

012.017
Г/150

ГРАФИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ В ИММУНОЛОГИИ

В.Г. Галактионов



В.Г. Галактионов

012.012
Г150

ГРАФИЧЕСКИЕ
МОДЕЛИ
В ИММУНОЛОГИИ



МОСКВА, «МЕДИЦИНА», 1986

ББК 52.5
Г15
УДК 612.017.1-087.2

Рецензенты: Н. Г. Хрущов — чл.-кор. АН СССР, Н. Г. Арцимович — д-р
мед. наук, проф.

Галактионов В. Г.
Г15 **Графические модели в иммунологии.**— М.: Медицина,
1986.— 240 с., ил.

Книга содержит рисунки и таблицы, назначение которых представить основные положения современной иммунологии в наиболее доступной, легко воспринимаемой, форме. Графический материал касается ряда проблем общей иммунологии. Рассмотрены вопросы природы антигенности и иммуногенности, структуры, функции и генетики иммуноглобулинов, клеточной организации иммунной системы, взаимодействия клеток, генетики иммунного ответа, онто- и филогенеза иммунной реактивности, причин разнообразия антигенов.

Книга адресована иммунологам и биологам различных специальностей.

Г $\frac{410600000-336}{039(01)-86}$ 84—86

ББК 52.5

ПРЕДИСЛОВИЕ

Нет необходимости особо заострять вопрос о месте и значении современной иммунологии в системе биологических и медицинских знаний. Специалисты знают, а неспециалисты чувствуют, чем богато данное научное направление. Отражением вполне конкретных достижений иммунологии является выход в свет большого числа монографий, сборников статей, учебников, фундаментальных аналитических обзоров по самым различным вопросам иммунологии.

Приступая к работе над монографией, автор исходил из желания представить основные главы общей иммунологии по возможности в наиболее удобной для восприятия форме, каковой, по его мнению, является форма графического образа. Смысл подготовки предлагаемой книги можно определить парафразой известного правила: лучше один раз увидеть, чем сто раз прочитать. Думается, что графическая форма «рассказа» о механизмах иммунитета будет особенно полезна научной молодежи и исследователям, чьи интересы имеют к иммунологии лишь косвенное отношение.

Книга содержит 4 раздела: «Молекулярная иммунология», «Клеточная иммунология», «Сравнительная иммунология» и «Теории иммунитета». В каждом из разделов включены главы, которые, по нашему мнению, являются наиболее значимыми для понимания явлений иммунологической защиты. Весь графический материал книги по его составу можно условно разделить на три группы. В первую группу входят рисунки или схемы, полностью заимствованные

из определенных публикаций. В таких случаях в конце подписи к рисунку прилагается ссылка на первоисточник. Вторая группа, в которой собрано основное количество графического материала, включает оригинальные, подготовленные специально для данного издания рисунки. В легенде к таким рисункам указываются публикации, послужившие источником для их графической переработки. Третья группа состоит из графического материала без указания литературного источника. Связано это с тем, что рисунки этой группы представляют собой либо общепринятое графическое выражение, либо отражают авторскую трактовку какого-либо иммунологического явления, либо являются результатом интеграции нескольких частных положений, синтезированных автором в одно целое.

При подготовке книги к печати автор постоянно ощущал внимание и заботу со стороны прекрасных советских иммунологов А. А. Ярилина, Т. В. Анфаловой и микробиолога Т. К. Корневой. Приношу им свою искреннюю, неотягощенную какими-либо конъюнктурными соображениями, благодарность, всегда помня их помощь и поддержку. Поскольку данная книга представляет собой первый опыт подобного рода, то в ней возможны различного рода недоработки, неудачная форма представления материала и т. п. Автор будет признателен всем, кто выскажет свои критические замечания, направленные на повышение информативности и практической полезности издания.

ВВЕДЕНИЕ

В развитии любой науки, как впрочем и в развитии иных общественных институтов, имеется по крайней мере три «возрастных» периода. Первый из них — это период подъема, «молодости» научного направления, которое питается надеждами на существенные свершения в будущем. Второй — период достижения некоторого в той или иной степени высокого уровня научных знаний, то состояние в движении науки, которое определяет ее «зрелость». И, наконец, имеется неизбежный период «старости» научного направления, приостановки его существенного развития, стабилизации научных знаний, ожидания новых идейных и экспериментальных импульсов. По отношению к иммунологии как одной из лидирующих в настоящее время биологических дисциплин кажется очевидным, что к концу 50-х — началу 60-х годов она преодолела первый, столетний, этап своего развития и в настоящее время находится на втором, наиболее полноценном и продуктивном, этапе. Думается, что характерной чертой второго этапа является стремление ученых перейти от накопления фактов к их обобщению, к широкой теоретической трактовке фактологического багажа с тем, чтобы вновь добывать то, что неизвестно.

В 1959 г. М. Ф. Burnet выдвинул клонально-селекционную теорию иммунитета, получившую всеобщее признание, и определил иммунитет как ту систему организма, которая направлена на поддержание генетической целостности клеточного состава живых существ [Burnet M. F., 1971]. Иммунология стала рассматриваться не как раздел инфекционной патологии, а как самостоятельная немедико-биологическая дисциплина. Именно с этого момента иммунология взошла на свою высоту и идет дальше по достигнутому плато. Как долго она будет находиться на этом уровне, неясно. Известный иммунолог N. Jerne называет контрольный срок — 2019 г., когда с помощью всего арсенала иммунологических знаний будет побежден рак. Вряд ли можно с такой хронологической точностью говорить о тех или иных свершениях в науке. Однако ясно другое: именно на настоящем уровне развития следует ожидать

новых крупных обобщений и практических выходов в иммунологии. Иммунологи осознают, что им необходимо ответить на ряд непростых вопросов. Каким образом крайне сложный, многофакториальный механизм защиты, содержащий астрономическое количество специфических клеточных клонов, целый набор классов и подклассов иммуноглобулинов, несколько функционально различных субпопуляций лимфоцитов, десятки медиаторов иммунитета, действует как единое целое? Что является центром управления всей системы иммунной защиты? Каким образом включаются только те звенья иммунитета с необходимой напряженностью и поразительной специфичностью, которые требуются именно в данный момент и в данном месте? Атмосфера вокруг иммунологии насыщена предчувствием новых серьезных обобщений. Она ждет «своего Бернета», и это ожидание питается тем фактологическим материалом, которым так богата современная наука о борьбе с чужеродностью.

Основу фундаментальных исследований в иммунологии составляют два главных направления — молекулярная и клеточная иммунология. Понятно, что между ними нет четкой границы, поскольку каждый раз решается определенный вопрос, ответ на который можно получить только при всестороннем изучении как клеточных, так и молекулярных механизмов, действующих в том или ином иммунологическом явлении. Так, изучение проблемы антигенного распознавания, с одной стороны, требует полноценной информации о структурной организации антигенраспознающих рецепторов, строения их антигенсвязывающего центра, конформационных изменений при взаимодействии с антигеном. С другой стороны, необходимо знать, с каким типом клеток связаны эти рецепторы (Т- или В-лимфоциты) или с какой субпопуляцией этих клеток (Т-хелперы, Т-киллеры и т. д.). Какова реакция отдельной клетки на акт взаимодействия антигенраспознающего рецептора с антигенной детерминантой? Каким образом антигенраспознающие рецепторы обеспечивают процесс взаимодействия клеток при реализации иммунного ответа? Все эти и другие вопросы изучаются на клеточном уровне. Всестороннее понимание механизмов антигенного распознавания как раз и складывается из знания молекулярных и клеточных форм реагирования.

Один из основных разделов молекулярной иммунологии включает анализ антигенов — чужеродных для данного индивидуума веществ. Антиген как первопричина развития иммунного процесса интересовал иммунологов с тех давних пор, когда зародились

иммунологические исследования. Однако только благодаря усилиям К. Landsteiner (1944), который использовал в качестве антигенного материала простые химические группировки — гаптены, сложились условия для истинно научного анализа природы антигенной специфичности, понимания явлений антигенности и иммуногенности. Совсем недавно в связи с открытием явлений клеточной кооперации при развитии иммунного ответа обнаружены не известные ранее свойства антигенных веществ. Это — их тимусзависимость и тимуснезависимость. Тимусзависимые антигены способны включать в работу В-клетки только при одновременной стимуляции Т-хелперов. В то же время тимуснезависимые антигены провоцируют процесс пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов без дополнительной помощи со стороны Т-лимфоцитов [Ляшенко В. А., Воробьев А. А., 1982; Basten A., Howard J. G., 1973].

С понятием антигенной специфичности связана еще одна большая и разносторонняя проблема, которая рассматривает антиген в качестве биологического маркера. Изучение антигенных свойств клеток, тканей, органов и жидкостей организма в процессе индивидуального и исторического развития живых форм оказалось достаточно информативным при решении вопросов клеточной дифференцировки тканей и морфогенеза, генетики популяции, филогенетических отношений в мире животных. Первые попытки использовать серологические методы исследования, вскрывающие антигенные свойства белков сыворотки крови, были предприняты в начале века американским исследователем N. Nattoll (1904) при решении вопросов филогенетических отношений у приматов и К. Landsteiner (1901) при изучении группового деления людей по эритроцитарным антигенам, что привело к открытию первой группы крови — АВ0. В последующем серологический анализ был широко использован при изучении других групп крови, а также систем гистосовместимости у животных и человека. Это направление исследований привело к формированию представлений об антигенной индивидуальности каждой особи вида [Medawar P., 1957; Snell St. et al., 1976].

Особое место в иммунологии занимает проблема структуры, функции и генетического контроля структуры иммуноглобулинов. За двадцатипятилетний период изучения структуры иммуноглобулинов выяснены многие уникальные свойства этой группы белковых молекул. Первое и наиболее существенное из них — это крайняя изменчивость иммуноглобулинов. В организме нет ни одного

класса полимерных молекул, которые характеризовались бы подобным качеством. Размах изменчивости иммуноглобулинов по расчетам разных авторов колеблется от 10^4 до 10^6 или даже 10^7 . Изменчивость, как это в настоящее время полностью доказано, касается только первых 110—120 аминокислотных остатков. Остальная же часть полипептидной цепи характеризуется определенной стабильностью. В целом иммуноглобулины имеют по крайней мере два признака: гетерогенность и вариабельность. Гетерогенность выражается в делении иммуноглобулинов одной специфичности на классы, подклассы, типы, аллотипы, т. е. это особенности, связанные с константной частью молекулы. В то же время вариабельность есть то свойство иммуноглобулинов, которое определяет их специфичность как антител. Антитела одного класса, но разной специфичности отличаются друг от друга по последовательности аминокислот в N-концевой части молекулы. Существенным достижением последних лет является выяснение пространственной организации как всей молекулы иммуноглобулинов (организации полипептидной цепи в домены — замкнутые сферы), так и в особенности антигенсвязывающего участка (активного центра). Установлена конкретная стереохимическая конфигурация этого участка, меняющаяся от белка к белку в зависимости от специфичности иммуноглобулинов.

Уникальность иммуноглобулинов связана не только с их структурными особенностями, но и с характером генетического контроля этой структуры. Предположение W. J. Dreyer и J. C. Bennet (1965) об участии двух генов в определении структуры иммуноглобулинов — один для вариабельной части (V-ген) и один для константной (C-ген) — нашло прямое подтверждение в экспериментах по рекомбинации генетического материала для иммуноглобулинов [Сидорова Е. В., 1982; Sakano H. et al., 1979, 1980].

При изучении иммунной системы как целого необходимо знать ее морфологические границы и установить те факторы, которые определяют свойственные только этой системе функциональные проявления. Собственно функциональная нагрузка в данном случае очевидна и отражена в самом названии системы. Вопрос заключается в другом: является ли система иммунной защиты полностью самостоятельным компонентом организма или же она представляет собой соподчинение кроветворной системы. Для того чтобы иммунную систему вывести в самостоятельный ранг, необходимо определить признаки, которые свойственны исключительно этой системе и не перекрываются с другими морфофунк-

циональными особенностями организма. Критерии, используемые в подобных случаях, являются общими для определения любой системы организма и должны касаться ее молекулярной, клеточной и органной самостоятельности.

Констатация того очевидного факта, что основным продуктом системы является иммуноглобулин, еще не свидетельствует о самостоятельности системы в целом. Клетки, обеспечивающие продукцию иммуноглобулинов, могут выполнять и иные функции, такие, например, как регуляция метаболизма, регенерация, транспорт веществ и т. д. И в этом последнем контексте необходимо определить, какая из функций является доминирующей. Если удастся показать, что основная функция — иммунная, вопрос естественным образом снимается. Если же обеспечение иммунной защиты представляется свойством, вторично приобретенным в процессе эволюции, то разговор о самостоятельности иммунной системы лишается смысла. Пожалуй, наиболее доказуемая информация об автономии системы иммунологической защиты пришла не из молекулярной иммунологии, а из тех разделов науки, которые заняты изучением клеточных и органных основ иммуногенеза. Ряд наиболее веских аргументов, позволяющих говорить о самостоятельности иммунной системы, об отсутствии перекреста с кроветворной системой, представляется следующим образом.

1. На молекулярном уровне систему характеризует наличие как специфического продукта — иммуноглобулинов, так и своих собственных, действующих только в лимфоидных органах молекулярных регуляторов. Одним из таких регуляторов является тимозин — фактор, обеспечивающий созревание тимоцитов.

2. Данные по эмбриогенезу иммунной системы указывают на то, что лимфоцит в процессе раннего развития возникает как клеточная форма с функцией распознавания чужеродного материала посредством поверхностных иммуноглобулинов [Decker J., Sercarz E., 1975]. И, наконец, анализ происхождения лимфоцитов в эволюционном ряду демонстрирует корреляцию между филогенетическим возникновением лимфоцита и способностью к специфическому отторжению аллотрансплантата с созданием иммунологической памяти [Duprat P. C., 1964; Cooper E. L., 1976]. Эти данные позволяют говорить о том, что лимфоцит эволюционно возник специально для распознавания и отторжения чужеродного материала.

3. На органном уровне у иммунной системы имеются «свои собственные» органы, в которых осуществляется только лимфопоэз и отсутствуют иные ростки дифференцировки: вилочковая

железа, сумка Фабрициуса (у птиц), лимфатические узлы. Исторически эти органы возникли сразу как специальные морфологические структуры лимфопоэза [Заварзин А. А., 1953; Хрущов Г. А., 1966].

