

УДК 576.809.7

ИММУНОЛОГИЯ

Р. В. ПЕТРОВ, А. А. МИХАЙЛОВА

СИНТЕЗ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СМЕШАННЫХ КУЛЬТУРАХ  
КЛЕТОК ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ И КОСТНОГО МОЗГА,  
ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ИММУННЫХ ДОНОРОВ

(Представлено академиком Д. К. Беляевым 17 XII 1973)

В наших предыдущих работах было показано, что при совместном культивировании клеток лимфатических узлов, полученных от иммунных мышей на пике продуктивной фазы антителогенеза, и клеток костного мозга или селезенки интактных доноров происходит 2–3-кратная интенсификация синтеза антител и неспецифических иммуноглобулинов. Эффект усиления синтеза иммуноглобулинов отсутствует, если к клеткам иммунных лимфатических узлов добавляются клетки лимфатических узлов интактных доноров или клетки нелимфоидной природы. Анализ эффекта позволил предположить, что мы имеем дело с новым явлением взаимодействия клеток на уровне зрелых антителопродуцентов (1–3). Возникает вопрос, как изменится эффект интенсификации иммуноглобулинового синтеза, если к клеткам иммунных лимфатических узлов вместо интактного костного мозга добавить костный мозг, полученный от иммунных доноров.

В настоящей работе изучали интенсивность синтеза антител и неспецифических иммуноглобулинов в смешанных культурах клеток лимфатических узлов, полученных от иммунных мышей на пике продуктивной фазы антителогенеза, и клеток костного мозга, полученных от иммунных животных на разные сроки после их иммунизации. Исследовался также вопрос, как меняется интенсивность синтеза иммуноглобулинов в смешанной культуре, если доноры клеток лимфатических узлов и костного мозга были иммунизированы разными антигенами.

В работе использовали инбредных мышей линии C57Bl, а также гибридов F<sub>1</sub> (СВА×С57Bl), самцов и самок весом 18–22 г. Животных иммунизировали  $\gamma$ -глобулином лошади или сывороточным альбумином человека по схеме: подкожное введение белка в полном адьюванте Фрейнда в дозе 5 мг на мышь с последующей реиммунизацией через 1–2 мес. внутривенным введением того же белка в физиологическом растворе в дозе 3 мг на мышь.

Для приготовления суспензии клеток иммунных лимфатических узлов мышей забивали декапитацией на 4-е сутки после реиммунизации, извлекали стерильно подмышечные, брызжевые и паховые лимфатические узлы, измельчали их с помощью ножниц и пропускали через иглы с последовательно уменьшающимися диаметрами. Клетки костного мозга вымывали с помощью шприца из бедренных костей интактных мышей или мышей, иммунизированных за 1,5–2 мес., а также иммунных мышей на 2-е, 4-е и 7-е сутки после реиммунизации. Полученные клеточные суспензии просеивали сквозь двойной слой стерильной марли, дважды промывали охлажденным физиологическим раствором, разводили клетки до концентрации 3–4·10<sup>7</sup> клеток в 1 мл и инкубировали при 37° в среде Игла с добавлением сыворотки крупного рогатого скота, антибиотиков и С<sup>14</sup>-глицина (1мкС/мл). Для получения смешанных культур во флаконы наливали по 1,5 мл суспензии каждой из двух исследуемых клеточных

звесей. В контрольных флаconах культивировали по 3 мл исходных суспензий.

После инкубации клеток в течение 22 час. определяли количество синтезированных антител и неспецифических иммуноглобулинов по приросту радиоактивности на иммуносорбентах, избирательно присоединяющихся соответствующие белки (<sup>4</sup>). Эффект интенсификации синтеза антител и неспецифических иммуноглобулинов выражали в виде отношения интенсивности синтеза этих белков в смешанной культуре к величине ожидаемого синтеза, рассчитанной по соответствующим несмешанным контролем.

В первой серии опытов изучали интенсивность синтеза антител и неспецифических иммуноглобулинов в смешанных культурах клеток иммунных лимфатических узлов с клетками костного мозга, взятых от интактных доноров, а также с клетками костного мозга иммунных доноров на 4-й день после повторного введения антигена ( $\gamma$ -глобулина лошади, ГГЛ). Кроме того, для выяснения специфичности эффекта был использован костный мозг мышей, иммунизированных другим антигеном (сывороточным альбумином человека, САЧ). Эти клетки также брали на 4-й день после реиммунизации животных.

Оказалось, что если к клеткам иммунных лимфатических узлов, синтезирующими антитела против ГГЛ, вместо интактного костного мозга добавлять костный мозг доноров, иммунизированных тем же антигеном (ГГЛ), эффект стимуляции синтеза иммуноглобулинов резко снижается. Если же костный мозг был получен от доноров, иммунизированных другим антигеном (САЧ), то синтез иммуноглобулинов стимулируется так же, как и в случае использования интактного костного мозга (табл. 1).

