

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.

ВЛИЯНИЕ АГЕНТОВ, СТИМУЛИРУЮЩИХ TH1- ИЛИ TH2-СУБПОПУЛЯЦИИ, НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА

Гойман Е.В., Кудаева О.Т., Колесникова О.П., Лыков А.П.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

Перенос родительских лимфоидных клеток мышам-гибридам F_1 индуцирует реакцию трансплантат против хозяина (РТПХ), при этом развитие тех или иных иммунных процессов зависит от многих факторов: различия донора и реципиента по МНС, количества и фенотипа перенесённых клеток и т.п. Так, показано, что при трансплантации 100×10^6 клеток селезёнки и лимфатических узлов внутривенно двукратно с интервалом в 5 дней в системе DBA/2 \rightarrow (C57Bl/6 \times DBA/2) F_1 у самок возникает хроническая РТПХ, сопровождающаяся аутоиммунным расстройством – люпус-подобным гломерулонефритом.

Индукция хронической РТПХ по описанной схеме, мы обнаружили, что реакция может идти по двум направлениям, несмотря на генетическую однородность реципиентов (C57Bl/6 \times DBA/2) F_1 : у части мышей развивается аутоиммунный гломерулонефрит (GN) (*lupus*); у остальных мышей отсутствуют выраженные поражения почек, но наблюдается глубокое подавление гуморального ответа на Т-зависимый антиген (*nonlupus*), при этом в первом случае реакция идёт преимущественно по Th2-, а во втором – по Th1-пути.

В данной работе изучалась возможность влияния на течение реакции с помощью препаратов, изменяющих соотношение Th1/Th2 на начальных стадиях хРТПХ. Так как разные варианты развития хронической РТПХ в изучаемой нами модели связаны с преимущественной активацией Th1- или Th2-клеток, мы попытались изменить течение реакции, влияя на соотношение Th1/Th2.

В качестве модуляторов использовались препараты, селективно активирующие Th1-субпопуляцию (плазмида pUC19, гормон дегидроэпиандростерон в его транспортной форме – дегидроэпиандростерон-сульфат (DHEA-S)) и Th2-субпопуляцию (мурамилдипептид (MDP), пентоксифиллин (РТХ), бисфенол А (BPA)). Все препараты вводили только во время индукции реакции (1-ая и 2-ая неделя при трансплантации клеток), результаты оценивали по изменению соотношения ко-

личества *lupus/nonlupus* мышей в конце эксперимента через 3 месяца после переноса полуаллогенных клеток.

Введение бактериальной ДНК, содержащей неметилованные CpG-участки, стимулирует продукцию IL-12 и активирует Th1-клетки. Введение плазмиды мышам-реципиентам в дозе 100 мкг/мышь внутривенно уменьшает частоту развития GN до 15% по сравнению с 55% в контрольной группе ($p < 0.05$).

Дегидроэпиандростерон-сульфат считается стимулятором Th1-клеток. Мы использовали схему введения DHEA-S, основываясь на работе, в которой показано, что большие дозы DHEA-S восстанавливают продукцию Th1-зависимых цитокинов у старых мышей C57Bl/6, самок, как интактных, так и заражённых ретровирусом. Введение в момент индукции хРТПХ DHEA-S в дозе 0,75 мг/мышь подкожно мышам-реципиентам снижает частоту развития GN до 17% по сравнению с 30,7% в контрольной группе ($p < 0,05$).

Известно, что половые гормоны, в том числе эстрогены, оказывают влияние на клетки иммунной системы. Присутствие рецепторов к эстрогену ER- α показано для Т- и В-, а ER- β – для В-спленоцитов мыши. Бисфенол А, широко использующийся в промышленном производстве пластмасс, стимулирует образование аутоантител, обладает способностью связываться с рецепторами к эстрогену, несмотря на структурные отличия с гормоном, при этом наблюдается снижение продукции IFN- γ и синтеза IgG2a. В наших экспериментах введение в момент индукции хРТПХ низких доз ВРА (2,5 мкг/кг) *per os* мышам-реципиентам увеличивает частоту развития GN до 63.6% по сравнению с 33,3% в контрольной группе ($p < 0,05$).

Пентоксифиллин, лекарственный препарат, улучшающий микроциркуляцию и реологические свойства крови, обладает также иммуномодулирующими свойствами: ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов, в том числе IFN- γ , и подавляет развитие Th1-зависимого экспериментального аллергического энцефаломиеелита у мышей. Введение в момент индукции хРТПХ РТХ *per os* в дозе 1 мг/кг мышам-реципиентам увеличивает частоту развития GN до 75% по сравнению с 25% в контрольной группе ($p < 0.05$).

Мурамилдипептид, дериват клеточной стенки бактерий, обладает адьювантным действием, вызывает поликлональную активацию В-клеток, усиливает стимулирующее влияние IL-4 на активированные В-лим-

фоциты и продукцию преимущественно IgG1 у мышей. Введение при индукции хРТПХ MDP внутрибрюшинно в дозе 0,5 мг/кг мышам-реципиентам увеличивает частоту развития GN до 75% по сравнению с 18% в контрольной группе; доза MDP 1,0 мг/кг приводит к возрастанию частоты гломерулонефрита до 83,3% ($p < 0.05$).