Итак, накопленные данные о механизме реагирования на каждом из уровней организации позволяют выделить лимфоидную систему в качестве полностью самостоятельного структурного образования организма, основная функция которого заключается в обеспечении иммунной защиты. Главное предназначение лимфоидной (иммунной) системы стало очевидным не сразу. Так, до недавнего времени иммунологическая потенция данной системы рассматривалась только как одна из сторон ее функциональной активности наряду с другими, например, регулируемыми метаболизмом или регенерацией проявлениями [Polisar A., 1965]. Однако современные данные о молекулярной организации В- и Т-клеток, гистогенезе лимфоцитов, способности к антигенному распознаванию, онто- и филогенетическом происхождении лимфоидной системы ясно указывают на полную самостоятельность этой системы. Она возникла и развилась специально для осуществления специфической защиты организма от чужеродного материала как эндогенного, так и экзогенного происхождения. Понятия «лимфоидный» и «иммунный» — суть синонимы для определения одной и той же системы [Галактионов В. Г., 1977].

Филогенетическое развитие системы привело к ее совершенствованию, к выработке механизмов, обеспечивающих наиболее эффективную реализацию отдельных проявлений системы. Один из таких механизмов — взаимодействие клеток, приводящее к формированию как клеточного, так и гуморального типов иммунной реактивности. Открытие в середине 60-х годов клеточной кооперации в иммунной системе [Claman H. N. et al., 1966] стало важным событием в иммунологии, определившим основные экспериментальные усилия наших дней. Не менее важным событием явилось обнаружение генов иммунного ответа (I γ -генов) — специфических регуляторов силы иммунных процессов [Петров Р. В., 1978; Venascegraf V., Germain R. N., 1978].

Попытка определить клеточный тип, на котором экспрессируются I γ -гены, привела к созданию моделей кооперации, включающих генетически отличающиеся клеточные формы. Эти модели не только вскрыли конкретные механизмы генетического контроля в иммунной системе, но и позволили говорить о новой группе поверхностных, клеточных структур, контролируемых главной си-

стемой гистосовместимости и обеспечивающих физиологически нормальное, неиммунное взаимодействие клеток. Следствием подобного взаимодействия являются дифференцировка и функциональное созревание клеток лимфоидного ряда. Представления об участии продуктов главной системы гистосовместимости и межклеточных контактах сложились на основании не только данных по неиммунной кооперации генетически отличающихся клеточных форм [Meruelo D., Edidin M., 1980; Dausset J., Contu L., 1980], но и того экспериментального материала, который продемонстрировал возможность преодоления генетического несоответствия между взаимодействующими клетками с помощью мРНК для антигенов гистосовместимости [Галактионов В. Г. и др., 1978; Галактионов В. Г., Горбачева Л. Д., 1980].

Среди широкого круга проблем общей иммунологии особое место занимают вопросы онто- и филогенеза иммунной реактивности. Разработка проблем сравнительной иммунологии определена рядом моментов. Во-первых, изучение явлений иммунитета только у взрослых особей позвоночных животных не в состоянии дать полное представление о механизмах, действующих в некоторых иммунологических явлениях. Например, познание механизмов рекомбинации иммуноглобулиновых генов при образовании единого информационного участка для синтеза соответствующих белков стало возможным благодаря изучению генома эмбриональных (некоммитированных) лимфоцитов при сравнении с коммитированными лимфоцитами взрослых животных. Всестороннее понимание процесса антигенного распознавания также требует сравнительного изучения данного явления от самых примитивных форм жизни, какими являются двухслойные беспозвоночные (кишечнополостные), до высших позвоночных животных (мыши, морские свинки, человек). Во-вторых, сравнительная иммунология несет значительную биологическую нагрузку. Понята и в настоящее время не вызывает каких-либо сомнений роль иммунитета в индивидуальном развитии как фактора, контролирующего генетическую целостность клеточного состава развивающегося организма [Burnet M. F., 1971]. В то же время вопрос о роли специфического иммунитета в прогрессивном историческом развитии животных лишь недавно поднят для экспериментального и теоретического изучения. Данные по филогенезу специфических форм защиты позволяют заключить, что иммунитет явился важным фактором эволюционного прогресса по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток. Без эволюционного становления и со-

вершенствования механизмов иммунитета прогресс в мире животных в сторону увеличения абсолютного количества соматических клеток был бы невозможен [Галактионов В. Г., 1972, 1982]. Именно эти два обстоятельства — участие специфических факторов контроля за генетическим постоянством клеточного состава в индивидуальном и историческом развитии — определяют истинно биологическое содержание иммунологии и ставят эту науку в ранг полноценных биологических дисциплин.

Исходя из всего сказанного выше, было определено и содержание данного издания — представление в графической форме наиболее существенных, по нашему мнению, разделов современной общей иммунологии, касающихся молекулярных, клеточных и сравнительных аспектов изучения иммунной реактивности.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Глава 1. АНТИГЕНЫ

Обращаясь к понятию «антиген», следует различать два аспекта изучения антигена: как участника иммунного процесса и как биологического маркера.

Антигены в качестве индукторов иммунного ответа характеризуются антигенной специфичностью и иммуногенностью. Некоторые вещества (например, простые химические группировки — гаптены) не в состоянии обеспечить провокации иммунного процесса, демонстрируя тем самым отсутствие иммуногенных свойств. В то же время они обладают вполне конкретной антигенной специфичностью, т. е. способностью вступать в реакции взаимодействия с предсуществующими к ним антителами. Для индукции специфического ответа на гаптен необходима его конъюгация с иммуногенным носителем (например, белком) (см. рис. 1). Специфичность антигенной детерминанты (эпитопа) проверяется по реакции взаимодействия с гомологичными и гетерологичными антителами. Достаточно незначительных структурных вариаций в эпитопе, чтобы изменить его специфичность (см. рис. 2 и табл. 1). Большинство биологических макромолекул (белки, полисахариды, нуклеопротеиды и др.) обладает иммуногенными свойствами. Однако способность вызывать специфический ответ зависит от ряда физико-химических особенностей антигенного материала: жесткости молекулярной структуры, уровня катаболизма в организме, размера макромолекул (см. табл. 2), расположения в молекуле иммуногенных детерминант (см. рис. 3). Ответ на иммунологически инертный или слабый антиген можно усилить, конъюгируя его не только с иммуногенным носителем, но и с иммунологически инертным, искусственно синтезированным полимером (см. рис. 4).

По способности включать в иммунный процесс разные популяции лимфоцитов антигены делятся на тимусзависимые и тимуснезависимые (см. рис. 5, табл. 3). Большинство природных антигенов являются тимусзависимыми. Они включают в работу не только В-клетки — продуценты антител, но и Т-хелперы. Одним из характерных свойств тимуснезависимых антигенов является

многократное повторение тех же самых антигенных детерминант в молекуле, что создает условия для «многоочковой» активации В-клеток и запуска процесса антителопродукции в обход Т-клеток. На основании имеющихся данных о структурных и функциональных особенностях антигена нами создан его условный образ (рис. 6).

Антигены в качестве биологических маркеров широко используются для решения вопросов филогении, систематики, популяционной генетики, морфо- и тканегенеза, клеточной дифференцировки (см. рис. 7).

АНТИГЕНЫ КАК ИНДУКТОРЫ ИММУННОГО ОТВЕТА

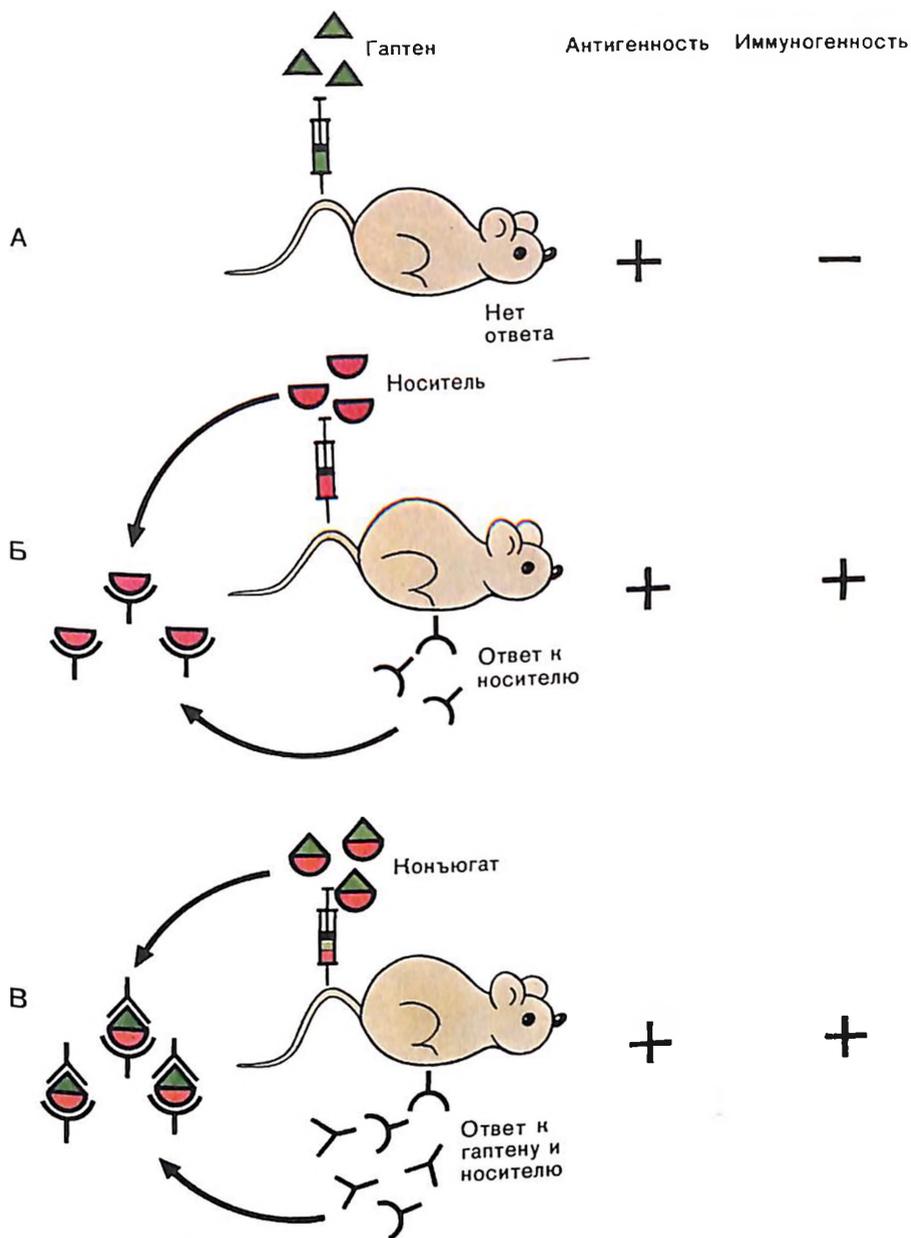
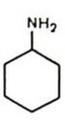
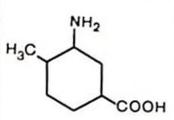
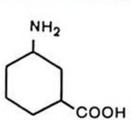
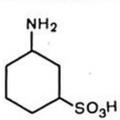
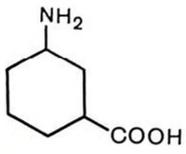
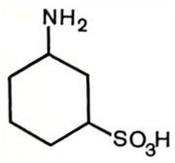


Рис. 1. Понятия антигенности и иммуногенности.

Антигенность — свойство чужеродных для данного организма веществ вступать в реакцию взаимодействия со специфическими к этому веществу антителами или рецепторами лимфоцитов. При этом не подразумевается способность данных веществ вызывать специфическую реакцию организма на чужеродный материал. Под иммуногенностью понимают такое свойство веществ, которое обеспечивает индукцию иммунного ответа. А. Гаптены (простые химические группировки) не в состоянии индуцировать специфический ответ, хотя они и обладают антигенными свойствами — способностью взаимодействовать с предсуществующими антителами. Б. Большинство достаточно высокомолекулярных биологических веществ (белки, полисахариды, нуклеопротеины и др.) являются хорошими индукторами (иммуногенами) специфического ответа. В. Неиммуногенный гаптен, конъюгированный с иммуногенным носителем, способен индуцировать синтез специфических антител или образование клона лимфоцитов, демонстрируя тем самым свойство антигенности (по данным V. Boyd, 1962; F. Haurowitz, 1969; M. Sela, 1974).

Таблица 1. Значение полярных групп и их положения в специфической реакции взаимодействия с антителами [по Bier O. G. et al., 1981]

Антисыворотки против	Гаптены, использованные в реакции преципитации				
					
	0	0	++++	+++	+
	0	0	0	0	+++

Из данных табл. 1 следует:

- доминирующее значение полярных групп COOH и SO₃H в определении специфичности гаптенных;
- влияние на специфичность мета- или пара-положения COOH-радикала;
- отсутствие влияния CH₃-радикала;
- взаимное исключение реакции специфического взаимодействия COOH и SO₃H-групп с соответствующими антителами, когда они находятся в том же самом положении.

Рис. 2. Взаимодействие тринитрофенила (TNP) и динитрофенила (DNP) с гомологичными и гетерологичными антителами.

Взаимодействие TNP (А) и DNP (Б) с активным центром антител основано на принципе взаимной комплементарности. DNP взаимодействует с гетерологичным антителом также эффективно, как и с гомологичным, поскольку полость активного центра анти-TNP оказывается стереохимически достаточной для оккупирования его гаптеном с отсутствующей NO₂-группой (В).

В то же время активный центр анти-DNP не вступает в реакцию с TNP из-за отсутствия пространственного соответствия полости активного центра данному гаптену (Г) (по данным F. Haurowitz, 1969; J-F. Vach, 1982).