Следует отметить, что в отдельных экспериментах мы наблюдали стимуляцию синтеза иммуноглобулинов при совместном культивировании клеток лимфатических узлов и костного мозга, полученных от иммунизированных одним и тем же антигеном доноров, однако величина этого эффекта была всегда значительно ниже, чем в случае использования костного мозга интактных животных.

Таблица 1

Эффект стимуляции синтеза иммуноглобулинов в смешанных культурах клеток иммунных лимфоузлов и клеток костного мозга интактных и иммунных доноров

Смеси клеток	Число опытов	Коэффициент стимуляции	
		антитела	неспецифические иммуноглобулины
Лимфатические узлы, иммунизированные ГГЛ	+ костный мозг интактный	10	$2,45 \pm 0,17$
То же	+ костный мозг, иммунизированный ГГЛ	10	$1,27 \pm 0,11$
» »	+ костный мозг, иммунизированный САЧ	10	$2,42 \pm 0,19$
			$1,41 \pm 0,12$
			$1,25 \pm 0,08$
			$1,59 \pm 0,12$

Представлялось интересным выяснить, на какой срок после повторного введения антигена клетки костного мозга становятся неспособными к проявлению эффекта интенсификации иммуноглобулинового синтеза в миксткультуре и когда эта способность восстанавливается. С этой целью к клеткам иммунных лимфатических узлов добавляли костный мозг, полученный от мышей на 2-е, 4-е и 7-е сутки после реиммунизации, а также костный мозг, полученный через 1,5–2 мес. после первичной иммунизации животных. Результаты этих опытов показали, что стимуляция синтеза имму-

Таблица 2

Эффект стимуляции синтеза иммуноглобулинов в смешанных культурах клеток иммунных лимфоузлов и клеток костного мозга интактных и иммунных доноров на разные сроки после иммунизации

Смеси клеток	Число опытов	Коэффициент стимуляции	
		антитела	неспецифические иммуноглобулины
Лимфатические узлы, иммунизированные	+	костный мозг, интактный	4 $2,0 \pm 0,11$ $1,56 \pm 0,05$
То же	+	костный мозг, 2 мес. после первичной иммунизации	4 $2,47 \pm 0,55$ $1,52 \pm 0,13$
» »	+	костный мозг, 2-й день после реиммунизации	4 $0,82 \pm 0,11$ $1,24 \pm 0,09$
» »	+	костный мозг, 4-й день после реиммунизации	4 $1,12 \pm 0,07$ $1,24 \pm 0,2$
» »	+	костный мозг, 7-й день после реиммунизации	4 $1,89 \pm 0,15$ $1,5 \pm 0,13$

ноглобулинов незначительна или вовсе отсутствует при использовании костного мозга в ранние сроки после реиммунизации (на 2-е и 4-е сутки), к 7-м же суткам способность костного мозга участвовать в проявлении эффекта стимуляции практически восстанавливается. Если же костный мозг брали через 2 мес. после первичной иммунизации доноров, то синтез антител и неспецифических иммуноглобулинов интенсифицировался так же, как и в случае использования интактного костного мозга (табл. 2).

Полученные результаты позволяют предполагать, что за эффект стимуляции синтеза иммуноглобулинов в смешанной культуре ответствен какой-то определенный тип клеток, мигрирующий из костного мозга или утрачивающий свою функциональную активность в ранние сроки после реиммунизации животных специфическим антигеном. Известна (<sup>5, 6</sup>) миграция клеток, специфически реагирующих на антиген, из лимфы грудного протока в периферические лимфоидные органы через 3—24 часа после введения животным специфического антигена, а также отмечена (<sup>7</sup>) потеря способности клеток костного мозга восстанавливать иммунный ответ к эритроцитам барабана у облученных реципиентов в случае, если костный мозг брали через 18—24 часа после реиммунизации доноров специфическим антигеном.

Нельзя исключить также возможность наличия в суспензии клеток костного мозга иммунных доноров свободного антигена в первые сроки после реиммунизации, что может снижать уровень антител, синтезированных клетками в культуре.

Институт биофизики  
Министерства здравоохранения СССР  
Москва

Поступило  
3 XI 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> A. A. Михайлова, Р. В. Петров, Л. А. Захарова, ДАН, т. 197, № 1, 209 (1971).
- <sup>2</sup> A. A. Михайлова, Л. А. Захарова, Р. В. Петров, ДАН, т. 203, № 4, 948 (1972). <sup>3</sup> R. V. Petrov, A. A. Mikhajlova, Cellular Immunology, v. 5, 3, 392 (1972). <sup>4</sup> A. E. Гуревич, Г. И. Дризалих, Е. В. Сидорова, В кн.: Иммунохимический анализ, М., 1968, стр. 234.
- <sup>5</sup> W. L. Ford, Clin. and Exp. Immunol., v. 12, 2, 243 (1972). <sup>6</sup> D. A. Rowley, J. L. Gowans et al., J. Exp. Med., v. 136, 3, 499 (1972). <sup>7</sup> N. I. Abdou, M. Richter, J. L. Exp. Med., v. 129, 4, 757 (1969).