

О. Т. Кудаева, В. П. Лозовой, В. А. Козлов

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АНТИТЕЛООБРАЗУЮЩИХ КЛЕТОК У ВЫСОКО- И НИЗКООТВЕЧАЮЩИХ ЛИНИЙ МЫШЕЙ

Институт клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения АМН СССР, Новосибирск

Интенсивность иммунного ответа на каждый конкретный антиген генетически закодирована. При использовании в качестве антигена эритроцитов барана (ЭБ) среди мышей различных генотипов были выявлены оппозитно реагирующие линии: низкоотвечающая — С57ВL и высокоотвечающая — СВА. Было показано, что высокий тип ответа на ЭБ наследуется как доминантный, не сцеплен с полом и окраской шерсти и детерминирован более чем одним геном [2].

Реализация генетического контроля силы иммунного ответа осуществляется на уровне различных субпопуляций лимфоцитов и макрофагов. Показано, что низкая способность мышей линии С57ВL к выработке антителопродуцентов при иммунизации ЭБ может определяться дефицитом коммитированных к этому антигену Т- или В-лимфоцитов [3, 4].

Клетки, продуцирующие антитела к изучаемому антигену, могут быть выявлены методом локального гемолиза. В зависимости от среды, применяемой при инкубации клеток с антиге-

ном, существует 2 основных варианта этого метода: с использованием полутвердой поддерживающей среды по Jerne и Nordin [8] и в жидкой фазе по Cunningham и Szenberg [6]. Метод Cunningham более чувствительный и позволяет выявить примерно в 3 раза больше антителообразующих клеток (АОК), что было показано на мышах высокоотвечающей линии СВА [5].

Исходя из предположения, что АОК, определяемые разными методами, могут различаться по своим характеристикам и даже принадлежать к разным субпопуляциям, представляло интерес сравнить оба метода и на мышах низкоотвечающей линии С57ВL.

Методика исследования. В опытах использовали мышей (3—6-месячных самцов и самок) линий С57ВL/6, СВА и гибридов F_1 (СВА \times С57ВL/6) и F_1 (ДВА \times С57ВL/6).

ЭБ вводили внутривенно в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток на мышь. Число АОК в селезенке определяли через 4 сут методом локального гемолиза в

Таблица 1.

Число АОК на 10^6 кариоцитов селезенки у мышей разных генотипов, определяемое двумя методами ($M \pm m$)

Метод	C57BL/6	СВА	F ₁ (СВА×С57BL/6)
Jerne и Nordin	17,3±3,01	46,1±4,86	60,6±17,57
Cunningham и Szenberg	21,1±5,09	290,6±39,21	95,5±24,77
<i>P</i> *	>0,05	<0,001	<0,01
<i>n</i>	26	12	10

* *P* дано для оценки различий между числом АОК, определяемым разными методами у одного и того же генотипа.

агаре по Jerne и Nordin [8] и в жидкой фазе по Cunningham [6] одновременно.

Статистическую оценку полученных результатов проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента для зависимых и независимых выборок.

Результаты и обсуждение. При изучении ответа на ЭБ у мышей высоко- и низко реагирующей линии, а также их гибридов F₁ параллельно двумя вариантами метода локального гемолиза — в агаре и жидкой фазе — были получены следующие результаты.

Количество АОК, определяемое одновременно двумя методами, различается у мышей с сильным типом ответа — СВА и F₁(СВА×С57BL/6) — и оказывается одинаковым у мышей низкоотвечающей линии С57BL/6 (табл. 1). Отношение числа АОК, определяемого методом Jerne, к числу АОК, определяемому методом Cunningham, у мышей линии СВА достоверно ниже, чем у гибридов (соответственно $0,175 \pm 0,0197$ и $0,637 \pm 0,1366$; $P < 0,001$). В связи с этим если методом Jerne обнаруживаются различия в силе иммунного ответа на ЭБ между мышами С57BL/6 и СВА, С57BL/6 и F₁(СВА×С57BL/6) ($P < 0,001$), но не между СВА и F₁(СВА×С57BL/6) ($P > 0,05$), то при использовании метода Cunningham все 3 генотипа достоверно

Таблица 2.

Число АОК на 10^6 кариоцитов селезенки, определяемое двумя методами у мышей F₁(СВА×С57BL/6), иммунизированных разными дозами эритроцитов барана ($M \pm m$)

Доза антигена, (%)	Метод		<i>n</i>	<i>P</i> **
	Jerne и Nordin	Cunningham и Szenberg		
2,5*	70,6±12,97	147,0±36,13	9	<0,01
50*	7,0±2,41	9,1±1,49	9	>0,05

* Мышей иммунизировали внутривенным введением 0,5 мл взвеси, содержащей ЭБ в указанной концентрации.

** *P* дано для оценки различий между числом АОК, определяемым разными методами при иммунизации одной и той же дозой антигена.

различаются ($P < 0,001$), при этом F₁ гибриды занимают промежуточное положение.