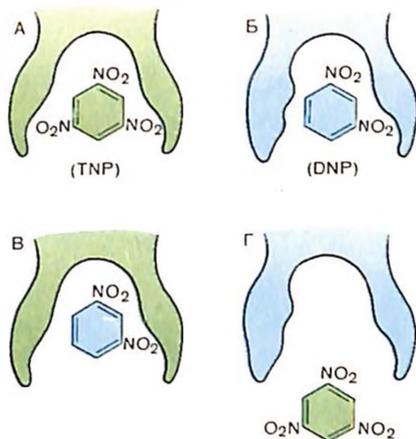
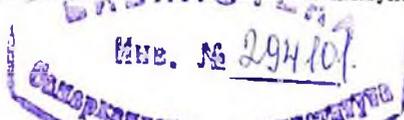


Таблица 2. Корреляция между молекулярной массой антигена и его валентностью (количеством эпитопов, с которыми реагируют специфические антитела) [Kabat E. A., 1968]

Антиген	Молекулярная масса	Приблизительное молярное отношение антитело : антиген в преципитате при крайнем избытке антител
Рибонуклеаза	13 600	3
Овальбумин кур	42 000	5
Сывороточный альбумин лошадей	69 000	6
γ-глобулин человека	160 000	7
Апоферритин лошадей	465 000	26
Тироглобулин	700 000	40
Вирус кустистой карликовости томатов	8 000 000	90
Вирус табачной мозаики	40 000 000	650

Примечание. Поскольку антитела по крайней мере двухвалентны, истинная валентность антигена выше, чем та, которая получается при вычислении молярного отношения антитело : антиген. При всех прочих условиях большая молекулярная масса антигена обеспечивает большую иммуногенность этого антигена (рибонуклеаза — слабый, а вирус табачной мозаики — очень сильный иммуноген).



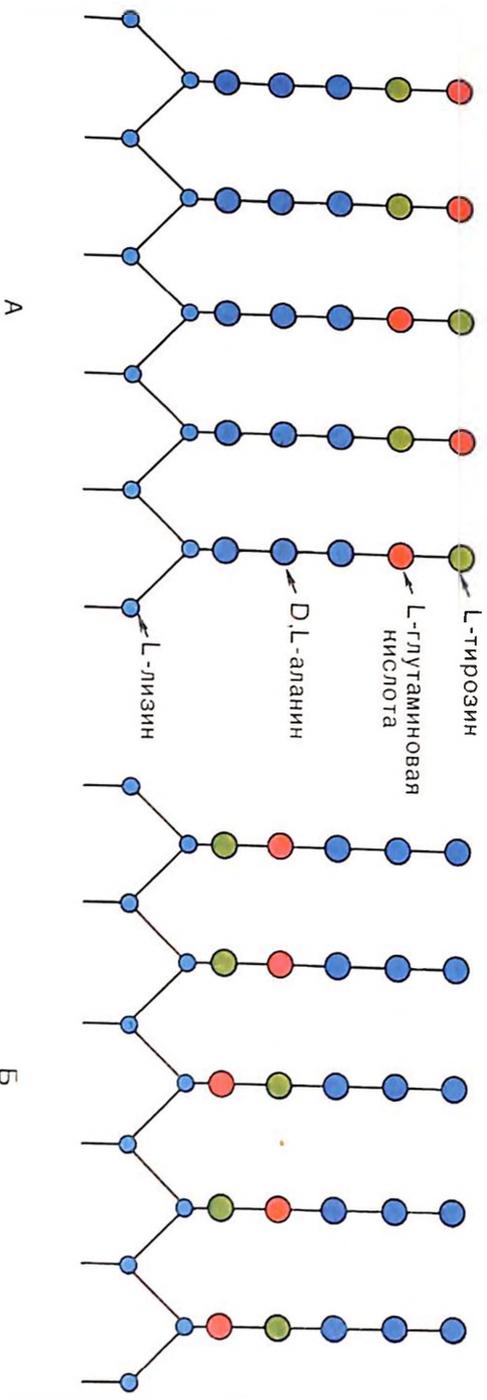


Рис. 3. Влияние расположения в молекуле иммуногенных детерминант на иммуногенность всей молекулы.

В тех случаях, когда L-тирозин и L-глутаминовая кислота расположены на внешних участках боковых цепей синтетического полипептида (Т, G)-A-L (по-литирозин, глутаминовая кислота, аланин, лизин), вся молекула в целом является сильным иммуногеном

(А). В условиях, когда синтез некустарвенных полипептидов осуществляется так, что иммуногенные детерминанты L-тирозина и L-глутаминовой кислоты оказываются внутри боковых цепей, а на внешних участках представлен L-аланин, молекула становится неммуногенной (В). Эти результаты указывают на значение отдельных аминокислот в определении иммуногенности [по Sela M., 1974].

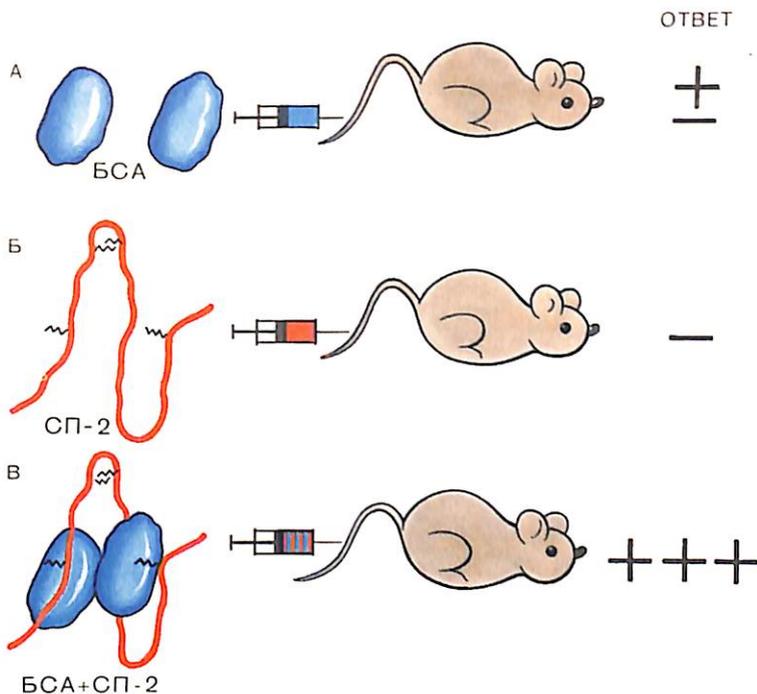
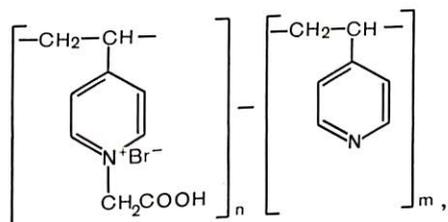


Рис. 4. Усиление иммуногенности антигена при его конъюгации с синтетическим полиэлектролитом.

Неиммуногенные или слабоиммуногенные антигены приобретают способность к выраженной индукции иммунного ответа не только в результате конъюгации с сильными иммуногенными носителями, но и при соединении с неприродными, искусственно синтезированными и неиммуногенными полимерами. Бычий сывороточный альбумин (БСА) — крайне слабый иммуноген (А). Однако его конъюгация с сополимером 4-винилпиридин, 4-винил-N-ацетилпиридиний



бромид (СП-2), который полностью неиммуногенен (Б), приводит к провокации сильного иммунного ответа (В) [Петров Р. В., Хаитов Р. М., Атауллаханов Р. И., 1983].

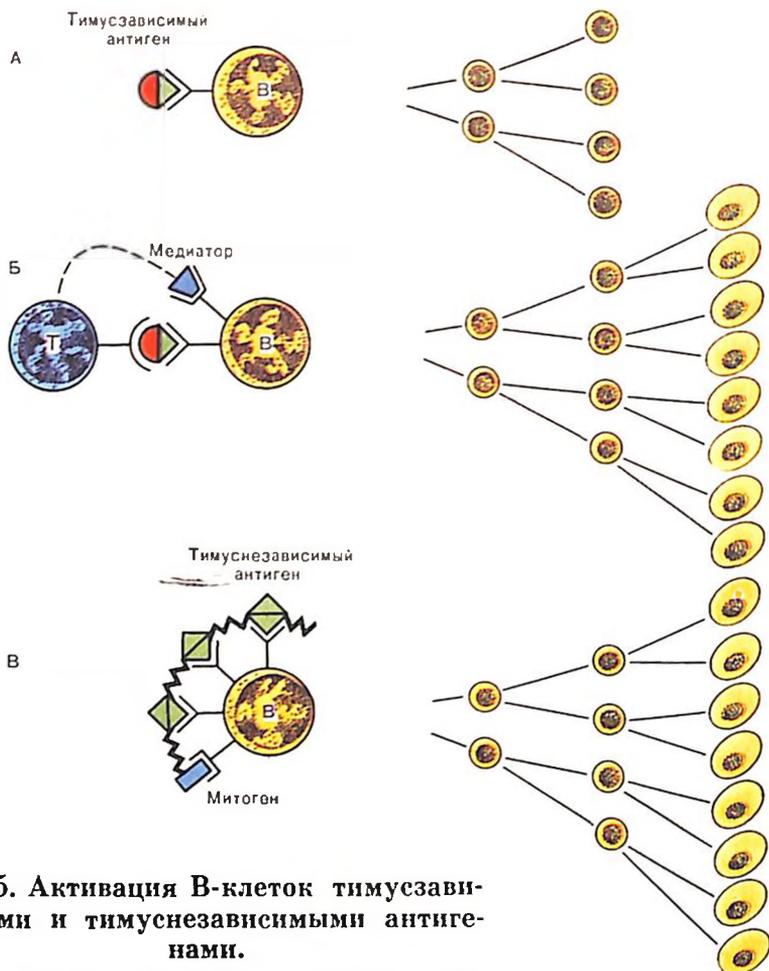


Рис. 5. Активация В-клеток тимусзависимыми и тимуснезависимыми антигенами.

Большинство природных антигенов является тимусзависимыми. Непосредственное их действие на В-клетку приводит к пролиферации соответствующего клона, но не обеспечивает его дифференцировки до зрелых антителообразующих клеток (А). Для полноценного развития клона В-клеток необходим не только специфический сигнал со стороны гаптенной части молекулы антигена, но и неспецифический — со стороны медиатора Т-клеток. Секреция последнего начинается после распознавания «несущей» части антигена (Б). Тимуснезависимые антигены, характеризующиеся многократным повторением тех же самых антигенных детерминант (эпитопов), способны включать В-клетки и обеспечивать их полноценное развитие до конечной стадии антителопродуцентов без помощи Т-хелперов. Для некоторых тимуснезависимых антигенов характерно наличие в структуре их молекулы участков с поликлональной митогенной активностью, что также обеспечивает полноценную активацию В-клеток «в обход» помощи со стороны Т-хелперов (В) (по данным А. Basten, J. G. Howard, 1973).

Таблица 3. Характеристика тимусезависимых антигенов
[по Basten A., Howard J. G., 1973]

Антиген	Сокращение	Структура мономера	Средняя молекулярная масса	Среднее число мономерных единиц	Снижение иммуногенности по мере уменьшения величины полимеризации числа мономерных единиц
Пневмококковый полисахарид	S-111	Целлобиуроновая кислота, глюкозо-глюкуроновая кислота	200 000	500	10
Нативный леван	LE	Фруктоза	20 000 000	111 000	55
Липополисахарид	LPS	Детерминанты олигосахаридов на боковых цепях основного каркаса	10 000 000	Неизвестно	Неизвестно
Поливинилпирролидон	PVP	$ \begin{array}{c} \text{---CH}_2\text{---CH---} \\ \\ \text{N} \\ \quad \quad \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \quad \quad \text{O}=\text{C} \\ \quad \quad \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \quad \quad \text{CH}_2 \end{array} $	360 000	3 200	90
Полимеризованный флагеллин	POL	Белок	10 000 000	300	< 1

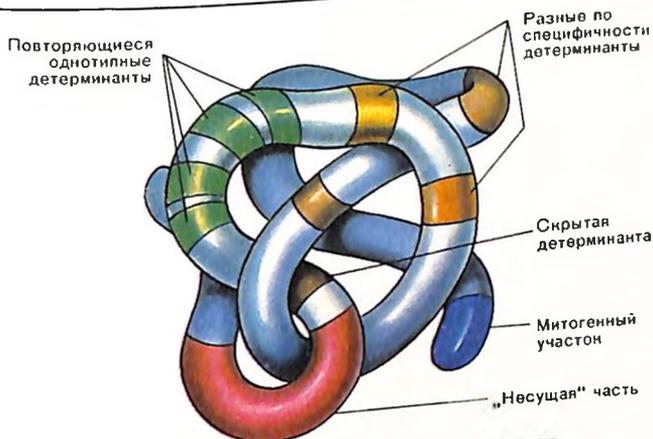


Рис. 6. Условный образ антигена.

Условная полимерная молекула демонстрирует различные функциональные участки, принимающие участие в специфической индукции иммунного ответа.

