

Российская академия медицинских наук
Сибирское отделение
ГУ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ

**ИММУНОПАТОГЕНЕЗ И ИММУНОТЕРАПИЯ
ОСНОВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА:
ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИКЕ**

Материалы 7-й отчетной конференции
ГУ НИИКИ СО РАМН

Под редакцией:
Директора ГУ НИИКИ СО РАМН
академика РАМН, профессора В. А. Козлова

Scientific report 2006
Institute of Clinical Immunology
Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences

Новосибирск
2006 г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕОБЛАДАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ TH1 ИЛИ TH2 КЛЕТОК ПО СООТНОШЕНИЮ ПОДКЛАССОВ IgG

Ненашева Е.В., Кудаева О.Т., Колесникова О.П.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

Как известно, существует два типа Т-хелперных клеток, различающихся по профилю секретируемых цитокинов, и от этого профиля зависит, какой из типов иммунного ответа будет развиваться. Т-хелперные клетки 1 типа (Th1) запускают клеточный иммунный ответ, Т-хелперные клетки 2 типа (Th2) – гуморальный иммунный ответ. Кроме того, цитокины, выделяемые Th1 клетками, подавляют активность Th2 клеток, и наоборот.

Доминирование Th1 либо Th2 клеток принято определять по преобладанию соответствующих цитокинов, но их уровень в сыворотке подвержен значительным колебаниям и, по всей вероятности, отражает сиюминутную активацию того или другого звена. Поэтому в качестве другого показателя преобладающей активности Th1 или Th2 клеток у мышей рассматривают соотношение подклассов IgG1/IgG2a в сыворотке крови, так как Th1 стимулируют продукцию IgG2a, а Th2 – индуцируют синтез IgG1.

Концентрация IgG и подклассов различается не только в норме и при патологии, но также зависит от генотипа и пола мыши [J.H. Slack, 1987; D. Verthelyi 2001; A. Senuma et al., 2002; M.A. Ramos et al. 2003].

В нашей работе мы исследовали хроническую реакцию трансплантат против хозяина (хРТПХ) на модели DBA/2 → (C57BL/6×DBA/2)F₁. Поэтому на первоначальном этапе мы измеряли концентрацию и соотношение подклассов IgG у самцов и самок интактных мышей гибридов (C57BL/6×DBA/2)F₁, используемых в этой модели. Все подклассы были представлены в достаточном количестве. У самок по сравнению с самцами уровень IgG, в общем, и доля IgG1 и IgG2b, в частности, были выше, так как эстрогены стимулируют синтез именно этих подклассов. Как известно, самки демонстрируют более сильный гуморальный ответ и в связи с этим более высокую частоту аутоиммунных заболеваний. Поэтому в данной модели используются самки как в качестве доноров, так и в качестве реципиентов.

При индукции хРТПХ в системе DBA/2 → (C57BL/6×DBA/2)F₁ ранее нами было обнаружено, что, несмотря на отсутствие генетических

различий, реакция может идти по двум направлениям: с формированием аутоиммунного гломерулонефрита и преимущественной активацией Th2 клеток (*lupus*) и без проявления поражения почек и с преобладанием Th1 клеток (*nonlupus*). Для подтверждения этого измеряли соотношение подклассов IgG1/IgG2a в периферической крови мышей B6D2F1 на 4 и 12 неделе после индукции хРТПХ. У *lupus*-реципиентов наблюдалось увеличение продукции Th2-зависимого подкласса IgG1 по сравнению с мышами *nonlupus*, что свидетельствует о преимущественной активации при этом варианте Th2 клеток. Соотношение подклассов у мышей *nonlupus* оказалось ниже, чем в контрольной интактной группе, что предполагает доминирующее влияние Th1 клеток.

