

УДК 612.017+575.24

ИММУНОЛОГИЯ

Л. Н. ФОНТАЛИН, Т. К. НОВИКОВА, И. К. ЕГОРОВ,  
З. К. БЛАНДОВА, И. А. КОНДРАТЬЕВА

**ДЕФЕКТНОСТЬ ИММУННОГО ОТВЕТА ЛИМФОЦИТОВ  
МЫШЕЙ (M523 × CBA)F<sub>1</sub>, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ IN VIVO  
В ОРГАНИЗМЕ СЕМИСИНГЕННЫХ РЕЦИПИЕНТОВ**

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 15 VII 1975)

Вопрос о полноценности функционирования кроветворных и лимфоидных клеток в организме несингенных реципиентов в условиях, исключающих иммунный конфликт между этими клетками и окружающими тканями, является дискуссионным. Имеются данные об ослабленной пролиферативной активности стволовых гемопоэтических (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>) или опухолевых клеток (<sup>3</sup>), а также об ослабленном иммунном ответе лимфоидных клеток (<sup>4</sup>, <sup>5</sup>) в организме летально облученных аллогенных или гибридных реципиентов в случае несовместимости последних по Hh-генам (<sup>6</sup>). Природа указанного феномена, получившего ряд наименований (аллогенная ингибция, сингенное предпочтение, генетическая резистентность), до настоящего времени неясна.

Задачей настоящей работы было исследование функционирования иммунокомпетентных лимфоидных клеток в несингенном микроокружении в условиях а) минимальных генетических различий между клетками и микроокружением, б) отсутствием иммунного конфликта между клетками и микроокружением, в) нормальной пролиферации донорских клеток.

В качестве доноров использовали мышей (M523 × CBA)F<sub>1</sub>, CBA и (CBA × C57BL/6)F<sub>1</sub>. Мыши M523 отличаются от CBA единичной мутацией в локусе H-2K комплекса генов H-2 (<sup>7</sup>, <sup>8</sup>). Мыши CBA и C57BL/6 имеют различные гаплотины H-2 (H-2<sup>k</sup> и H-2<sup>b</sup>) и различаются по многим другим генам. Реципиентами были мыши CBA и (M523 × CBA)F<sub>1</sub>, облученные в дозе 850 р из кобальтового источника. Реципиентам вводили внутривенно клетки селезенки (10–25 · 10<sup>6</sup>), тимуса (50 · 10<sup>6</sup>) или костного мозга (10 · 10<sup>6</sup>), а также их сочетания в смеси с 2 · 10<sup>6</sup> эритроцитов барана. Спустя 4 суток вводили дополнительно 5 · 10<sup>8</sup> эритроцитов барана. На 8 сутки определяли число антителообразующих клеток (а.т.о.к.) в селезенке реципиентов методом Эрне.

Предварительными опытами было показано, что мыши M523 и CBA продуцируют одинаковое число а.т.о.к. при иммунизации эритроцитами барана.

Данные, полученные при переносе клеток селезенки (M523 × CBA)F<sub>1</sub> сингенным и семисингенным (CBA) реципиентам, приведены в табл. 1. Из этих данных следует, что клетки гибридов в семисингенном реципиенте почти полностью утрачивают способность к иммунному ответу. Репопуляция семисингенной селезенки также несколько ослаблена. Однако сопоставление соответствующих цифр показывает, что ослабленная репопуляция селезенки не может явиться главной причиной ареактивности донорских клеток.

В табл. 2 суммированы результаты культивирования тимоцитов и костномозговых клеток различного происхождения в сингенных и семисингенных реципиентах. В соответствии с литературными данными наблюдался

кооперативный эффект при совместном культивировании тимоцитов и костномозговых клеток СВА в сингенном реципиенте (ср. группу 8 с группами 6 и 7; группу 16 с группами 14 и 15). Ослабленный, но несомненный иммунный ответ наблюдался у сингенных реципиентов тимоцитов и костномозговых клеток мышей (M523×CBA)F<sub>1</sub> (группа 4). Однако те же клетки в семисингенных реципиентах (CBA) не образовывали а.т.о.к. (группа 3).