АНТИГЕНЫ КАК БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

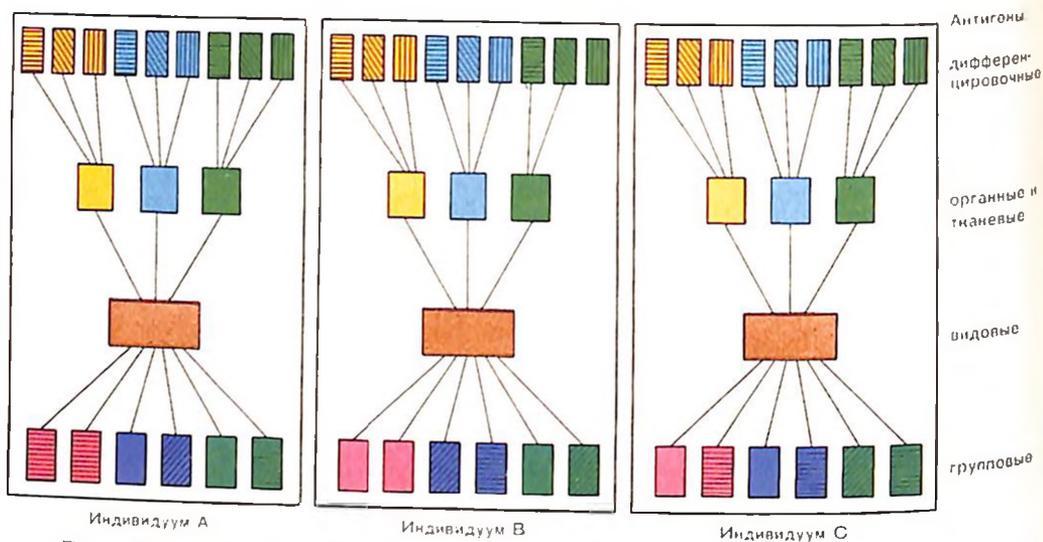


Рис. 7. Карта антигенного спектра отдельных индивидуумов вида. При изучении антигенов как биологических маркеров выявлено несколько типов антигенной специфичности. Видовая антигенная специфичность — серологически выявляемое свойство биологических макромолекул, отличающее один вид от другого; изучение видовых антигенов оказалось полезным при разработке вопросов филогении, систематики, темпов эволюции. Органные и тканевые антигены — специфические структуры отдельных органов и тканей. Дифференцировочные антигены — поверхностные структуры клеток, отражающие либо различные этапы гистогенеза, либо принадлежность клеток к функционально различным популяциям или субпопуляциям клеточных единиц одного гистогенетического происхождения. Групповые антигены — антигены, контролируемые аллельными генами, относящимися к одной из генетических систем. Наиболее полно изучены генетические системы групп крови и главным образом системы гистосовместимости. К аллельным генетическим системам относятся также системы, контролирующие полиморфизм белков. Поскольку гены отдельных систем наследуются, как правило, независимо, то число возможных сочетаний отдельных аллельных генов разных систем у конкретного индивидуума очень велико, что и обеспечивает уникальную антигенную индивидуальность особей вида. На рис. 7 в качестве примера приведены три условные генетические системы, каждая из которых включает всего 2—3 аллельных гена (обозначено одним цветом). Уже столь незначительная выборка позволяет представить такое сочетание отдельных генов трех разных систем, которое обеспечит индивидуальность по антигенным признакам каждой из трех представленных особей вида.

Глава 2. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ: СТРУКТУРА, ФУНКЦИЯ, ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ

При анализе структуры и функции антител (или, что то же самое, иммуноглобулинов — Ig) следует различать два понятия: гетерогенность и вариабельность. Гетерогенность определяет свойства антител, обусловленные константной (C) частью их полипептидной цепи, т. е. теми структурными особенностями, которые позволяют делить всю группу этих белков на классы, подклассы, типы. Гетерогенность подразумевает также различия в функциональных свойствах разных классов и подклассов иммуноглобулинов, за исключением их свойства специфического взаимодействия с антигеном. Вариабельность — это индивидуальная характеристика иммуноглобулинов, относящихся к одному и тому же классу или подклассу. Она проявляется в специфической антигенсвязывающей активности и обусловлена последовательностью аминокислотных остатков в N-концевой части молекулы. Два свойства иммуноглобулинов — гетерогенность и вариабельность — имеют выражение в функциональном дуализме этих белковых молекул (см. рис. 8). Все из известных пяти классов иммуноглобулинов построены по общему плану (см. рис. 9—15). Иммуноглобулины каждого класса обладают своими структурными и биологическими особенностями (см. табл. 4).

Анализ аминокислотной последовательности большого количества отдельных иммуноглобулинов (миеломных белков) позволил разделить вариабельные участки (домены) на группы, подгруппы и индивидуальные V-домены (см. рис. 16). Такая классификация основана на степени гомологии в аминокислотной последовательности между различными V-доменами этих белков. Установлено, что в последовательности аминокислотных остатков вариабельной части иммуноглобулинов имеются как крайне вариабельные, так и относительно консервативные положения (см. рис. 17). Методами рентгеноструктурного анализа продемонстрировано, что гипервариабельные участки V-доменов тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов формируют стенки активного центра (антигенсвязывающей области) антител (см. рис. 18 и 19).

На основании данных о двойственности в строении иммуноглобулинов — наличии вариабельной, меняющейся от белка к белку

в зависимости от специфичности иммуноглобулинов как антител, и константной областей — высказано предположение об участии двух генов (V- и С-гена) в синтезе единой полипептидной цепи. Это предположение нашло подтверждение в несколько усложненной форме при изучении процессов рекомбинации генов, приводящей к образованию единого информационного участка для соответствующих полипептидных цепей иммуноглобулинов (см. рис. 20—24).

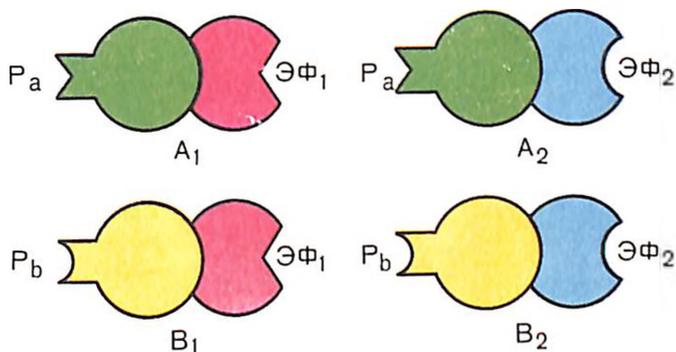


Рис. 8. Функциональный дуализм иммуноглобулинов.

Каждая иммуноглобулиновая молекула имеет полюс, который выполняет функцию распознавания антигена (P_a, P_b и т. д.), и полюс, направленный на осуществление эффекторной, физиологической функции (ЭФ₁, ЭФ₂ и т. д.), не связанной с основной антигенраспознающей характеристикой антител. Две молекулы иммуноглобулина (A₁ и A₂) могут распознавать тот же самый антиген, но при этом иметь разную эффекторную функцию, и, наоборот, иммуноглобулины (A₁ и B₁), распознающие разные антигены, в эффекторном отношении могут быть идентичны [по Fougereau M. et al., 1975].

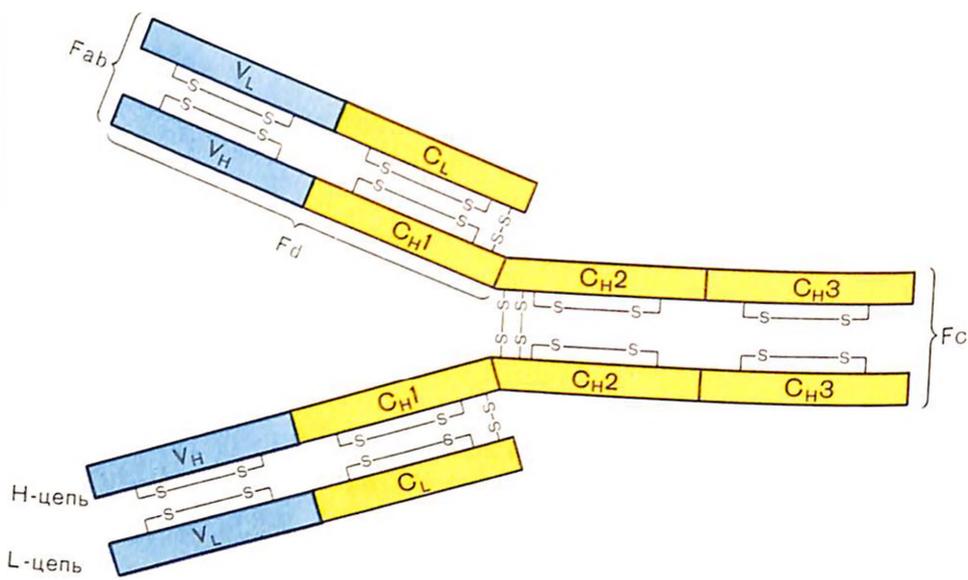


Рис. 9. Строение IgG.

Иммуноглобулины разных классов характеризуются общим планом строения. Это можно проиллюстрировать на примере IgG. Он содержит две тяжелые (H) цепи с молекулярной массой 50 000—70 000 и две легкие (L) цепи с молекулярной массой 22 000—25 000, которые объединены в четырехцепочечную молекулу посредством ковалентных дисульфидных связей (—S—S—). Каждая цепь содержит вариабельную область (соответственно V_L и V_H для L- и H-цепей), от которой зависит специфичность Ig как антител, и константную (C), подразделяющуюся на гомологичные участки C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}. L-цепь имеет один константный участок (C_L). Вся молекула делится на Fab-фрагмент, определяющий специфичность Ig по отношению к антигену, и Fc-фрагмент — хвостовую часть, от которой зависит физиологическая функция Ig.

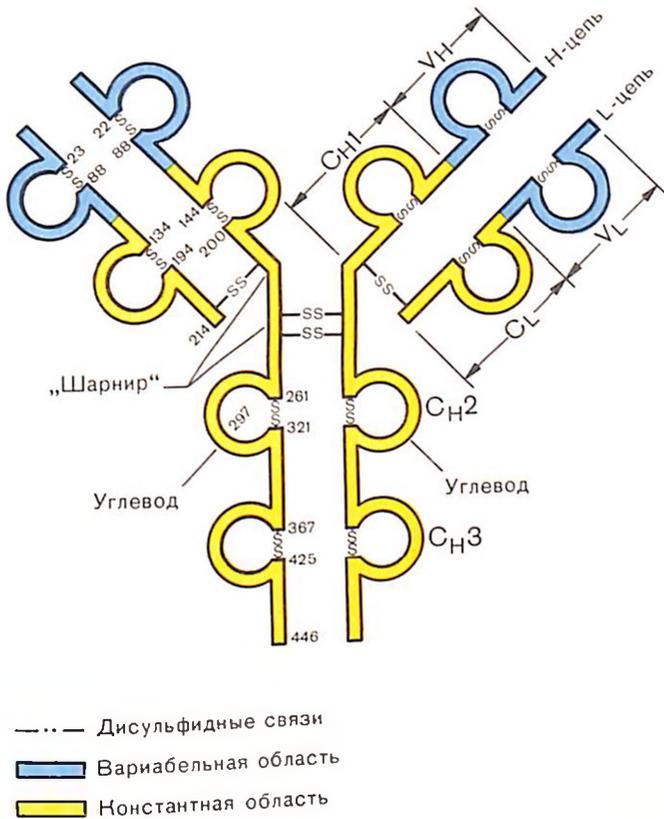


Рис. 10. Линейная периодичность в аминокислотной последовательности IgG.

Изучение полной аминокислотной последовательности IgG позволило выяснить, что L- и H-цепи состоят из повторяющихся доменов (сфер), каждая из которых включает около 100 аминокислотных остатков. Приблизительно 60 из них входит в состав петли, которая образуется за счет —S—S— связи от полуцистеиновых остатков. По 20 аминокислот с каждой стороны оказываются вне петли и служат для соединения с аминокислотными остатками соседних доменов. Номера указывают на последовательность аминокислотных остатков от NH₂-конца. Показано присоединение углевода к CH₂-домену [по Eisen H. N., 1980].

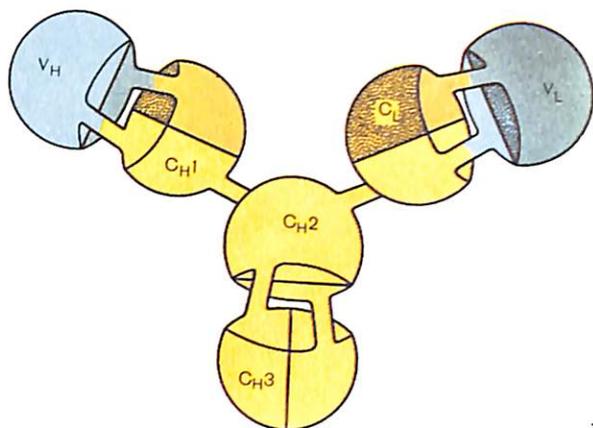


Рис. 11. Пространственная организация IgG.

Организация H- и L-цепей Ig в домены подтверждена на основании данных рентгеноструктурного анализа кристаллического IgG человека [Poljak R. J., 1972].

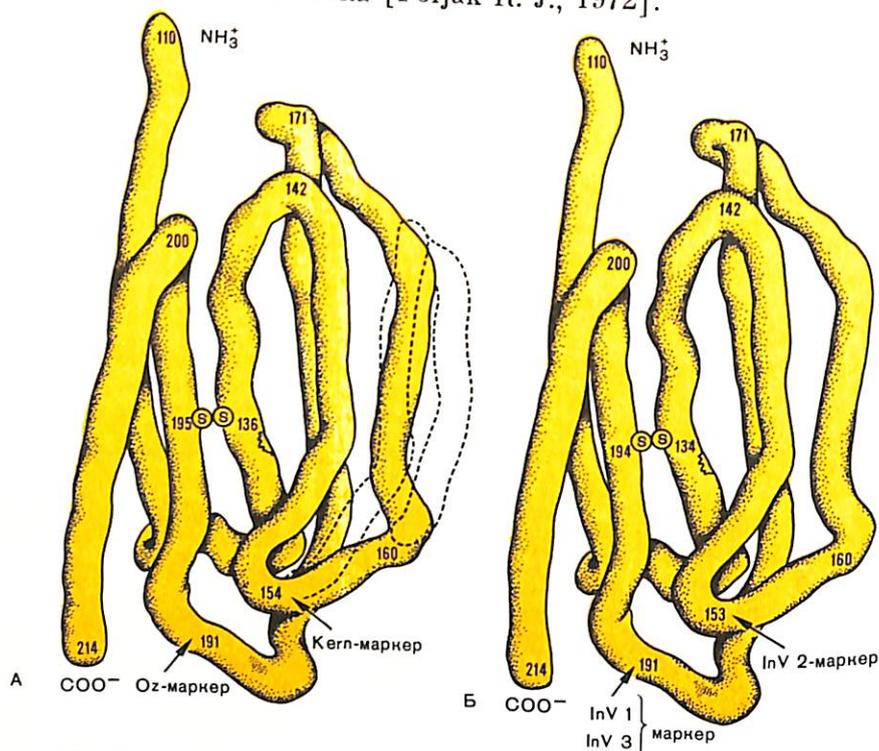


Рис. 12. Упаковка полипептида константного (С) домена λ - и χ -цепей иммуноглобулинов человека.

А — модель С-домена λ -цепи; Б — модель С-домена χ -цепи. Отмечено приблизительное расположение аминокислотных остатков, определяющих изотипические антигены Oz и Kern и аллоантигены InV(Km) [по Poljak R. J., 1975; Поляк Р., 1981].

