клеток тритоном Х-100 и осаждения клеточных остатков

центрифугированием (20 мин., 12000 об/мин). Антитела и неспецифические γ -глобулины извлекали с помощью иммуносорбентов, избирательно присоединяющих эти белки (7). О количестве синтезированных антител и неспецифических γ -глобулинов судили по приросту радиоактивности на соответствующем иммуносорбенте.

Эффект взаимодействия клеток выражали в виде отношения интенсивности синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов в смешанных культурах к величине ожидаемого синтеза этих белков, рассчитанной по соответствующим несмешанным контролям.

Таблица 1

Стимуляция синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов в смешанных культурах сингенных клеток мышей линии А, полученных от иммунных (имм) и интактных (инт) доноров

Исследуемые смеси клеток (имм. + инт.)	Число опытов	Коэффициент стимуляции	
		антитела	неспецифические γ -глобулины
Лимфатического узла + лимфатического узла	2	$1,08 \pm 0,08$	$1,26 \pm 0,13$
Селезенки + селезенки	4	$1,53 \pm 0,16$	$1,77 \pm 0,20$
Лимфатического узла + селезенки	6	$3,91 \pm 0,81$	$1,65 \pm 0,18$
Лимфатического узла + костного мозга	6	$3,89 \pm 0,84$	$2,16 \pm 0,29$
Лимфатического узла + почки	2	$0,97 \pm 0,18$	$1,22 \pm 0,03$

В первой серии опытов изучали вопрос, как изменяется синтез антител и неспецифических γ -глобулинов при совместном культивировании клеток лимфатических узлов и селезенки, полученных от иммунных мышей линии А, с клетками лимфатических узлов, селезенки, костного мозга и почки, взятых от неиммунных мышей той же линии (табл. 1).

Оказалось, что эффект стимуляции синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов четко проявляется в смешанных культурах клеток иммунных лимфатических узлов с клетками неиммунной селезенки или костного мозга. В случае совместного культивирования клеток иммунных и неиммунных лимфатических узлов, а также клеток иммунных лимфоузлов с клетками неиммунной почки интенсивность синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов остается такой же, как и при раздельном культивировании этих клеток.

Таким образом, для проявления эффекта стимуляции синтеза иммуноглобулинов необходимо взаимодействие иммунных лимфоцитов с клетками, присутствующими в селезенке и костном мозге и отсутствующими в лимфатических узлах. Кроме того можно предполагать, что в процессе этого взаимодействия происходит подключение к синтезу иммуноглобулинов клеток интактной популяции, поскольку при совместном культивировании иммунных лимфоцитов с клетками интактной почки, неспособными к синтезу γ -глобулинов, эффект стимуляции отсутствовал.

Возникает вопрос, могут ли описанные клеточные взаимодействия происходить между генетически чужеродными клетками, или этот эффект имеет место только в смешанных культурах клеток одного и того же генотипа.

Для выяснения этого были проведены опыты по сравнительному изучению интенсивности синтеза иммуноглобулинов в сингенных и аллоген-

ных смесях клеток иммунных лимфоузлов с клетками интактного костного мозга (табл. 2).

Из табл. 2 видно, что стимуляция синтеза антител и неспецифических γ -глобулинов наблюдается не только при совместном культивировании иммунных и неиммунных гистологически различных лимфоидных клеток одного и того же генотипа, но характерна также для смесей клеток, полученных от мышей разных линий.

Таблица 2

Стимуляция синтеза иммуноглобулинов в смешанных культурах клеток иммунных лимфатических узлов с сингенными и аллогенными клетками интактного костного мозга

Компоненты смеси		Число опытов	Коэффициент стимуляции	
иммунные лимфоузлы	интактный костный мозг		антитела	неспецифические γ -глобулины
A	A	3	2,95 *	1,90
	C57BL	2	2,85	1,75
	CBA	1	2,40	1,00
	C57BL	4	1,98	2,04
C57BL	A	3	1,7	1,97
	CBA	2	2,35	1,58
	CBA	2	3,4	3,32
CBA	C57BL	3	2,56	1,63
	A	2	1,9	1,48

* Приведенная величина отличается от результата табл. 1, поскольку она вычислена как средняя не из шести, а только из трех опытов, в которых проводили сравнение стимуляции в сингенных и аллогенных смесях.

Следует подчеркнуть, что иммунные клетки лимфатических узлов брались от животных на 4 сутки после реиммунизации. В это время наблюдается максимальная интенсивность синтеза иммуноглобулинов в мышечных лимфоидных клетках (8). Таким образом, в нашем эксперименте имело место взаимодействие зрелых иммунопродукторов с какими-то клеточными формами, присутствующими в популяции клеток интактного костного мозга и селезенки.

По-видимому, на высоте иммунного ответа аллогенный барьер не оказывает значительного влияния на клеточные взаимодействия, в результате которых стимулируется синтез иммуноглобулинов. Этот факт особенно интересен, поскольку известно, что на начальных этапах иммуногенеза, т. е. на уровне клеток предшественников, для кооперативных процессов необходимы сингенные взаимодействующие элементы (1-4).

Институт биофизики
Министерства здравоохранения СССР
Москва

Поступило
21 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. F. A. P. Miller, G. F. Mitchell, J. Exp. Med., 128, 4, 801 (1968). ² G. F. Mitchell, J. F. A. P. Miller, J. Exp. Med., 128, 4, 821 (1968). ³ G. J. V. Nossal, A. Cunningham et al., J. Exp. Med., 128, 4, 839 (1968). ⁴ Р. В. Петров, Усп. совр. биол., 69, 2, 261 (1970). ⁵ R. V. Petrov, A. A. Michailova, J. Immunol., 103, 4, 679 (1969). ⁶ A. A. Michailova, R. V. Petrov, L. A. Zakharova, J. Immunol., 106, 4, 1086 (1971). ⁷ А. Е. Гурвич, Г. И. Дризлих, Е. В. Сидорова, В кн.: Иммунохимический анализ, М., 1965, стр. 234. ⁸ А. А. Михайлова, А. Е. Гурвич, Р. В. Петров, Вопр. мед. хим., 15, 2, 128 (1969).