Установлено, что стимуляция В-лимфоцита антигеном при соответствующих условиях приводит к развитию клона плазматических клеток, причем пролиферация и образование антител некоторое время идут параллельно, так что АОК могут находиться на разных стадиях развития, образуя ряд, начинающийся лимфобластами, не имеющими отчетливой эндоплазматической сети, и заканчивающийся полностью сформированными плазматическими клетками. Изучение клеток, находящихся в центре гемолитических «бляшек», с помощью электронного микроскопа показало, что они весьма полиморфны и различаются по способности накапливать в цитоплазме синтезируемые антитела [7].

Инкубация клеток с ЭБ в жидкой среде (метод Cunningham) создает, вероятно, более благоприятные условия для секреции антител, их диффузии в окружающее клетку пространство, фиксации на эритроцитах, а также действия комплемента. При определении АОК в агаре из-за значительной вязкости среды все эти процессы могут тормозиться. Так, диффузия антител — белков с большой молекулярной массой будет замедлена. Вследствие этого вокруг АОК в агаре может создаваться повышенная концентрация антител, что может ингибировать дальнейшее освобождение антител из клетки в агар и тормозить их синтез по принципу обратной связи. Следовательно, АОК, выявляемые методом Jerne, могут характеризоваться «запасами» антител или более активным их синтезом, продолжающимся в культуре *in vitro*, а также, возможно, продукцией антител, различающихся по авидности, способности фиксировать комплемент и т. д. Таким образом, клетки, выявляемые методом Cunningham, могут представлять более разнообразную популяцию антителопродуцентов, куда входят и зрелые плазматические клетки, и пролиферирующие лимфоциты, способные производить антитела, но характеризующиеся недостаточной интенсивностью процессов их синтеза и не выявляемые поэтому методом Jerne.

В пользу предположения о большей зрелости АОК, определяемых в агаре, свидетельствуют данные, полученные при изучении иммунного ответа на высокие дозы антигена.

Показано, что при иммунизации животного большими количествами ЭБ иммунокомпетентные предшественники вступают на путь летальной дифференцировки с превращением в не пролиферирующие АОК [9], что может быть обусловлено подавлением делящейся популяции антителопродуцентов антигенспецифическими Т-супрессорами [1].

Мы определяли количество АОК двумя методами в селезенке гибридов F₁(СВА×С57BL/6) после введения иммуногенной и толерогенной

доз ЭБ. Полученные данные приведены в табл. 2. Оказалось, что при использовании иммуногенной дозы у гибридов F₁(DВА×С57ВL/6) методом Cunningham определяется в 2 раза больше АОК, чем методом Jerne. После введения толерогенной дозы оба метода выявляют одинаковое количество АОК.

Таким образом, предположение о том, что методом Cunningham можно определить большую часть АОК, включая делящиеся клетки на начальных стадиях дифференцировки, в то время как метод Jerne, очевидно, позволяет выявить более зрелые АОК, приводит к выводу о разном характере развития иммунного ответа у животных высоко- и низкоотвечающих линий. Высокорезагирующая линия характеризуется широким развертыванием ответа с активными процессами пролиферации клеток клона. У низкоотвечающей линии процессы дифференцировки преобладают над пролиферативными, возможно, в связи с большей активностью системы Т-супрессоров. Гибриды наследуют промежуточный тип, демонстрируя более развернутую реакцию, чем мыши со слабым ответом, но уступая мышам высокоотвечающей линии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атауллаханов Р. И., Сидорович И. Г., Нажмитдинов А. М. — В кн.: Регуляторные клетки иммунной системы. М., 1978, с. 29—76.
2. Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика. М., 1976.
3. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Батырбеков А. А. — Бюлл. exper. биол., 1976, № 3, с. 335—337.
4. Хаитов Р. М., Батырбеков А. А. — Там же, 1975, № 2, с. 84—86.
5. Cunningham A. J. — Nature, 1965, v. 207, p. 1106—1107.
6. Cunningham A. J., Szenberg A. — Immunology, 1968, v. 14, p. 599—600.
7. Harris T. N., Heimmeler K., Harris S. — J. exp. Med., 1966, v. 123, p. 161—171.
8. Jerne N. K., Nordin A. A. — Science, 1963, v. 140, p. 405.
9. Sterzl J. — Nature, 1966, v. 209, p. 416—417.

Поступила 10/IV 1980 г.

HETEROGENEITY OF ANTIBODY-PRODUCING CELLS IN MOUSE STRAINS WITH HIGH AND LOW RESPONSIVENESS. O. T. Kudaeva, V. P. Lozovoi, V. A. Kozlov

After the immunization of mice, belonging to strains with high and low responsiveness, the number of antibody-producing cells (AFC) in their spleen was determined by 2 local hemolysis methods: in agar by the method of Jerne and Nordin and in the liquid phase by the method of Cunningham and Szenberg. In the mouse strains with low responsiveness both methods, used simultaneously, were shown to indicate the same number of AFC, whereas in the mice with the strong type of response the method of Cunningham and Szenberg allowed to detect a greater number of AFC than the method of Jerne and Nordin. This fact suggests that AFC, detected by different methods, differ in their characteristics and in the stage of their differentiation.