

И. Н. ГОЛОВИСТИКОВ

**СПОСОБНОСТЬ АНТИЛИМФОЦИТАРНЫХ СЫВОРОТОК ОТМЕНЯТЬ
АЛЛОГЕННУЮ ИНГИБИЦИЮ СТЕЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ
КЛЕТОК**

(Представлено академиком В. Д. Тимаковым 6 V 1975)

Механизм аллогенной ингибиции стволовых клеток исследован недостаточно: не определено значение иммунных и неиммунных факторов в проявлении этого феномена. Экспериментальные данные последних лет позволяют предполагать, что в основе аллогенной ингибиции лежит реакция радиорезистентных лимфоцитов облученных мышей-реципиентов на антигены трансплантированных аллогенных стволовых клеток (^{1, 2}). В модели родитель-гибрид F₁ источником антигенного стимула могут являться наследуемые рецессивно Hh-изоантигены стволовых кроветворных клеток родительского фенотипа (³).

В настоящей работе предпринята попытка оценить возможность участия радиорезистентных лимфоцитов реципиента в проявлении аллогенной ингибиции стволовых клеток. С этой целью исследовано действие обработки облученных мышей-реципиентов антилимфоцитарными сыворотками, обладающими выраженным иммунодепрессивным действием, на проявление аллогенной ингибиции стволовых клеток костного мозга. Основные эксперименты проведены на модели трансплантации летально облученным гибридам (CBA×C57BL/6) F₁ клеток костного мозга от мышей C57BL/6. В данной комбинации донор — реципиент степень аллогенной ингибиции составляет 90—95%, т. е. лишь 5—10% трансплантированных стволовых клеток способны к формированию колоний в селезенке гибридов F₁ (⁴).

Взрослых мышей-реципиентов облучали тотально γ -лучами ¹³⁷Ce на установке «Стебель 3А» (мощность дозы 900 р/мин) в дозе ЛД_{100/13}, которая составляла для мышей C57BL 765р, для гибридов F₁ 900р.

С целью воздействия на радиорезистентные лимфоциты опытным мышам-реципиентам через 4 часа после облучения инъецировали внутривенно антилимфоцитарную сыворотку (0,25 мл), а контрольным нормальную кроличью сыворотку. Через 24 часа после инъекции сыворотки мышам вводили внутривенно взвесь клеток костного мозга. Через 8 дней после трансплантации костного мозга в селезенке реципиентов подсчитывали количество колоний (⁵). Контролем облучения (количество эндогенных колоний) служили облученные мыши, которым не производилась трансплантация костного мозга.

Антилимфоцитарная сыворотка (АЛС), полученная от кроликов, иммунизированных мышными тимоцитами, сыворотки против Т- и В-лимфоцитов были любезно предоставлены Н. А. Краскиной. Подробная характеристика используемых антисывороток опубликована (^{6, 7}).

Цифровой материал (количество колоний) обработан статистически с вычислением средней арифметической ($\bar{M}$) и доверительного интервала (I_p) при значении $P=0,05$.

Прежде чем оценить влияние антисывороток на проявление аллогенной ингибиции, необходимо было убедиться, что при данной схеме эксперимента антисыворотки не оказывают прямого воздействия на трансплантированные стволовые клетки. С этой целью исследовали влияние обра-

оотки реципиентов АЛС на число колоний в сингенной комбинации C57BL→C57BL.

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что АЛС не стимулировала эндогенного колониеобразования и при введении облученным реципиентам за сутки до трансплантации костного мозга не оказывала непосредственного влияния на трансплантированные сингенные стволовые клетки.

Таблица 1

Количество колоний в селезенке летально облученных мышей C57BL, обработанных и не обработанных АЛС, при трансплантации $1 \cdot 10^5$ клеток костного мозга от сингенных доноров

	Костный мозг	Число мышей	Число колоний $M \pm I_r$
Без АЛС	—	12	$2,08 \pm 0,57$
С АЛС	—	5	$1,20 \pm 1,58$
Без АЛС	+	49	$12,36 \pm 1,30$
С АЛС	+	48	$13,27 \pm 1,49$

Таблица 2

Количество колоний в селезенке летально облученных гибридов (CBA × C57BL)F₁, обработанных и не обработанных АЛС, при трансплантации $0,5 \cdot 10^5$ клеток костного мозга от мышей C57BL

	Костный мозг	Число мышей	Число колоний $M \pm I_r$
Без АЛС	—	15	$0,26 \pm 0,15$
С АЛС	—	14	$0,35 \pm 0,35$
Без АЛС	+	30	$0,83 \pm 0,37$
С АЛС	+	36	$7,36 \pm 0,99$