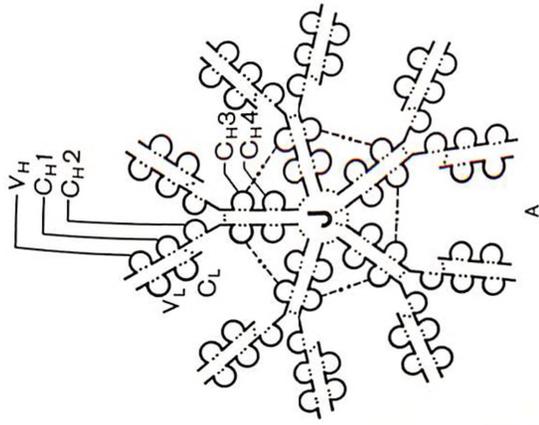
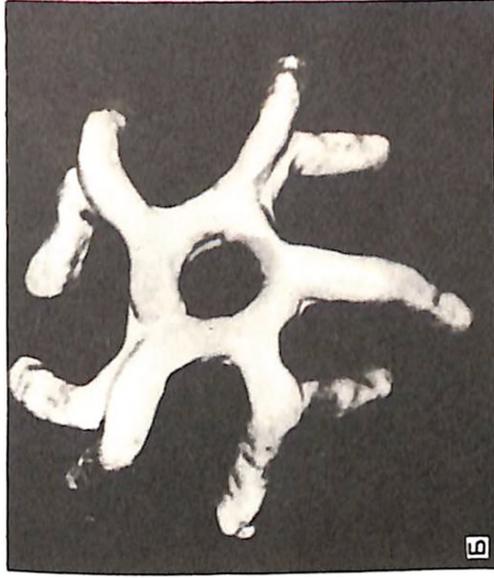


Рис. 13. Структура IgM.

А. Из всех иммуноглобулинов наиболее сложно организован IgM. Он состоит из пяти мономеров, каждый из которых включает четыре полипептидные субъединицы (две H-цепи и две L-цепи). Мономеры объединены в единую пентамерную молекулу дисульфидными связями (—S—S—) и J-цепью. Пунктир обозначает дисульфидные связи. Б и В — модели IgM, построенные на основании данных рентгеноструктурного анализа. Видна гибкость Fab-фрагментов, позволяющая «находить» соответствующие антигенные детерминанты. Молекула IgM имеет десять активных центров (валентностей). Однако полностью они проявляются только при взаимодействии с простыми химическими группировками (гаптенами). С более комплексными антигенами в силу стереохи-



мических особенностей как антигена, так и IgM проявляется не более пяти валентностей. IgM — один из наиболее активных белков в антибактериальном иммунитете [А — по Putnam F. W. et al., 1973; Б, В — по Feinstein A., Munn E. A., 1969].

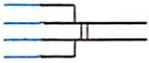
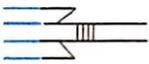
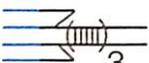
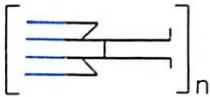
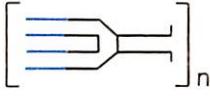
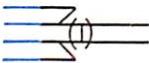
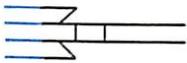
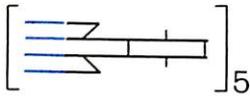
Классы и подклассы		Типы цепей	
		H	L
IgG1		γ_1	κ, λ
IgG2		γ_2	κ, λ
IgG3		γ_3	κ, λ
IgG4		γ_4	κ, λ
IgA1		α_1	κ, λ
IgA2		α_2	κ, λ
IgD		δ	$\kappa < \lambda$
IgE		ϵ	κ, λ
IgM		μ	κ, λ

Рис. 14. Классы и подклассы иммуноглобулинов у человека.

Принадлежность Ig к тому или иному классу и подклассу зависит от характерных особенностей строения H-цепи (количества и последовательности аминокислотных остатков, молекулярной массы, количества доменов и межцепевых дисульфидных мостиков, связывания олигосахаридов и др.). L-цепи имеют два типа: κ и λ . H-цепи независимо от принадлежности к тому или иному классу или подклассу образуют связь либо с κ -, либо с λ -типом. У IgA2 L-цепи не вступают в ковалентную —S—S— связь с H-цепью, но имеют ее между собой [по Hilschman N. et al., 1978].

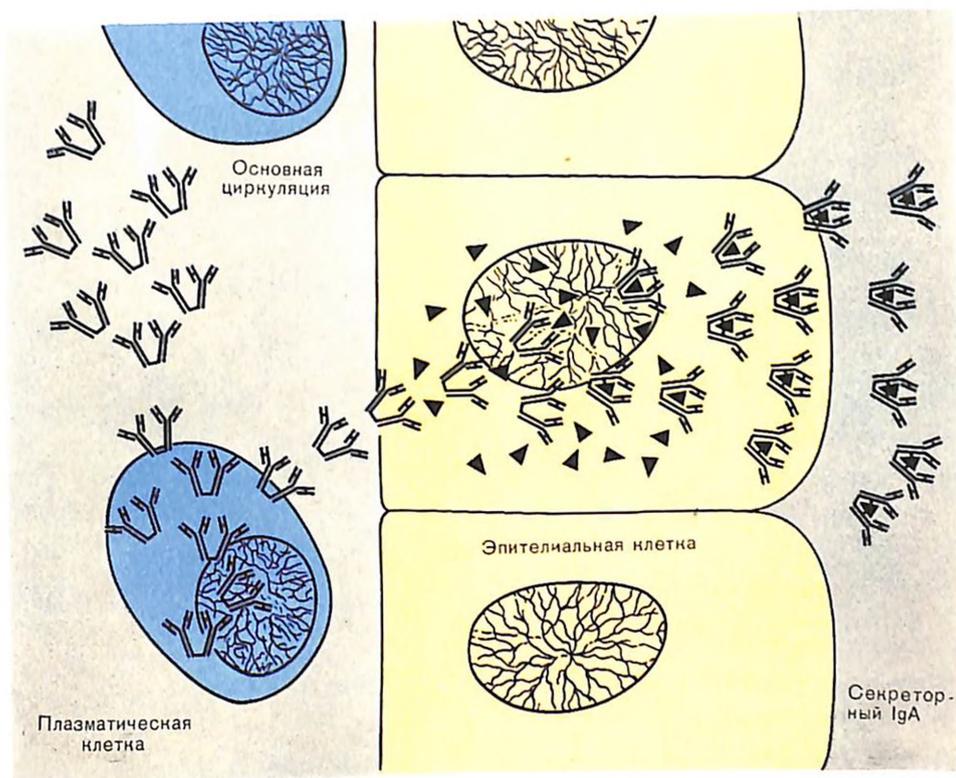


Рис. 15. Синтез и транспорт секреторного IgA.

IgA обычно циркулирует в мономерной (7S) или димерной (9S) форме; встречаются и более крупные объединения — три- и тетрамеры. IgA — основной представитель иммуноглобулинов в секретах организма (слюна, секрет кишечника, слезы, молозиво). Проникая в эпителиальные клетки, IgA образует комплекс с «секреторным фактором», который, очевидно, защищает его от действия гидролитических ферментов и помогает выходу в субэпителиальное пространство. Хотя IgA не связывает комплемент и в силу этого не обладает бактерицидной активностью, очевидно, он играет важную роль в нейтрализации бактериальных токсинов и локализации вирусов, препятствует их проникновению в организм [Tomasi T. B., 1970].

Т а б л и ц а 4. Основные физико-химические и биологические характеристики иммуноглобулинов человека [по Bier O. G. et al., 1981]

Свойство	IgM	IgG	IgA	IgD	IgE
Обозначение: Н-цепи L-цепи	μ χ или λ	γ χ или λ	α χ или λ	δ χ или λ	ϵ χ или λ
Молекулярная формула	$(\chi_2\mu)_5$ $(\lambda_2\mu)_5$	$\chi_2\gamma_2$ $\lambda_2\gamma_2$	$(\chi_2\alpha_2)_n$ $(\lambda_2\alpha_2)_n$	$\chi_2\delta_2$ $\lambda_2\delta_2$	$\chi_2\epsilon_2$ $\lambda_2\epsilon_2$
Количество доменов Н-цепи	5	4	4	4	5
Молекулярная масса, $\cdot 10^3$	900	160	170	185	185
Константа седиментации (S)	19	7	7	7	8
Содержание углеводов, %	11,8	2,9	7,5	1,3	1,2
Концентрация в сыво- ротке, мг/мл	0,9	13,1	1,6	0,12	$0,33 \cdot 10^{-3}$
Изотипы-подклассы	—	$\gamma 1-\gamma 4$	$\alpha 1, \alpha 2$	—	—
Наличие J-цепи	+	—	+	—	—
Аллотипы: Gm Н-цепи Jnv L-цепи	— +	+ +	— +	— —	— —
Лабильность при 56°C	—	—	—	—	+
Резистентность к мер- каптоэтанолу	—	++	\pm	++	—
Синтез, мг/(кг·день)	5—8	28	8—10	0,4	—
Катаболизм, %/день	14	3	12	—	2,5
Агглютинирующая ак- тивность	100	1	—	—	—
Фиксация комплемента	+	+	—	—	—
Транспорт через пла- центу	—	+	—	—	—
Цитофильность к: макрофагам	—	+	—	—	—
лимфоцитам	—	+	—	—	+
К-клеткам	+	+	—	—	—
нейтрофилам	—	+	+	—	—
моноцитам	—	+	—	—	—
тучным клеткам	—	+	—	—	+
Взаимодействие с А-бел- ком стафилококка	—	+	—	—	—
Взаимодействие с ревма- тоидным фактором	—	+	—	—	—

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

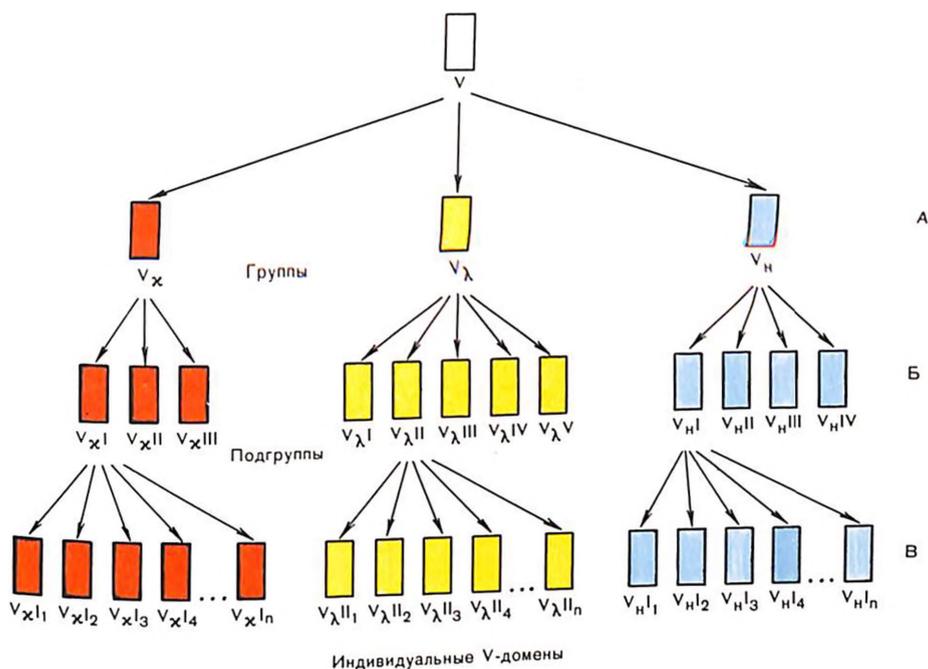


Рис. 16. Классификация V-доменов иммуноглобулинов.

Вариабельность, определяющая специфичность антител при взаимодействии с антигенами, присуща первым 110—120 аминокислотным остаткам как легких, так и тяжелых цепей. Данный участок полипептидной цепи называется V-доменом (в отличие от константных C-доменов). А — V-домены относятся к одной из трех групп: V_{κ} , V_{λ} или V_{η} . V-домены первых двух групп входят в состав соответственно χ - и λ -типов легких цепей. V_{η} является составной частью тяжелых цепей. Б — каждая группа включает в себя ряд подгрупп. V-домены, входящие в состав одной подгруппы, достаточно сходны между собой. Их различия по аминокислотному составу в идентичных положениях не превышают 10—15%. Различия между V-доменами, относящимися к разным подгруппам, выше 15%. В — в каждую подгруппу входит определенное количество индивидуальных V-доменов, число которых неизвестно.

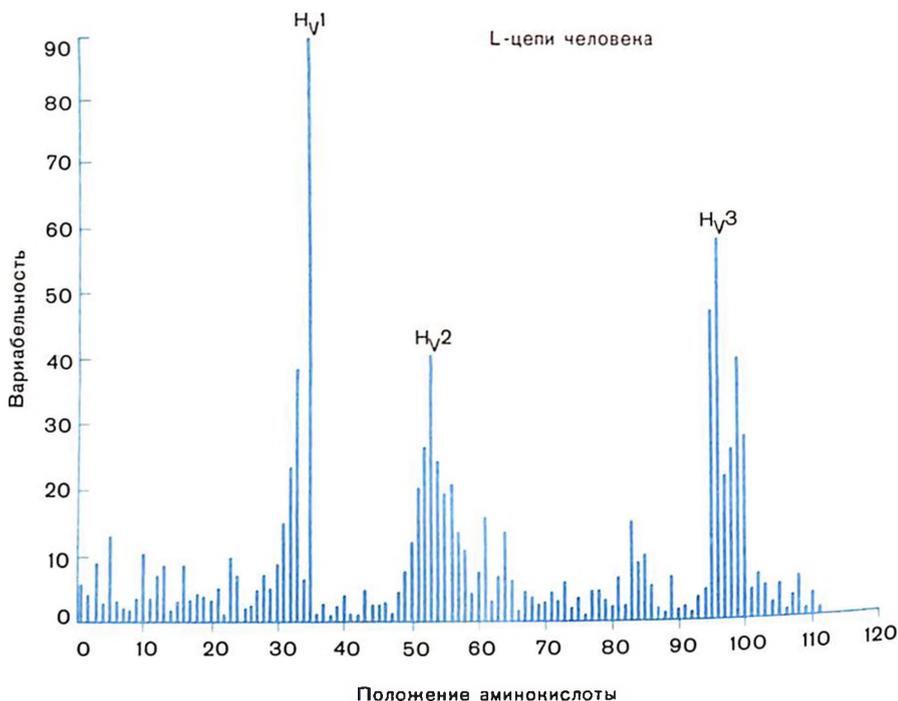


Рис. 17. Гистограмма variability V-доменов L-цепей человека. Размах variability V-доменов иммуноглобулинов очень велик и не встречается ни у одного из изученных до сих пор белков. Так, V-домены H-цепей отличаются друг от друга по 10—60 аминокислотным остаткам. Отличия V_H от V_L составляют до 70 остатков. Однако не во всех положениях V-доменов частота замен одних аминокислот на другие одинакова. В общей линейной последовательности аминокислотных остатков имеются относительно неустойчивые гипервариабельные положения. Величина variability рассчитывается по формуле: $v = n/f$, где v — показатель variability, n — число разных аминокислотных остатков, известное для определенного положения общего числа изученных V-доменов, f — частота отдельных аминокислотных остатков, встречающихся в большем количестве по сравнению с другими. Исходя из того, что молекула белка состоит из 20 аминокислот, максимальная теоретически рассчитанная variability будет равна 400; минимальная (а точнее ее отсутствие) — 1. На гистограмме представлены три известные гипервариабельные участка V-доменов L-цепей (H_{V1} , H_{V2} , H_{V3}) [по Kabat E. A. et al., 1978, цит. по Eisen H. N., 1980].

