

Р. В. ПЕТРОВ, И. К. ЕГОРОВ, Л. С. СЕСЛАВИНА,
Э. И. ПАНТЕЛЕЕВ, О. С. ЕГОРОВА

**ИНАКТИВАЦИЯ АЛЛОГЕННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
ЛИМФОЦИТАМИ, ТОЖДЕСТВЕННЫМИ ПО H-2-СИСТЕМЕ
ТКАНЕВОЙ СОВМЕСТИМОСТИ**

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 1 VIII 1974)

Феномен инактивации несингенных стволовых клеток был впервые описан в 1967 году (1). Суть его состоит в том, что пролиферация стволовых клеток (колониобразующих единиц, к.о.е.) угнетается в организме летально облученного реципиента, если клетки костного мозга вводятся облученному реципиенту в смеси с аллогенными лимфоцитами. При этом лимфоциты являются клетками-киллерами, а к.о.е. — мишенями. Во всех предшествующих наших публикациях по этому вопросу (2-4) использованы интактные доноры лимфоцитов и костного мозга от мышей, различающихся по H-2-системе гистосовместимости.

Возник вопрос, осуществляется ли феномен инактивации, если клетки-киллеры и клетки-мишени происходят от мышей разных линий, т. е. являются аллогенными по отношению друг к другу, но гаплотипы главной системы гистосовместимости H-2 у них одинаковые. С целью решения этой проблемы проведены соответствующие эксперименты с использованием в качестве доноров лимфоцитов и к.о.е. линий мышей, имеющих тождественные гаплотипы H-2: H-2^k или H-2^d.

В экспериментах использовали мышей обоего пола весом 22-25 г. Донорами клеток костного мозга и лимфатических узлов (подмышечных, паховых, подчелюстных и брыжеечных) служили мыши линий: BALB/c (H-2^d), DBA/2 (H-2^d), CBA (H-2^k), AKR (H-2^k), C3H (H-2^k) и B10·BR (H-2^k). Реципиентами служили мыши-гибриды (CBA×C57BL/6J)F₁ (H-2^k/H-2^b). Реципиентов облучали в летальной дозе (850 р γ-лучами ⁶⁰Co) на аппарате ЭГО-2. Через 4-6 час. после облучения мышам-реципиентам внутривенно вводили суспензию клеток костного мозга или смесь лимфоцитов с клетками костного мозга в различных сочетаниях линий доноров клеток при соотношениях лимфоциты-костномозговые клетки 1:1, 5:1, 10:1 и 20:1. Количества вводимых клеток приведены в табл. 1. На 8-е сутки после трансплантации клеток реципиентов убивали, извлекали у них селезенки, фиксировали их в жидкости Буэна и подсчитывали визуально образовавшиеся колонии (5, 6). Методы приготовления клеточных суспензий, оценка жизнеспособности трансплантируемых клеток и выведение индекса инактивации (и.и.) изложены ранее (1, 7).

Экспериментальные данные, приведенные в табл. 1, показывают, что при совместном введении лимфоцитов и клеток костного мозга от мышей-доноров с одинаковыми гаплотипами H-2 (H-2^k и H-2^d) во всех испытанных сочетаниях линий наблюдается инактивация трансплантированных к.о.е. Однако степень выраженности эффекта инактивации различная. Так, в сочетании CBA+B10·BR, AKR+C3H и AKR+CBA сильный эффект инактивации (и.и. равны 36,5, 61,7 и 51,7% соответственно) обеспечивается лимфоцитами в дозе 1·10⁵ или 2·10⁵, т. е. при соотношении взаимодействующих клеток (лимфоциты: костный мозг) 1:1. В данном случае

и в последующем на первом месте указываются доноры лимфоцитов, а на втором — костного мозга.

Менее выраженная инактивация зарегистрирована в сочетании доноров: СВА+СЗН, СЗН+СВА, В10·ВR+СВА, АКР+В10·ВR, СЗН+АКР и СВА+АКР. Эффект инактивации проявляется только при соотношении взаимодействующих клеток 5 : 1 и выше.

Самая слабая степень инактивации была отмечена при трансплантации смеси клеток лимфатических узлов мышей линии В10·ВR и клеток костного мозга мышей линии АКР. Для выявления эффекта инактивации потребовалось соотношение взаимодействующих клеток 10 : 1.

Таблица 1

Генотип доноров клеток		Число трансплантированных клеток		Соотношение взаимодействующих клеток в смеси	И. и., %
лимфатические узлы	костный мозг	лимфатические узлы	костный мозг		

Гаплотип Н-2^к

СВА	СЗН	1·10 ⁶	2·10 ⁵	5:1	37,6
СВА	СЗН	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	43,3
СЗН	СВА	1·10 ⁶	2·10 ⁵	5:1	35,1
СЗН	СВА	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	66,6
СВА	В10·ВR	1·10 ⁵	1·10 ⁵	1:1	36,5
СВА	В10·ВR	2·10 ⁶	1·10 ⁵	20:1	60,5
В10·ВR	СВА	5·10 ⁵	1·10 ⁵	5:1	24,5
В10·ВR	СВА	2·10 ⁶	1·10 ⁵	20:1	75,0
АКР	В10·ВR	5·10 ⁵	1·10 ⁵	5:1	65,4
АКР	В10·ВR	2·10 ⁶	1·10 ⁵	20:1	85,4
В10·ВR	АКР	1·10 ⁶	1·10 ⁵	10:1	24,1
В10·ВR	АКР	2·10 ⁶	1·10 ⁵	20:1	52,2
АКР	СЗН	2·10 ⁵	2·10 ⁵	1:1	61,7
АКР	СЗН	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	79,7
СЗН	АКР	1·10 ⁶	2·10 ⁵	5:1	40,0
СЗН	АКР	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	69,5
СВА	АКР	1·10 ⁶	2·10 ⁵	5:1	28,2
СВА	АКР	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	59,5
АКР	СВА	2·10 ⁵	2·10 ⁵	1:1	51,7
АКР	СВА	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	71,4