Таблица 1

Иммунный ответ клеток селезенки, культивируемых *in vivo*  
в детально облущенных семисингенных реципиентах

| № групп | Доноры клеток            | Число введенных клеток (×10 <sup>6</sup> ) | Реципиенты               | Число реципиентов | Число клеток в селезенке (×10 <sup>6</sup> ) | Число а.т.о.к. в селезенке |                                    |
|---------|--------------------------|--------------------------------------------|--------------------------|-------------------|----------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|
|         |                          |                                            |                          |                   |                                              | среднее                    | доверительные интервалы при P<0,05 |
| 1       | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | 10                                         | CBA                      | 7                 | 49,9±3,8                                     | 47                         | 21-105                             |
| 2       | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | 25                                         | CBA                      | 11                | 81,2±8,9                                     | 4864                       | 1770-13370                         |
| 3       | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | 10                                         | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | 8                 | 88,8±11,2                                    | 82 990                     | 63530-108400                       |
| 4       | CBA                      | 10                                         | CBA                      | 10                | 66,1±5,4                                     | 57 680                     | 37670-88310                        |

Таблица 2

Эффективность кооперации Т- и В-лимфоцитов различного происхождения в зависимости от их сингенности и сингенности реципиентов

| № группы | Доноры клеток |                       | Реципиенты | Число реципиентов | Число клеток в селезенке (×10 <sup>6</sup> ) | Число а.т.о.к. в селезенке |                                    |
|----------|---------------|-----------------------|------------|-------------------|----------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|
|          | тимоциты      | костномозговые клетки |            |                   |                                              | среднее                    | доверительные интервалы при P<0,05 |

І серия опытов

|   |                          |                          |                          |    |            |       |             |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----|------------|-------|-------------|
| 1 | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | —                        | CBA                      | 12 | 11,4±0,8   | 4     | <6          |
| 2 | —                        | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | CBA                      | 11 | 79,0±9,6   | 44    | <93         |
| 3 | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | CBA                      | 11 | 108,4±9,4  | 77    | 41-145      |
| 4 | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | 6  | 126,3±21,4 | 1123  | 604-2 694   |
| 5 | (M523×CBA)F <sub>1</sub> | CBA                      | CBA                      | 11 | 96,9±10,0  | 50    | <143        |
| 6 | CBA                      | —                        | CBA                      | 10 | 14,9±1,2   | 69    | <394        |
| 7 | —                        | CBA                      | CBA                      | 14 | 83,8±8,9   | 35    | <80         |
| 8 | CBA                      | CBA                      | CBA                      | 13 | 143,5±11,7 | 2 805 | 1 138-6 918 |

ІІ серия опытов

|    |                             |                             |     |    |            |       |              |
|----|-----------------------------|-----------------------------|-----|----|------------|-------|--------------|
| 9  | —                           | —                           | CBA | 5  | 7,1±0,6    | 3     | <6           |
| 10 | (CBA×C57BL/6)F <sub>1</sub> | —                           | CBA | 6  | 17,8±1,9   | 20    | <53          |
| 11 | —                           | (CBA×C57BL/6)F <sub>1</sub> | CBA | 14 | 71,1±9,5   | 168   | 48-446       |
| 12 | (CBA×C57BL/6)F <sub>1</sub> | (CBA×C57BL/6)F <sub>1</sub> | CBA | 15 | 125,3±12,9 | 6 053 | 3 228-11 350 |
| 13 | (CBA×C57BL/6)F <sub>1</sub> | CBA                         | CBA | 16 | 98,8±9,5   | 346   | 155-771      |
| 14 | CBA                         | —                           | CBA | 5  | 18,7±1,6   | 21    | <44          |
| 15 | —                           | CBA                         | CBA | 14 | 78,3±6,4   | 71    | 25-158       |
| 16 | CBA                         | CBA                         | CBA | 13 | 117,8±8,5  | 6 427 | 3 365-12 270 |

Тимоциты и костномозговые клетки гибридов иного происхождения (CBA×C57BL/6)F<sub>1</sub> не утрачивали способности к кооперативному иммунному ответу в семисингенном реципиенте (ср. группу 12 с группами 10 и 11).

Тимоциты как (M523×CBA)F<sub>1</sub>, так и (CBA×C57BL/6)F<sub>1</sub> не могли активировать семисингенные костномозговые клетки в семисингенных реципиентах (группы 5 и 13).

Важно отметить одинаковую репопуляцию селезенки CBA костномозговыми клетками (M523×CBA)F<sub>1</sub>, CBA и (CBA×C57BL/6)F<sub>1</sub> (ср. группы 2, 7, 11, 15). Репопуляция селезенки тимоцитами была незначительной вне зависимости от сингенности реципиентов (группы 1, 6, 10, 14). При

совместном введении тимоцитов и костномозговых клеток наиболее интенсивная репопуляция селезенки наблюдалась в условиях полноценного иммунного ответа (группы 4, 8, 12, 16).

Дефектность функционирования иммунокомпетентных клеток (M523X×CBA)F<sub>1</sub> в семисингенном реципиенте не может быть приписана ни иммунной реакции «хозяин против трансплантата», ни плохому приживлению клеток в семисингенной селезенке. В этом убеждают как данные о репопуляции селезенки клетками различного происхождения, так и контрольные опыты с введением клеток (CBA×C57BL/6)F<sub>1</sub> семисингенным реципиентам (группа 12, табл. 2). В последнем случае наблюдался полноценный иммунный ответ, несмотря на несовместимость донорских клеток по отношению к реципиенту по комплексу H-2 и большому числу других генов.