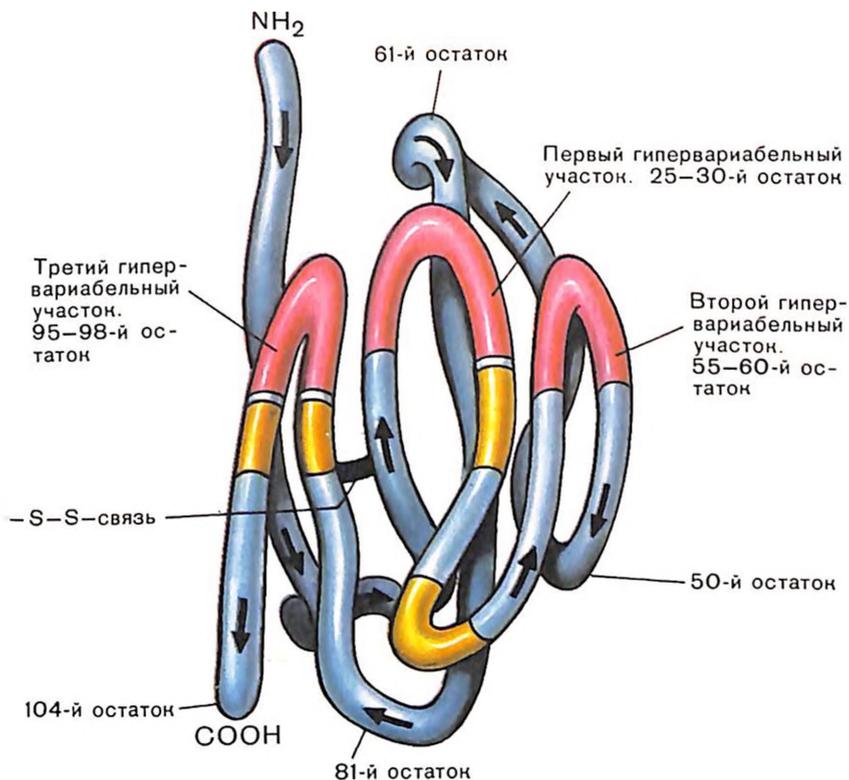


Рис. 18. Пространственная организация V-домена Н-цепи IgG1 человека (миеломного белка New).

Методами рентгеноструктурного анализа установлена пространственная организация V-домена. Упаковка в глобулу полипептида, составляющего V-домен, происходит так, что гипервариабельные участки оказываются в непосредственной близости друг от друга со стороны «внешнего» NH₂-конца. Желтые сегменты — участки цепи, вступающие в контактное взаимодействие с V_L-доменом при образовании антигенсвязывающей области активного центра [по Poljak R. J., 1975].

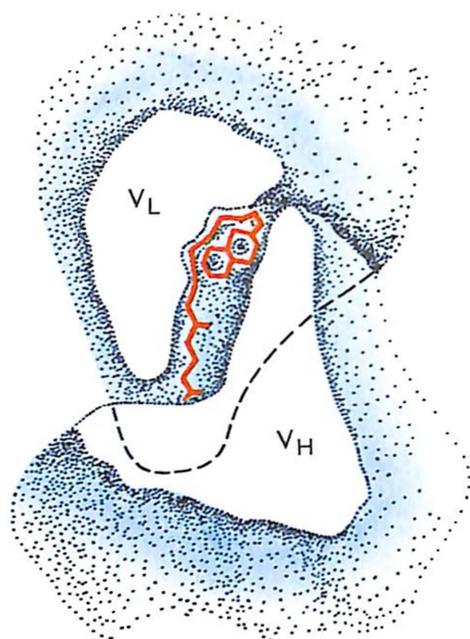


Рис. 19. Антигенсвязывающая область IgG1 (миеломного белка New).

Пример антигенсвязывающей области (активного центра), взаимодействующей с витамином K_1OH . V-домены легкой и тяжелой цепи (V_L и V_H) образуют полость глубиной 0,5—0,6 нм, длиной — 1,6 нм и шириной 0,7 нм. С этой полостью специфически взаимодействует молекула витамина. В большинстве других случаев размеры полости: длина 2,5—3,6 нм, ширина 1,0—1,7 нм, глубина 0,6—0,7 нм. Данные получены методом рентгеноструктурного анализа [по Poljak R. J., 1975].

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ СТРУКТУРЫ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

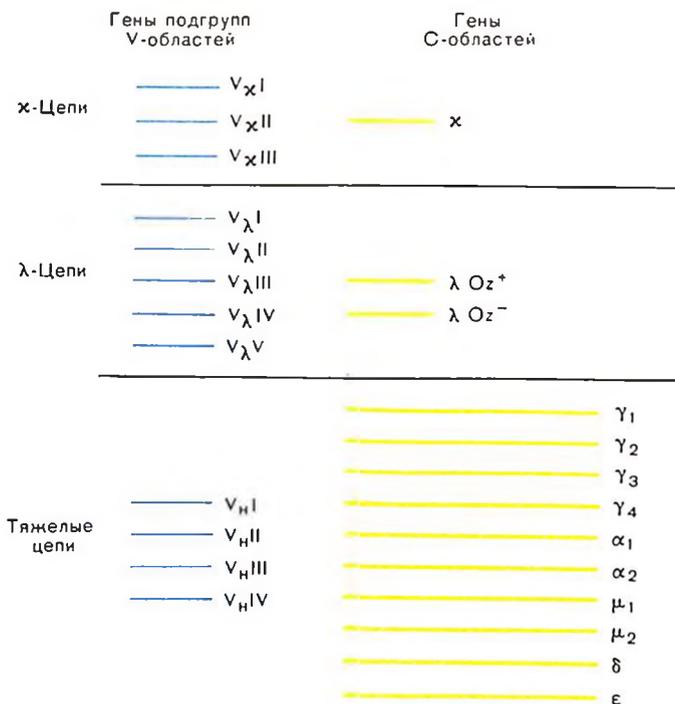


Рис. 20. Группы сцепления генов иммуноглобулинов. Концепция «два гена — одна полипептидная цепь» W. J. Dreyer и J. C. Bennett.

В каждом прямоугольнике отмечены группы сцепления генов для легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов. В каждом конкретном случае один из V-генов вступает во взаимодействие с одним из C-генов, что реализуется в синтезе иммуноглобулинов определенного класса и специфичности. Подобная совместная работа двух V- и C-генов составляет основу концепции «два гена — одна полипептидная цепь» [Fudenberg H. H. et al., 1972].

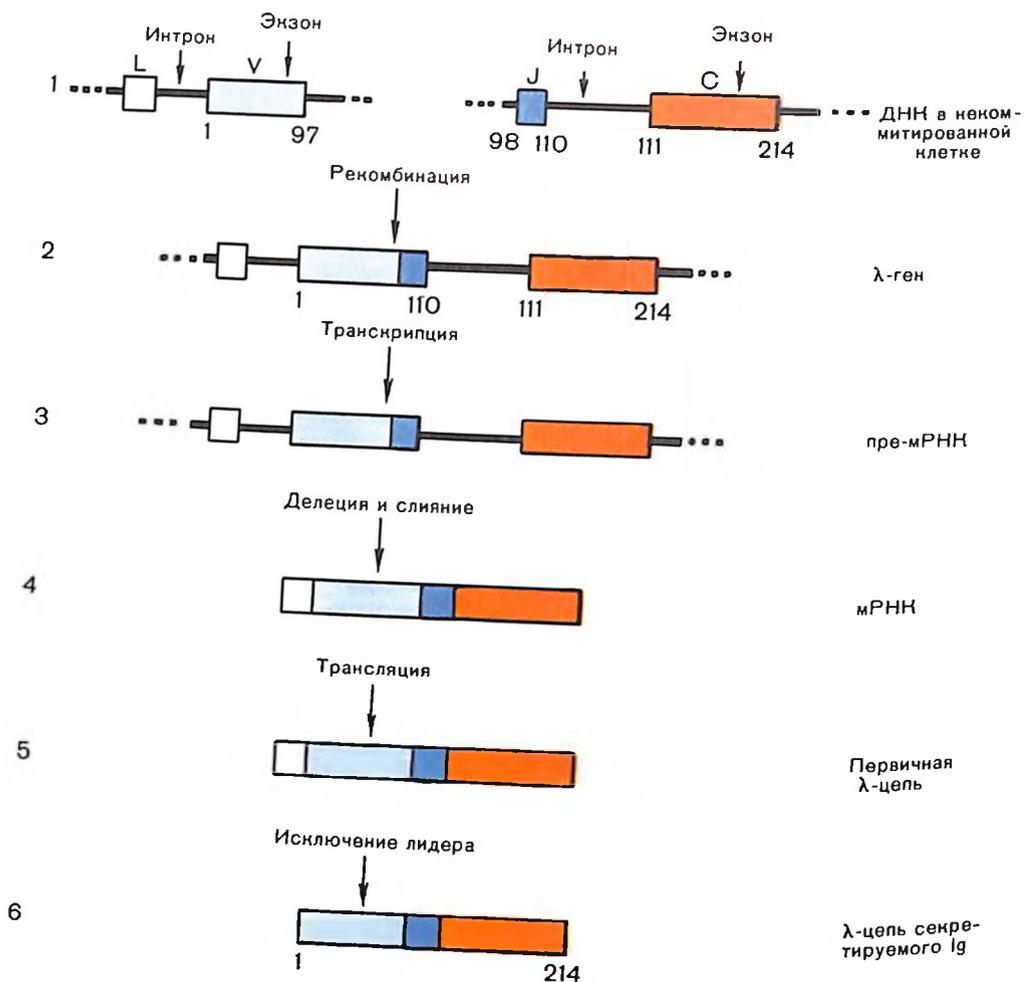


Рис. 21. Рекомбинация генов, кодирующих λ-цепи иммуноглобулинов.

По мере созревания иммуноглобулинсинтезирующих клеток — от эмбриональных (некоммитированных) предшественников до зрелых (коммитированных) антителопродуцентов — происходит реорганизация генома так, что пространственно удаленные сегменты ДНК, кодирующие λ-цепи Ig, оказываются в непосредственной близости, образуя единый информационный участок. Он складывается из четырех экзонов (кодируемых сегментов ДНК) и трех интронных сегментов ДНК). L — сегмент, кодирующий лидерный пептид — участок незрелой λ-цепи, которая включает 20—25 аминокислотных остатков с NH₂-конца. V — сегмент, кодирующий первые 97 аминокислот V-домена. На рисунке обозначен один V-ген, на самом деле их около 20. J — соединяющий сегмент;

он обеспечивает «достройку» V-гена до того количества нуклеотидных остатков, которые способны кодировать все 110 аминокислот

V-домена. С — ген, кодирующий константный домен V-цепи.

1. В некоммутированной клетке J-сегмент удален от V-гена последовательностью нуклеотидов, включающих более 4500 пар оснований, а от С-гена — последовательностью из 1250 пар; число, некодирующих пар оснований между L-сегментом и V-геном равно 93. 2. В коммитированной клетке V-ген и J-сегмент оказываются слитыми в единую информационную структуру за счет делеции (удаления) последовательности пар нуклеотидов, входящих в некодирующую последовательность между V- и J-экзонами. Место рекомбинации V — J не является жестко фиксированным. В процессе соматической реорганизации генома объединение может происходить как между собственно основаниями V- и J-сегментов, так и между основаниями, соседствующими с этими сегментами, что вносит дополнительную изменчивость в 3-й гипервариабельный участок V-домена. Количество пар нуклеотидов между J и С, а также между L и V остается неизменным. 3. Рекомбинантная ДНК коммитированных клеток обеспечивает образование первичного транскрипта — пре-мРНК ядра. 4. В результате процессинга (созревания пре-мРНК ядра) некодируемый участок между J и С вырезается. Таким образом, зрелая, связанная с полирибосомами цитоплазматическая РНК лишена некодирующих последовательностей; при этом все кодирующие последовательности оказываются слитыми в единый транслируемый участок. 5. Зрелая мРНК транслирует полипептид λ -цепи с дополнительным лидерным участком аминокислотных остатков. 6. Предполагается, что лидерный участок, включающий в основном гидрофобные аминокислоты, способствует прохождению λ -цепи через мембрану эндоплазматического ретикула. После этого он отщепляется и зрелая λ -цепь, наконец, приобретает тот аминокислотный состав, который характерен для секретируемого Ig. Цифры обозначают последовательность аминокислотных остатков с NH_2 -конца (по данным Е. В. Сидоровой, 1982; Н. Eisen, 1980; О. G. Bieg и соавт., 1981).