Введение препаратов, влияющих на Th1/Th2 баланс на фоне развития хРТПХ, воздействует также и на соотношение подклассов. При использовании мурамилдипептида (MDP) и пентоксифиллина (ПТХ), агентов, активирующих Th2-клетки, индекс IgG1/IgG2a увеличивался по сравнению с мышами с хРТПХ и интактными мышами. Введение плазмиды pUC19, содержащей неметилированные CpG-мотивы и сдвигающей соотношение Th1/Th2 в сторону Th1, привело к повышению уровня IgG2a и, следовательно, к снижению индекса IgG1/IgG2a.

Таким образом, исходя из вышеприведенных данных можно сделать вывод, что соотношение подклассов IgG1/IgG2a адекватно отражает состояние Th1/Th2 баланса и может использоваться для определения преобладающей активности Th 1 или 2 типа.

DETERMINATION OF PREDOMINATE ACTIVITY OF TH1 OR TH2 CELLS BY RATIO OF IgG SUBCLASSES

Nenasheva E.V., Kudaeva O.T., Kolesnikova O.P.

**State Research Institute of Clinical Immunology SB RAMS,
Novosibirsk, Russia**

It is well known subset of helper T cells can be subdivided into Th1 and Th2 expressing differing cytokine patterns. Th1 and Th2 cells direct different immune response. Th1 cells drive the "cellular" immune response; Th2 cells drive the "humoral" immune response. Furthermore Th1 cytokine can down-regulate Th2 cells activity and vice versa.

It is common Th1 or Th2 prevalence determined from dominance in appropriate cytokines, but cytokine serum level greatly fluctuates and most

likely demonstrates momentary activation of either subset. Therefore we considered ratio of subclasses IgG1/IgG2a in mouse blood serum as more suitable value of activity Th1 or Th2 cells, because Th1 cells stimulate production of IgG2a and Th2 cells induce synthesis of IgG1.

IgG subclasses content is different not only between intact and experimental animals, but also it depends on mouse sex and strain [J.H. Slack, 1987; D. Verthelyi, 2001; A. Senuma et al., 2002; M.A. Ramos et al., 2003].

In our work we studied murine chronic graft-versus-host disease (cGVHD). We employed DBA/2 \rightarrow (C57BL/6 \times DBA/2) F_1 model. Therefore, to begin with, we measured serum level and ratio of subclasses IgG of intact (C57BL/6 \times DBA/2) F_1 male and female. All subclasses were present in serum enough. Total level of IgG and rate of IgG1 and IgG2b were higher in the female serum than male, because estrogens stimulate the production of those subclasses. It is common that females have stronger humoral immune responses than males and as a result increased frequency of autoimmune diseases. Therefore females are used in this model as donors and recipients.

Previously we showed that cGVHD in DBA/2 \rightarrow (C57BL/6 \times DBA/2) F_1 model can progress in two-way though recipients were genetically identical: the first case with activating of Th2 cells and development of autoimmune glomerulonephritis (*lupus*), in the second case Th1 cells predominate and there are no presentations of nephritis (*nonlupus*). To verify IgG1/IgG2a ratio was measured in the peripheral blood of B6D2F1 hybrids on week 4 and 12 of postinduction. Level of Th2-dependent subclass IgG1 was higher in the *lupus* group. It was evidence of the preferential activation of Th2 cells in this case. Ratio IgG1/IgG2a was less than in the control intact group, suggesting predominate Th1 cell activity.

Injection of agents, influencing the Th1/Th2 balance against a background of development cGVHD affects ratio of subclasses IgG as well. Using muramildipeptid (MDP) and pentoxifilin (PTX) that activate Th2 cells, ratio IgG1/IgG2a was increased in comparison with cGVHR and intact mice. Injection of the plasmid pUC19, containing unmethylated CpG motifs and shifting Th1/Th2 ratio towards Th1, led to a rise of titers of IgG2a and consequently to a decrease of IgG1/IgG2a ratio.

Therefore, based on the above mentioned data we can conclude that IgG1/IgG2a ratio sufficiently describes state of Th1/Th2 balance and can be used for detecting of predominate activity of Th1 or Th2 cells.