Изучение динамики появления протеинурии у мышей B6D2F1 после индукции хронической РТПХ на фоне введения разных доз MDP показало, что при дозе 0,5 мг/кг развитие гломерулонефрита вначале не отличается от контрольной группы, но в дальнейшем достигает значений, наблюдаемых при дозе 1,0 мг/кг.

Таким образом, воздействие на соотношения Th1 или Th2 в индуктивную фазу хРТПХ позволяет целенаправленно вызывать развитие Th1- или Th2-зависимых иммунопатологических процессов.

THE INFLUENCE OF AGENTS, WHICH STIMULATE TH-1 OR TH-2 SUBPOPULATIONS, ON THE DEVELOPMENT OF CHRONIC GRAFT VERSUS HOST DISEASE

Goiman E.V., Kudaeva O.T., Kolesnikova O.P., Lykov A.P.

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

The transfer of the parental lymphoid cells to hybrids F_1 induced graft versus host disease (GVHD), in this case the development of some immunological processes depends on many factors: difference of donor and recipient by MHC antigens; quantity and phenotype of transferred cells and etc. It's well established that transfer of 100×10^6 spleen cells and lymphocytes from lymph node intravenously twice on days 0 and 6 in system DBA/2 \rightarrow (C57Bl/6 \times DBA/2) F_1 of female induced chronic GVHD, accompanied by autoimmune disorders such as lupus-like glomerulonephritis.

While inducing cGVHD by this model we obtained that reaction can lead by two ways independently by genetic similarities of recipients (C57Bl/6 \times DBA/2) F_1 : in some mice autoimmune glomerulonephritis (*lupus*) developed and in other mice there is no evidence of disorders in kidney, but there is evidence of profound decrease of humoral response to T-dependent antigen (*nonlupus*), in this first case reaction developed by Th-2 and in second case by Th-1 way.

In this work we studied the possibility of influence on the development of

reaction using compounds, which change Th1/Th2 balance at the beginning of cGVHD. Since the variants of the development of cGVHD in studied model are connected with preference activation of Th-1 or Th-2 cells, we attempted to change reaction by influence on Th1/Th2 balance.

As modulators we used compounds, which selectively activate Th1-subpopulation (plasmid pUC19, dehydroepiandrosteron sulfate (DHEA-S)) and Th2-subpopulation (muramildipeptid (MDP), pentoxiphyllin (PTX), bisphenol A (BPA)). The compound was used only at the moments of cGVHD induction (1-st and 2-nd week at transfer of cells), the results were studied by change of quantity of lupus/nonlupus mice at the end of the experiments, 3 months after transfer of semiallogenic cells.

The transfer of bacterial DNA, which contains unmethylated CpG-motifs, stimulates the production of IL-12 and activates Th1 cells. The plasmid in 100 g/mouse dose intravenously decreased the frequency of the development of glomerulonephritis to 15% comparison with 55% in control group ($p < 0.05$).

DHEA-S is thought to be a stimulator of Th1 cells. We used a scheme of DHEA-S injection as described in work in which it was established that high dose of DHEA-S repairs the production of Th1-dependent cytokines in old C57Bl/6, female mice, independently by retrovirus infection. DHEA-S in dose 0.75 mg/mouse subcutaneously to recipient during induction of cGVHD decreased frequency of the development of glomerulonephritis to 17% in comparison with 30.7% in control group ($p < 0.05$).

It's well established that sex hormones including estrogens can influence on the immunocytes. It is described that T- and B-cells bear ER- α receptor and B-lymphocytes bear ER- β receptor in mice. BPA, widely used in industry of plastic, can stimulate development of autoantibodies and can conjugate with receptors to estrogen independently of the lack of homology to hormone structure, and in this case we observed decrease of IFN-gamma production and synthesis of IgG2a. In our experiments lower dose of BPA (2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) per os at the moment of induction of cGVHD in mice recipients increased frequency of the development of glomerulonephritis to 63.6% in comparison with to 33.3% in control group of mice ($p < 0.05$).

PTX, medicine compound, which has positive effect on microcirculation and reological quality of blood, can have immunomodulation properties: inhibits the production of proinflammatory cytokines, including IFN-gamma, and decreases the development of Th1-dependent experimental allergic encephalomyelitis in mice. 1 mg/kg PTX per os in mice recipient at the moment of the induction of cGVHD increased frequency of the glomerulonephritis to

75% in comparison with 25% in control group of mice ($p < 0.05$).

MDP is bacterial derivate and has adjuvant properties, causes polyclonal activation of B-lymphocytes, has costimulatory effects with IL-4 on activated B-lymphocytes and production of IgG1 in mice. 0.5 mg/kg MDP intraperitoneum in mice during induction of the cGVHD increased frequency of glomerulonephritis to 75% in comparison with 18% in control group, in dose 1mg/kg MDP increased frequency of glomerulonephritis to 83.3% ($p < 0.05$).

The studies of the dynamic of proteinuria in B6D2F1 mice after induction of the cGVHD on the treatment with MDP (0.5 mg/kg) at the beginning of the experiments by the development of glomerulonephritis was the same as in control group, but at the end of studies it's compared to frequency of glomerulonephritis in case when MDP was used in 1 mg/kg dose.

Thus, the influence on Th1/Th2 balance in inductive phase of the cGVHD permits to induce the development of Th1- or Th2-dependent immunopathological process.