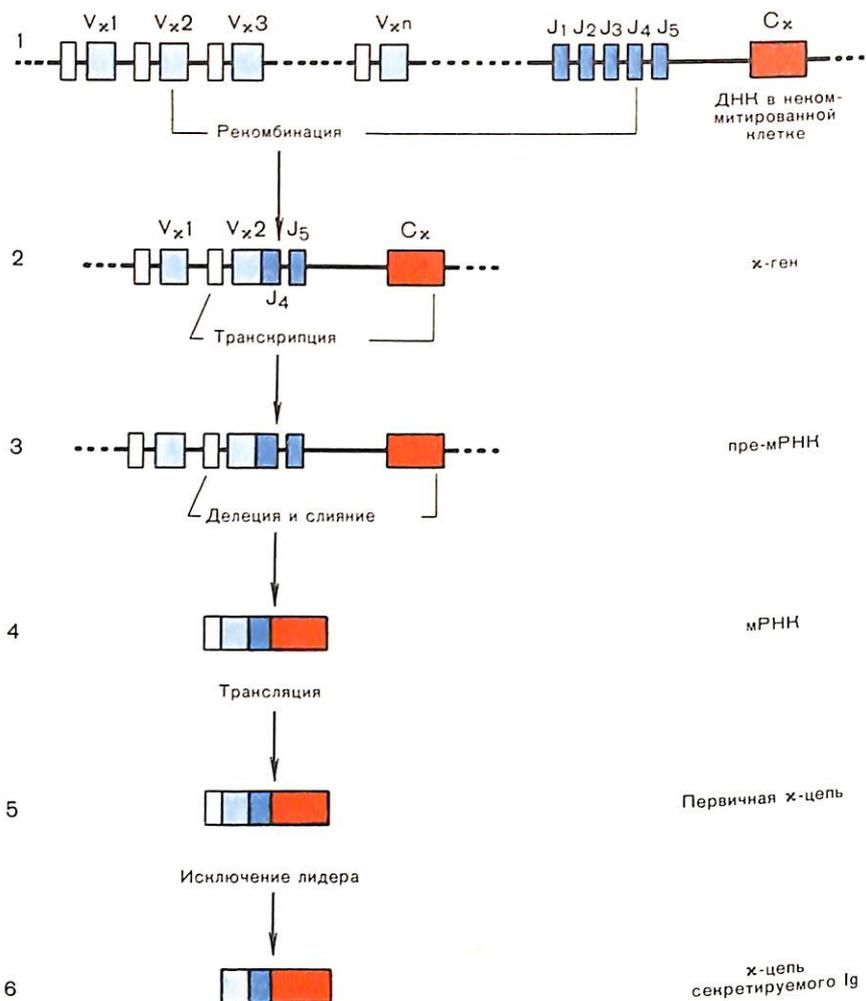


Рис. 22. Рекомбинация генов, кодирующих χ -цепь иммуноглобулинов.

Гены χ -цепи представлены аналогично генам, кодирующим λ -цепи (см. рис. 21). Различия касаются количества V_x -генов (300 V_x в отличие от 20 V_λ) и количества J-сегментов (5 J-сегментов для χ -генов и только один — для λ -генов). При соматической рекомбинации генома некомитированной клетки любой V_x -ген может соединиться с любым из J-сегментов. Поскольку 96-й аминокислотный остаток J-сегмента может быть представлен одной из меняющихся аминокислот, то при слиянии V_x -J вносится дополнительная вариабельность в третий гипервариабельный участок V_x -домена. Имеет место также увеличение вариабельности за счет включения одного из J-сегментов (по данным Е. В. Сидоровой, 1982; Н. J. Eisen, 1980; O. G. Vier и соавт., 1981).

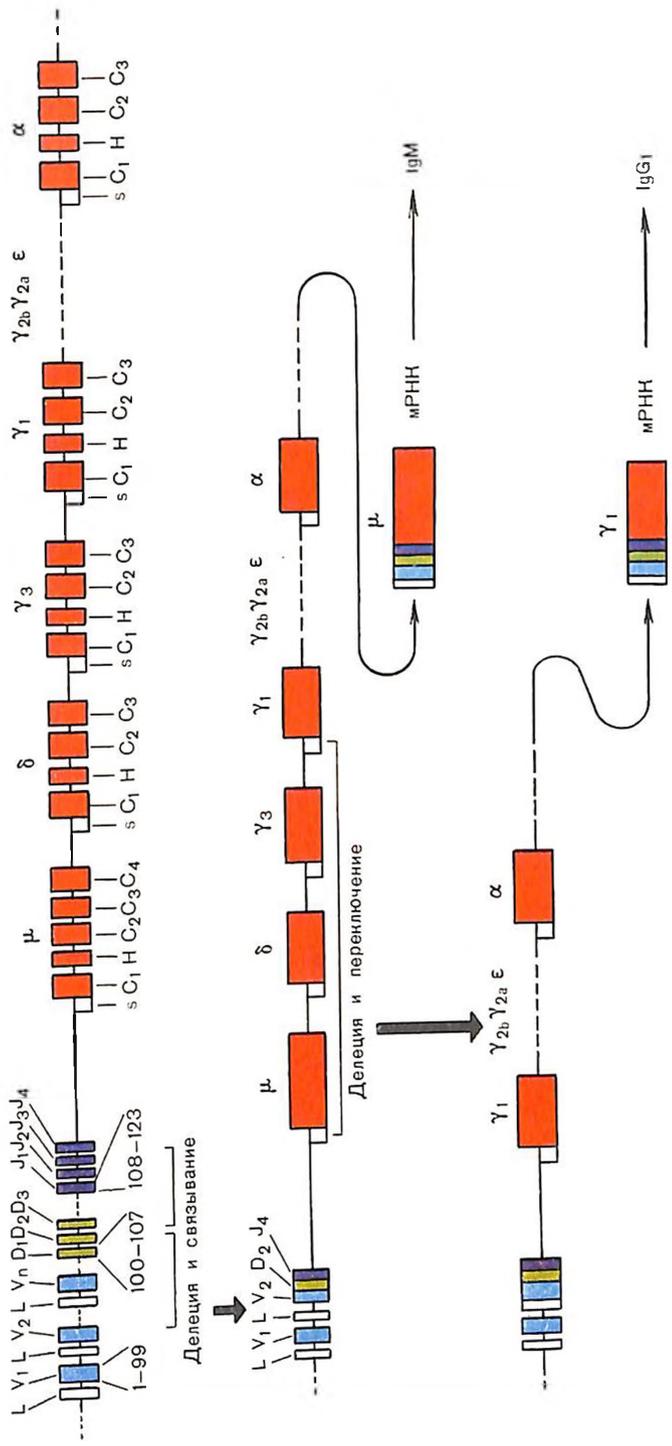


Рис. 23. Рекомбинация генов, кодирующих H-цепи иммуноглобулинов.

Общая схема рекомбинации генов для H-цепей та же, что и для генов L-цепей (см. рис. 21 и 22), но есть и определенные особен-

ности. В отличие от генов L-цепей у мышей представлены не один, а восемь С-генов, ответственных за разные классы и подклассы Ig. В процессе развития В-клеток происходит переключение синтеза IgM на синтез Ig других классов и подклассов при сохранении исходной специфичности, т. е. осуществляется перекомбинация того же V-гена с С_H-генами для иных классов и подклассов Ig. В целом при развитии В-клеточного ответа возможны две формы соединения: разные V-гены объединяются в процессе рекомбинации с одним и тем же С_H-геном и один и тот же V-ген образует единый информационный участок с разными С_H-генами, что отражается в функциональном дуализме Ig (см. рис. 8). В отличие от генетического контроля V_L-домена V_H-домен кодируется тремя самостоятельными сегментами: V, D и J. Рекомбинация этих сегментов так же, как и сегментов V и J для V_L-домена, не является жестко детерминированной, что обеспечивает дополнительную вариабельность V_H-доменов. В процессе переключения V_H-гена с одного на другой С_H-ген включается некодируемый S-район, расположенный перед соответствующим С_H-геном. Взаимодействие последовательностей S-района С-гена с гомологичным районом других С-генов образует замкнутый контур, последовательности которого исключаются из информационного материала. Например, переключение синтеза IgM на IgG1 сопровождается предварительной делецией генетического материала, включающего μ-, δ-, γ3-локусы, этот материал безвозвратно теряется для клетки (по данным Е. В. Сидоровой, 1982; Н. J. Eisen, 1980; О. G. Bier и соавт., 1981).

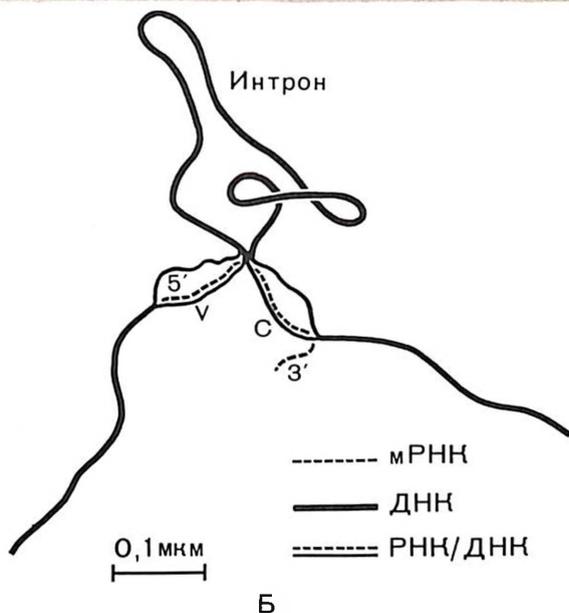
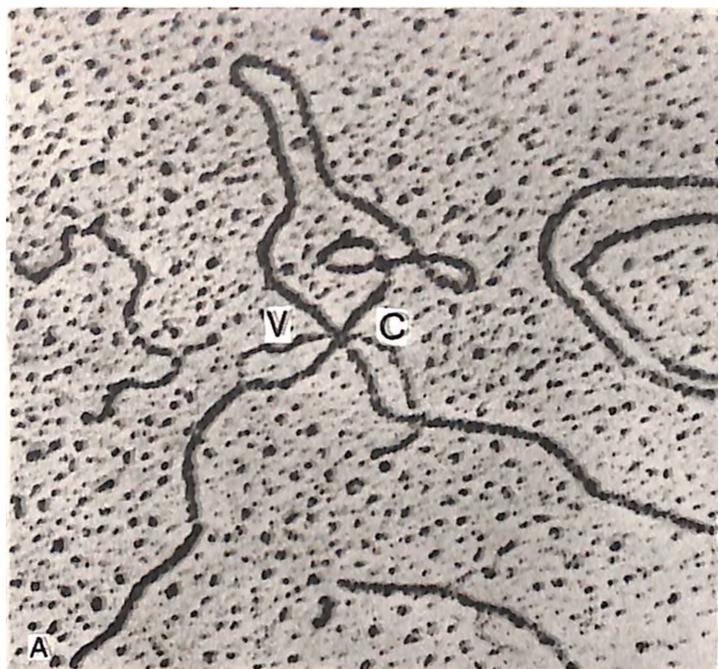


Рис. 24. Электронная микрофотография образования петли, включающей некодируемую последовательность пар нуклеотидов в ДНК (А).

Внизу диаграмма, расшифровывающая процесс слияния V- и C-генов и последующей транскрипции РНК (Б) [по Seidman J. B., Leder P., 1978, цит. по Eisen H. N., 1980].

КЛЕТОЧНАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Глава 3. КЛЕТКИ И ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Лимфоидная ткань — место развития основных иммунологических событий, входит в состав лимфо-миелоидного комплекса. Этот комплекс представляет собой систему органов и тканей, паренхи-ма которых содержит клетки мезенхимального происхождения (см. рис. 25). Клеточный состав комплекса формируется за счет дифференцировки полипотентной стволовой кроветворной клетки (см. рис. 26 и табл. 5). В эксперименте стволовые кроветворные клетки выявляют с помощью методов клонирования *in vivo* и *in vitro* (см. рис. 27). Каждая стволовая клетка дает начало всем росткам дифференцировки клеток лимфоидной и миелоидной ткани (см. рис. 28).

Установлено, что в организме высших животных, а также у человека имеются две относительно самостоятельные системы, обеспечивающие различные формы иммунной защиты: Т-система — для осуществления клеточного иммунитета (отторжение трансплантата, противоопухолевая и антивирусная защита, реакции «трансплантат против хозяина»), В-система — для осуществления гуморального иммунитета (антибактериальная защита, нейтрализация токсинов) (см. рис. 29 и табл. 6).

К центральным органам иммунной системы относят тимус (вилочковую железу) (место генерации Т-клеток) и сумку Фабрициуса у птиц или аналог этого органа у млекопитающих. Предположительно таким аналогом является костный мозг (место генерации В-клеток). Непосредственно на территории данных органов иммунные процессы не развиваются. Однако клетки этих органов, заселяя периферию (селезенку, лимфатические узлы, пейеровы бляшки), обеспечивают иммунную компетентность организма.

У млекопитающих вилочковая железа расположена в верхней части грудной клетки непосредственно за грудиной. Этот орган состоит из двух больших долей, каждая из которых включает более мелкие дольки. В отдельно взятой дольке различают корковый слой, представленный плотно упакованными лимфоцитами, и мозговое вещество (медуллярную область), где в основном сконцент-

рированы бластные формы лимфоцитов, которые формируют более рыхлую ткань (см. рис. 30). Элементарной структурно-гистологической единицей вилочковой железы является фолликул Кларка — ячейка из эпителиальных клеток, внутри которой упакованы тимоциты (см. рис. 31). У птиц сумка Фабрициуса представляет собой место генерации В-клеток. Это — лимфо-эпителиальный орган, расположенный в клоаке и по структурной организации напоминающий вилочковую железу (см. рис. 32 и 33).

К периферическим органам иммунной системы относятся лимфатические узлы, селезенка, пейеровы бляшки кишечника (см. рис. 34—37).

Клеточным представителем Т-системы является тимусзависимый лимфоцит, характеризующийся определенной морфологией (см. рис. 38), наличием соответствующих рецепторов и маркеров на клеточной поверхности (см. рис. 39), а также специфическим гистогенезом от стволовой кроветворной клетки (см. рис. 40). В-клетки, так же как и Т-клетки, изучены по морфологии, рецепторам и маркерам клеточной поверхности, гистогенезу (см. рис. 41—43). Особое внимание было обращено на исследование поверхностного IgM В-клеток как антигенраспознающих структур данного клеточного типа (см. рис. 44—46).