Неясно, можно ли отнести наблюдаемый феномен к группе явлений, объединяемых термином «аллогенная ингибция». Аллогенная ингибция при введении гибридных (F<sub>1</sub>) кроветворных клеток облученным реципиентам родительской линии описана некоторыми авторами (<sup>3</sup>). Однако основным признаком аллогенной ингибции, как известно, является угнетение пролиферации донорских гемопоэтических клеток. Описанный же в настоящей работе феномен характеризуется избирательным угнетением активности иммунокомпетентных клеток при сохранении пролиферативной активности гемопоэтических клеток.

Можно полагать, что основной причиной наблюдаемого феномена является неспособность Т- и В-лимфоцитов (M523×CBA)F<sub>1</sub> кооперироваться с несингенными А-клетками. Поскольку А-клетки радиорезистентны, основным их источником в условиях культуры лимфоидных клеток *in vivo* является реципиент (<sup>9</sup>). Литературные данные о роли сингенности А-клеток и лимфоцитов в иммунном ответе весьма противоречивы (<sup>5</sup>, <sup>10-15</sup>). По-видимому, несингенность между лимфоцитами и А-клетками препятствует их эффективной кооперации лишь при некоторых определенных комбинациях гаплотипов H-2. Действительно, лимфоциты (CBA×C57BL/6)F<sub>1</sub> в наших опытах вполне успешно функционировали в селезенке семисингенных реципиентов в отличие от лимфоцитов (M523×CBA)F<sub>1</sub>. Наши данные указывают на то, что мутация M523 привела к изменению каких-то клеточных рецепторов, по которым линии CBA и C57BL/6 не различаются. Вероятно, тождество по этим рецепторам, контролируемым областью K комплекса H-2, необходимо для успешной кооперации А- и Т-клеток.

В рамках настоящей работы невозможно детально анализировать другой обнаруженный нами факт — дефектность кооперации тимоцитов (M523×CBA)F<sub>1</sub> или (CBA×C57BL/6)F<sub>1</sub> с семисингенными костномозговыми клетками в иммунном ответе (группы 5 и 13, табл. 2). Этот факт имеет, видимо, более общее значение, поскольку он отмечен при обеих использованных семисингенных комбинациях. По-видимому, тождество обусловленной комплексом H-2 антигенной структуры цитоплазматической мембраны А-, Т- и В-клеток имеет существенное значение для взаимного узнавания этих клеток в процессе кооперативного иммунного ответа.

Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
15 VII 1975

Институт общей генетики  
Академии наук СССР

Научно-исследовательская лаборатория  
экспериментально-биологических моделей  
Академии медицинских наук СССР  
Москва

# ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> E. A. McCulloch, J. E. Till, J. Cell. and Comp. Physiol., v. 61, 3, 301 (1963).
- <sup>2</sup> A. Lengerova, I. Hilgert et al., Folia Biologica (Praha), v. 19, 1, 1 (1973). <sup>3</sup> K. E. Hellström, Intern. J. Cancer, v. 1, 4, 349 (1966).
- <sup>4</sup> H. N. Claman, E. A. Chapezon, L. L. Hayes, Transplantation, v. 7, 2, 87 (1969).
- <sup>5</sup> С. С. Гамбаров, И. Н. Головускинов, Бюл. эксп. биол. и мед., т. 25, 9, 109 (1973).
- <sup>6</sup> E. Lotzova, G. Cudkowitz, J. Immunol., v. 113, 3, 798 (1974).
- <sup>7</sup> J. Klein, J. Forman et al., J. Immunol., v. 116, 3, 815 (1975).
- <sup>8</sup> Z. Blandova, Y. A. Mnatsakanyan, I. K. Egorov, Immunogenetics, v. 2, 3, 291 (1975).
- <sup>9</sup> R. M. Gerczynski, R. G. Miller, R. A. Phillips, J. Exp. Med., v. 134, 5, 1201 (1971).
- <sup>10</sup> N. A. Mitchison, Immunology, v. 16, 1, 1 (1969).
- <sup>11</sup> K. Shortman, E. Diezner et al., J. Exp. Med., v. 131, 3, 461 (1970).
- <sup>12</sup> В. Г. Галактионов, Т. В. Анфалова, Журн. общ. биол., т. 35, 3, 365 (1974).
- <sup>13</sup> R. B. Taylor, In: Progress in Immunol. II, v. 3, Amsterdam, 1974, p. 335.
- <sup>14</sup> P. E. Lipsky, A. S. Rosenthal, J. Exp. Med., v. 141, 1, 138 (1975).
- <sup>15</sup> H. Cosenza, L. D. Leserman, J. Immunol., v. 108, 2, 418 (1972).