

Гаврилова Е.Д., Кудяева О.Т., Ткачев В.О., Гилёва И.П.², Колесникова О.П.
УЧАСТИЕ TNF α В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЯ

Институт клинической иммунологии СО РАМН, г.Новосибирск² ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор», п.Кольцово, Новосибирская область

Резюме. Показано, что концентрация TNF α в периферической крови не меняется в динамике первичного гуморального ответа. Резкая стимуляция иммунного ответа сопровождается подъемом уровня TNF α , пик которого приходится на период активного образования IgM-антителопродуктов. Связывание TNF α подавляет первичный IgM-ответ, не влияет на первичный IgG-ответ и стимулирует вторичный IgG-ответ. Результаты исследования позволяют предположить участие TNF α в регуляции физиологического баланса процессов дифференцировки В-лимфоцитов в антителопродукты и клетки памяти.

Ключевые слова: туморнекротический фактор, периферическая кровь, антителообразование, В-лимфоциты.

TNF α представляет собой полифункциональный цитокин, который продуцируется многими клетками. Хотя роль TNF α наиболее выражена в системном воспалении, он участвует во многих других иммунных процессах, в том числе, в регуляции В-клеточной активности. Целью настоящего исследования было оценить участие TNF α в регуляции процессов антителообразования при стимуляции первичного гуморального иммунного ответа на Т-зависимый антиген.

Материалы и методы.

В работе использовали мышей (C57BL/6xDBA/2)F1, самок, в возрасте 2-3 месяцев. Мышей иммунизировали эритроггитами барана (ЭБ) внутривенно (в/в) субоптимальной (1×10^7) дозой ЭБ. Отдельной группе животных через месяц вводили в/в 2×10^8 ЭБ для оценки величины вторичного ответа. Величину гуморального иммунного ответа определяли путем подсчета количества IgM- и IgG-антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей на пике иммунного ответа методом локального гемолиза [6]. В предварительных экспериментах определяли пик иммунного ответа для мышей данного генотипа: максимальное количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке наблюдается при первичном ответе через 5 суток для IgM-АОК и через 9 суток для IgG-АОК, при вторичном ответе через 4 суток для IgG-АОК. Для стимуляции ответа мышам дополнительно в конце лог-фазы первичного ответа (через 4 суток после первой иммунизации) вводили антиген под апоневроз задней лапы (5×10^8 ЭБ) или в/в в дозах (1×10^7 ЭБ) и (2×10^8 ЭБ) [2]. На пиках первичного IgM- и IgG-ответа у животных определяли концентрацию TNF α в сыворотке иммуноферментным методом («BioSensence»). Контролем служили интактные мыши того же пола и возраста. Для отмены возможных эффектов TNF α мышам вводили TNF-связывающий белок вируса натуральной оспы [7] в дозе 12 нг/мл после иммунизации однократно через 4 суток или трехкратно через 4, 6 и 8 суток. Статистическую обработку результатов про-

водили методами непараметрической статистики. Различия между группами считали достоверными при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение.

Ранее нами был показан эффект гиперстимуляции первичного иммунного ответа дополнительным введением антигена в конце лог-фазы первичного IgM-ответа; при этом многократное увеличение числа IgM- и IgG-АОК в селезенке в результате первичного ответа сопровождалось подавлением анамнестической реакции [1-3]. Определенные содержания TNF α в периферической крови на пиках первичного IgM- и IgG-ответа не выявили значимых изменений его концентрации по сравнению с интактными мышами (соответственно, 3.9 пг/мл, 3.4 пг/мл и 4.7 пг/мл). Однако стимуляция ответа сопровождается возрастанием уровня TNF α . Его содержание достигает максимума на пике IgM-ответа (7.8 пг/мл, $p < 0.05$), в дальнейшем снижается и на пике IgG-ответа составляет 4.5 пг/мл, не отличаясь от значений иммунизированных мышей без дополнительного введения антигена и интактного контроля. Таким образом, при стимуляции ответа подъем уровня TNF α происходит на период активного образования IgM-АОК.

Известно, что TNF α является важным фактором физиологических процессов активации В-клеток в процессе иммунного ответа [4]. Сами В-лимфоциты (обе субпопуляции эффекторных В-клеток – Be1 и Be2) наряду с другими цитокинами способны синтезировать TNF α [8]; более того, TNF α , необходимый для эффективного образования антител при ответе на геляминты, продуцируется именно В-клетками [5, 9]. Можно предположить, что резкая стимуляция образования антителопродуктов дополнительным поступлением антигена в конце лог-фазы первичного IgM-ответа обусловлена взаимосвязанными процессами активации В-клеток и продукции ими TNF α , которые начинают поддерживать друг друга по принципу положительной обратной связи. Гиперстимуляция ответа может приводить к избыточному образованию антителопродуктов при первичном ответе в ущерб формированию клеток памяти и, как следствие, к нарушению физиологического течения иммунного ответа, что в дальнейшем может выражаться в снижении выраженности анамнестической реакции.