Гаплотип Н-2^д

ВАЛB/c	DBA/2	2·10 ⁵	2·10 ⁵	1:1	21,7
ВАЛB/c	DBA/2	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	59,0
DBA/2	ВАЛB/c	2·10 ⁵	2·10 ⁵	1:1	36,3
DBA/2	ВАЛB/c	4·10 ⁶	2·10 ⁵	20:1	36,9

Как видно из приведенных данных, феномен инактивации несингенных стволовых клеток осуществляется не только в том случае, когда клетки-киллеры и клетки-мишени характеризуются разными гаплотипами Н-2 (1-^к, 7), но и в двух исследованных сочетаниях, где эти гаплотипы были одинаковы: Н-2^к или Н-2^д. При анализе результатов, изложенных в табл. 1, в двух случаях отмечена очень высокая (1-я) степень инактивации: в случае АКР+СЗН и АКР+СВА.

Однако даже 20-кратное увеличение дозы лимфоцитов в смеси не приводило к существенному увеличению индекса инактивации: он возрастал до 70—80%, но никогда не достигал 100%, что было характерно для случаев, когда лимфоциты и к.о.е. принадлежали мышам разных Н-2-гаплотипов (7). В большинстве смесей, где взаимодействующие клетки принадлежали к гаплотипу Н-2^к, инактивация наблюдалась только при 5-кратном преобладании лимфоцитов в смеси. В случае гаплотипа Н-2^д слабая инактивация к.о.е. наблюдалась в соотношении лимфоциты — к.о.е. в смеси 1 : 1. Но индекс инактивации мало возрастал даже при 20-кратном уве-

личении количества лимфоцитов-киллеров в смеси. Исходя из изложенного, очевидно, следует считать, что феномен инактивации несингенных стволовых клеток проявляется при взаимодействии лимфоцитов с к.о.е., тождественных в отношении H-2-системы гистосовместимости. По всей вероятности, существуют факторы, помимо различий по H-2-системе, обеспечивающие инактивацию лимфоцитами несингенных пролиферирующих клеток. Если учесть определяющее влияние клеточной иммунной системы в поддержании генетического постоянства организма и иммунной элиминации мутантных клеток из организма (³), полученные результаты представляют особый интерес. Они свидетельствуют о том, что генетические отличия по слабым (не H-2) локусам гистосовместимости быстро и эффективно распознаются лимфоцитами. В течение нескольких дней генетически отличные размножающиеся клетки инактивируются. Это тем более важно, что, сопоставляя полученные данные с такими клеточными реакциями иммунитета, как отторжение аллогенного трансплантата, бласттрансформация в смешанной культуре лимфоцитов, цитопатогенное действие лимфоцитов, аллогенная ингибиция, можно сделать вывод, что не H-2-факторы в феномене инактивации несингенных стволовых клеток имеют главное значение. С другой стороны необходимо отметить ослабление проявления феномена при совпадении лимфоцитов и к.о.е. по системе H-2. Это позволяет считать, что H-2-факторы также влияют на проявление феномена.

Таким образом, феномен инактивации несингенных стволовых клеток лимфоцитами успешно осуществляется при совпадении взаимодействующих клеток по H-2-системе гистосовместимости; для его реализации достаточно различий по не H-2-факторам.

Не H-2-факторы в феномене инактивации стволовых клеток играют, по-видимому, более важную роль, чем в других клеточных иммунных реакциях. Вместе с тем, различия по H-2-системе приводят к усилению подавления к.о.е.

Институт биофизики
Москва

Поступило
1 VIII 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Р. В. Петров, Л. С. Сеславина, ДАН, т. 176, № 5, 1170 (1967). ² R. V. Petrov., L. S. Seslavina, E. I. Pantelejev, Nature, v. 217, № 5428, 558 (1968) ³ R. V. Petrov, R. M. Khatov, V. S. Yegorova, Folia Biol. (CSSR), v. 16, № 1, 29 (1970). ⁴ Л. С. Сеславина, Р. М. Хаитов, Радиобиология, т. 12, № 4, 535 (1972). ⁵ J. E. Till, E. A. McCulloch, Radiation Res., v. 14, № 2, 213 (1961). ⁶ J. E. Till, E. A. McCulloch, Ibid., v. 18, № 1, 96 (1963). ⁷ Р. В. Петров, В. М. Манько и др., Цитология, т. 11, № 9, 1149 (1969). ⁸ Р. В. Петров, Журн. Всесоюз. хим. общ. им. Д. И. Менделеева, т. 13, № 4, 409 (1968).