Таблица 3

Количество колоний в селезенке летально облученных гибридов (CBA × C57BL)F₁, обработанных и не обработанных АЛС, при трансплантации $3 \cdot 10^5$ клеток костного мозга от мышей C57BL и клеток лимфатических узлов от гибридов (CBA × C57BL)F₁

	Костный мозг C57BL	Клетки лимфатических узлов F ₁	Число мышей	Число колоний $M \pm I_r$
Без АЛС	—	—	11	$0,18 \pm 0,20$
Без АЛС	+	—	20	$3,70 \pm 0,75$
С АЛС	+	—	19	$16,47 \pm 1,95$
С АЛС	+	$0,7 \cdot 10^7$	18	$5,66 \pm 0,95$
С АЛС	+	$1,5 \cdot 10^7$	15	$5,93 \pm 1,58$

Таблица 4

Количество колоний в селезенке летально облученных гибридов (CBA × C57BL)F₁, обработанных анти-В или анти-Т сывороткой, при трансплантации $3 \cdot 10^5$ клеток костного мозга от мышей C57BL.

	Костный мозг	Число мышей	Число колоний $M \pm I_r$
Несобработанные сывороткой	—	11	$0,64 \pm 0,42$
	+	23	$2,96 \pm 0,67$
Обработанные анти-В	+	19	$5,37 \pm 0,78$
Обработанные анти-Т	+	14	$11,07 \pm 1,68$

Обработка облученных реципиентов-гибридов F₁ АЛС препятствовала проявлению аллогенной ингибиции стволовых клеток (табл. 2): в селезенке реципиентов, обработанных АЛС, содержалось значительно большее число колоний, чем в селезенке контрольных реципиентов костного мозга.

В следующей серии экспериментов летально облученным гибридам F₁ вводили АЛС и через сутки трансплантировали костный мозг от мышей C57BL порознь или в смеси с клетками лимфатических узлов гибридов F₁ (табл. 3). Как и в предыдущих опытах, обработка облученных реципиентов F₁ АЛС (табл. 2) угнетала проявление аллогенной ингибиции стволовых клеток. Введение гибридам F₁, обработанным АЛС, сингенных (F₁) клеток лимфатических узлов отменяло эффект АЛС: наблюдалась реверсия аллогенной ингибиции стволовых клеток фенотипа C57BL. Результаты, представленные в табл. 2, позволяют предполагать, что за проявление аллогенной ингибиции ответственны лимфоциты реципиента.

С целью идентификации происхождения лимфоцитов, ответственных за проявление аллогенной ингибиции, облученных гибридов F_1 обрабатывали за сутки до трансплантации аллогенного костного мозга антисывороткой против В- или Т-лимфоцитов. Выраженная отмена аллогенной ингибиции была при использовании анти-Т сыворотки (табл. 4).

Полученные данные позволяют предполагать, что в проявлении аллогенной ингибиции стволовых клеток принимают участие радиорезистентные Т-лимфоциты облученного реципиента. Имеющиеся данные (⁸, ⁹) позволяют считать, что после облучения мышей в дозе порядка 1000р в организме сохраняются жизнеспособными неделящиеся Т-клетки, которые могут принимать участие в иммунном ответе.

Автор выражает глубокую благодарность Н. А. Краскиной, любезно предоставившей антилимфоцитарные сыворотки.

Институт медицинской генетики
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
29 IV 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ G. Cudkowicz, G. B. Rossi, J. Nat. Cancer Inst., v. 48, 131 (1972). ² J. J. Trentin, J. M. Rauchwerger, M. T. Gallagher, Biomedicine, v. 18, 86 (1973). ³ M. Bennett, Transplantation, v. 14, 289 (1972). ⁴ И. Н. Головистиков, Ю. В. Зыков, С. С. Гамбаров, Бюлл. эксп. биол. и мед., № 5, 97 (1974). ⁵ J. E. Till, E. A. McCulloch, Rad. Res., v. 14, 213 (1961). ⁶ Н. А. Краскина, О. В. Котельникова, Т. К. Лопатина, В кн.: Матер. Всесоюзн. конфер. по общей иммунологии и противовирусному иммунитету, ч. 1, М., 1970, стр. 74. ⁷ Н. А. Краскина, В кн.: Матер. Всесоюзн. конфер. по общей и прикладной иммунологии, ч. 1, М., 1974, стр. 78. ⁸ T. Ito, T. Kino, G. Cudkowicz, J. Immunol., v. 110, 596 (1973). ⁹ R. E. Anderson, J. Sprent, J. F. A. P. Miller, Europ. J. Immunol., v. 4, 199 (1974).