Для проверки этого предположения было изучено развитие первичного гуморального ответа при введении животным TNF-связывающего белка. Однократное введение TNF-связывающего белка в конце лог-фазы IgM-ответа вызывает уменьшение количества IgM-АОК при стандартной иммунизации, но не приводит к достоверному снижению IgM-АОК на фоне стимуляции ответа дополнительным введением антигена (+А) и не изменяет количество IgG-АОК в селезенке ни в том, ни в другом случае (таблица). Связывание TNF α не влияет на образование IgG-антителопродуктов даже при многократном введении TNF-связывающего белка: количество IgG-

АОК в селезенке составляет 393 и 271 при стандартной иммунизации и 13 026 и 16 652 при стимуляции, соответственно, в контроле и на фоне введения TNF-связывающего белка.

Таблица

Величина первичного гуморального ответа на T-зависимый антиген на фоне введения животным TNF-связывающего белка (М)

	п	Без введения TNF-связывающего белка	п	Введение TNF-связывающего белка	
IgM-АОК	-	10	10 972	10	5 590*
	+ Ar	6	15 132	10	8 123
IgG-АОК	-	10	399	6	252
	+ Ar	10	13 026	10	15 296

Примечание: * – $p < 0.05$ по сравнению с соответствующим контролем

Изучение анамнестической реакции показало, что подавление IgM-ответа, вызванное связыванием TNF α , сопровождается стимуляцией вторичного ответа при стандартной иммунизации (количество IgG-АОК в селезенке составляет 1 070 256 и 1 454 902, соответственно, в контроле и при введении TNF-связывающего белка, $p < 0.01$). Как и в случае первичного ответа, подобный эффект не проявляется на фоне стимулированного ответа; возможной причиной этого может быть недостаточная доза TNF-связывающего белка в связи с повышенным уровнем TNF α при стимуляции.

Полученные результаты свидетельствуют об участии TNF α в регуляции физиологического баланса процессов дифференцировки В-лимфоцитов в антителопродукты и клетки памяти, проявляющиеся в момент активного образования IgM-антителопродуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилова Е.Д., Кудяева О.Т., Колесникова О.П. // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006. – № 3. – С.32–35.
2. Гаврилова Е.Д., Кудяева О.Т., Колесникова О.П. // Омский научный вестник. – 2007. – № 3 (61). – С.17–18.

3. Гаврилова Е.Д., Кудяева О.Т., Колесникова О.П. и др. // БЭБиМ. – 2010. – Т.149, № 3. – С.304–307
4. Aringer M. et Smolen J.S. // Arthritis. Res. Ther. – 2003. – V(5). – P.172–177.
5. Artis D., Humphreys N.E., Bancroft A.J. et al. // J.Exp.Med. – 1999. – V.190, N 7. – P.953–962.
6. Cunningham A.J., Szenberg A. // Immunol. – 1968. – V.14. – P.599–600.
7. Gileva I.P., Nepomnyashchikh T.S., Antonets D.V. et al. // Biochim. Biophys. Acta. – 2006. – V.1764. – P.1710–1718.
8. Lund F.E. // Curr. Opin. Immunol. – 2008. – V.20 (3). – P.332–338.
9. Wojciechowski W., Harris D., Sprague F. et al. // Immunity. – 2009. – V.30 (3). – P.421–433.

Gavrilova E.D., Kudyaeva O.T., Tkachev V.O.,
Gileva I.P.², Kolesnikova O.P.

TNFA INVOLVEMENT IN THE REGULATION OF ANTIBODY FORMATION

Institute of Clinical Immunology SB RAMS, Novosibirsk

² FGUN GNC VB «Vector», NO, Koltsovo, Novosibirsk Region

Summary. It has been shown the invariant TNF α level in peripheral blood during primary humoral response. The marked stimulation of immune response is accompanied by the increase of TNF α level, which maximum is found at the period of active formation of IgM-producing cells. The binding of TNF α reduces the primary IgM-response, doesn't influence on the primary IgG-response and stimulates the secondary IgG-response. Results of the study suggest the possible TNF α involvement in the regulation of the physiological balance of the processes of B-lymphocytes differentiation to antibody and memory cells.

Key words: tumornekrotichesky factor, peripheral blood, antibody, B-lymphocytes.