В связи с изучением вопросов клеточного взаимодействия при развитии иммунных процессов внимание иммунологов было обращено на макрофагальную систему организма (см. рис. 47—49 и табл. 7).

ЛИМФО-МИЕЛОИДНЫЙ КОМПЛЕКС

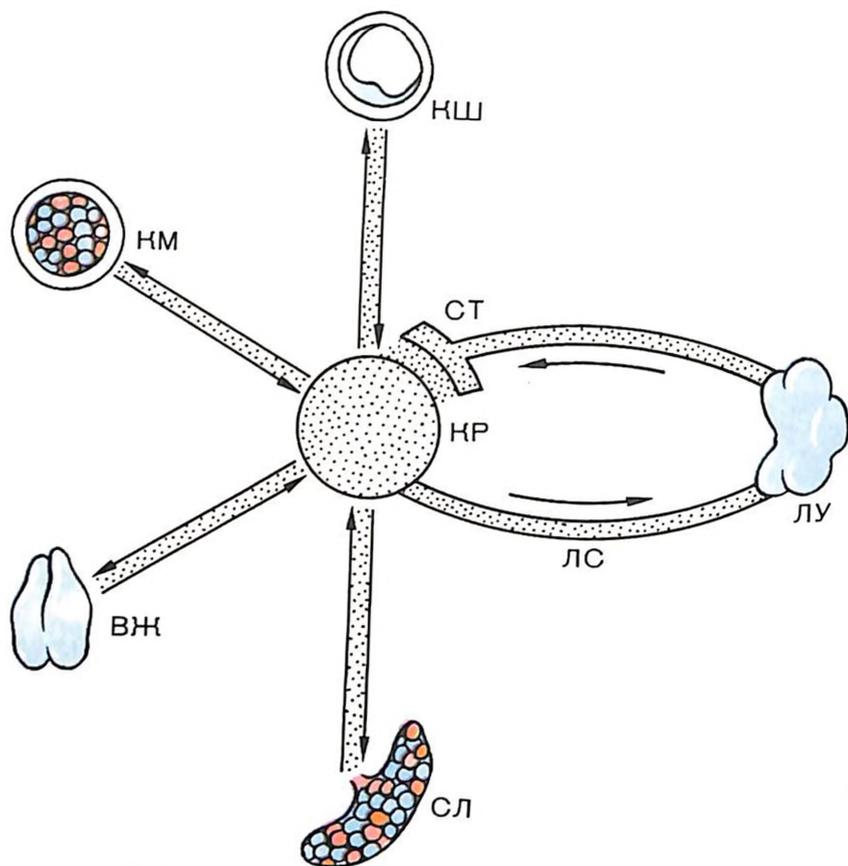


Рис. 25. Лимфо-миелоидный комплекс.

Комплекс представляет собой систему органов и тканей, паренхима которых содержит клетки мезенхимального происхождения. Органы и ткани комплекса объединены в единую систему сеть кровеносных (КР) и лимфатических сосудов (ЛС). Комплекс включает: костный мозг (КМ), лимфатическую ткань кишечника (КШ), селезенку (СЛ) и соединительную ткань кишечника (СТ). Функциональное назначение комплекса — обеспечение кроветворения (миелопоэза) и формирования клеток иммунной системы (лимфопоэза). Среди органов и тканей комплекса имеются истинно лимфоидные образования, в которых происходит только лимфопоэз (вилочковая железа, лимфатические узлы, лимфоидная ткань кишечника), и «смешанные» образования, в которых представлен как лимфо-, так и миелопоэз (костный мозг, селезенка) (по данным J. M. Yoffey, F. C. Courtice, 1970).

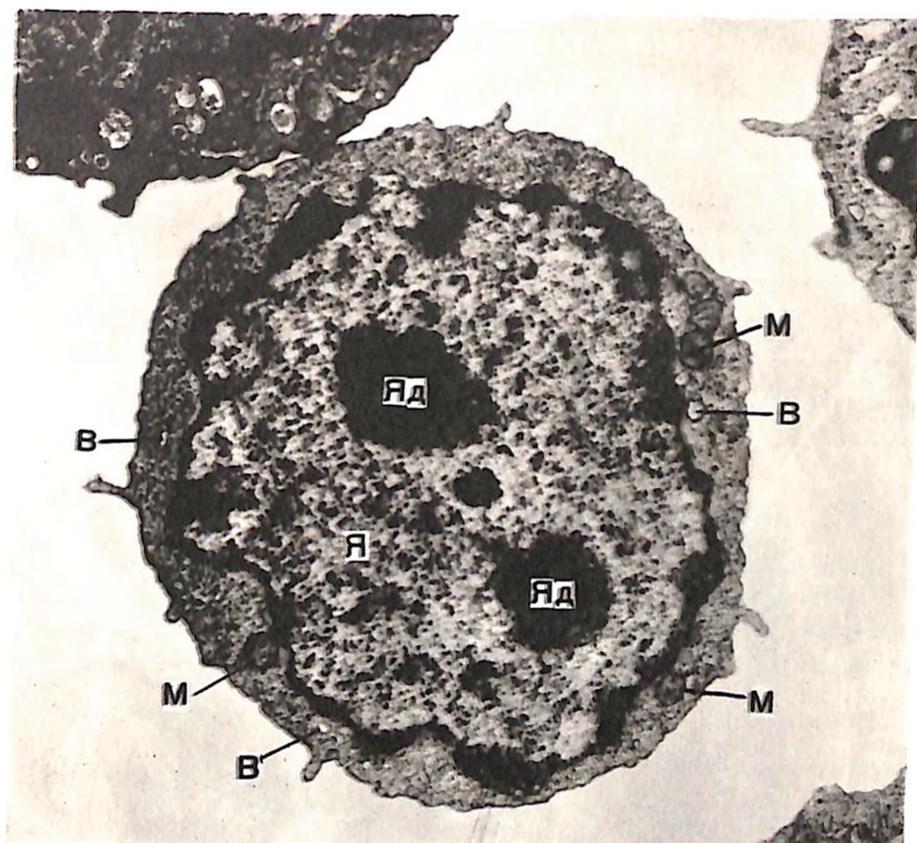


Рис. 26. Кандидат на стволовую кроветворную клетку.

Стволовая кроветворная клетка дает начало всем росткам дифференцировки клеток лимфоидной и миелоидной ткани и тем самым формирует клеточный состав лимфо-миелоидного комплекса. Морфология стволовой кроветворной клетки неизвестна. Однако Van Bekkum и соавт. при фракционировании клеток костного мозга в градиенте плотности альбумина и последующей оценке колониеобразующей способности клеток различных фракций представили возможного кандидата на стволовую кроветворную клетку. Эта клетка содержит округлое ядро (Я) с неглубокими вырезами, имеет два больших четко обозначенных ядрышка (Яд). Хроматин хлопкообразный или тонко дисперсный. Вдоль ядерной оболочки видны незначительные агрегаты гранул хроматина. Относительно тонкий ободок цитоплазмы содержит преимущественно свободные рибосомы. Имеется несколько цитоплазматических вакуолей (В). Митохондрии (М) относительно редки и невелики по размерам ($\times 17\ 000$). [Van Bekkum D. W. et al., 1971].

Т а б л и ц а 5. Ультраструктурная характеристика кандидата на стволовую кроветворную клетку в сравнении с малым лимфоцитом из грудного протока у мышей [Van Bekkum et al., 1975]

Структуры	Стволовая клетка	Малый лимфоцит
Величина	7—10 мкм	<8 мкм
Форма:		
клетки	Неопределенная, круглая	Круглая
ядра	Круглая с вырезами	Круглая с глубокими вырезами
цитоплазматического ободка	Узкая	Узкая
Ядрышки	1 или 2, иногда больше	Не определяются
Хроматин	Тонкодисперсный или хлопкообразный с малыми агрегатами по периферии ядра	Плотные глыбки
Пластинчатый комплекс	Не наблюдается	Представлен
Эндоплазматический ретикулум	То же	То же
Лизосомы	» »	» »
Свободные рибосомы	Обильные	» »
Полисомы	Немного или отсутствуют	» »
Митохондрии	Несколько малых	Немного больших
Малые вакуоли	Представлены	Представлены
Слившиеся большие вакуоли	Не наблюдаются	То же

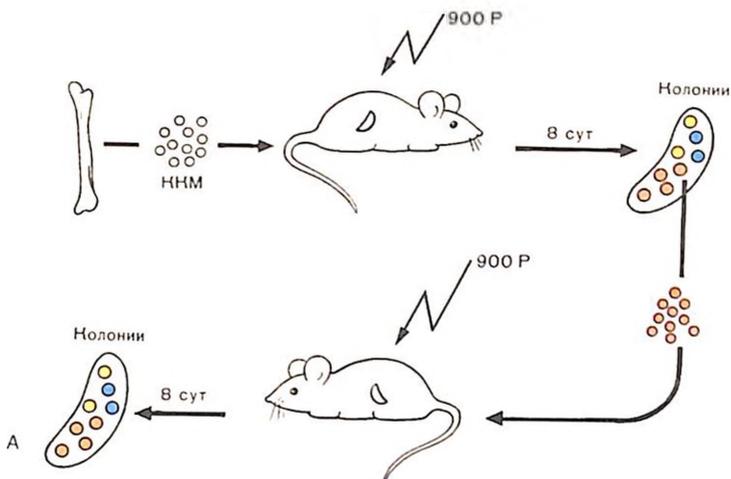


Рис. 27. Метод анализа стволовых кроветворных клеток.

А. В опытах на мышах показано, что введение клеток костного мозга (ККМ) облученным реципиентам приводит к формированию отдельных макроскопически выявляемых колоний — клоны одной клетки — на строме опустошенной после облучения селезенки. Среди общего числа колонии содержится 42% эритроидных, 21% гранулоцитарных, 21% мегакариоцитарных и 16% смешанных колоний. При ретрансплантации отдельной колонии формируются все типы колоний в том же процентном отношении. Эти факты явились экспериментальным доказательством в пользу существования единой клетки для всех трех ростков кроветворения. Эта клетка обладает основными характеристиками стволовой кроветворной единицы: 1) высокой пролиферативной активностью

(через 10 сут после трансплантации ККМ колония содержит около $1 \cdot 10^6$ клеток); 2) способностью к дифференцировке в различные типы зрелых клеток; 3) способностью к самоподдержанию, о чем свидетельствуют результаты опытов по ретрансплантации (по данным J. E. Till, E. A. McCulloch, 1961). Б. Макроскопические колонии в селезенках летально облученных мышей через 8 дней после трансплантации кроветворных клеток (опыты Т. Е. Манаковой) [из: Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я., 1977].

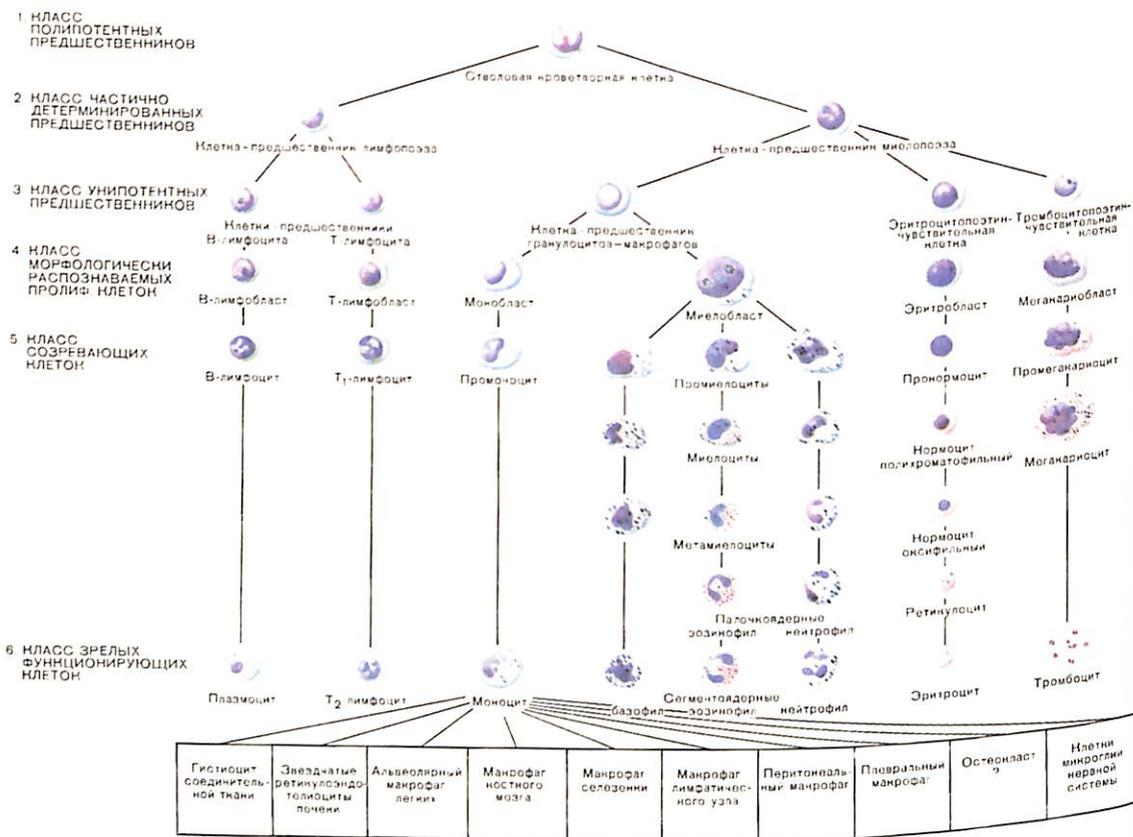


Рис. 28. Кроветворение (формирование клеток лимфо-миелоидного комплекса) (схема).

Весь путь дифференцировки клеток лимфо- и миелопоэза от стволовой кроветворной клетки до функционально зрелых клеток лимфо-миелоидного комплекса можно разделить на 6 этапов (классов). Клетки, относящиеся к первым трем классам, морфологически не идентифицированы. Клетки, относящиеся к классам 4—6, морфологически идентифицированы [Чертков И. Л., Воробьев А. А., 1973].

ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ОРГАНЫ ИММУНИТЕТА

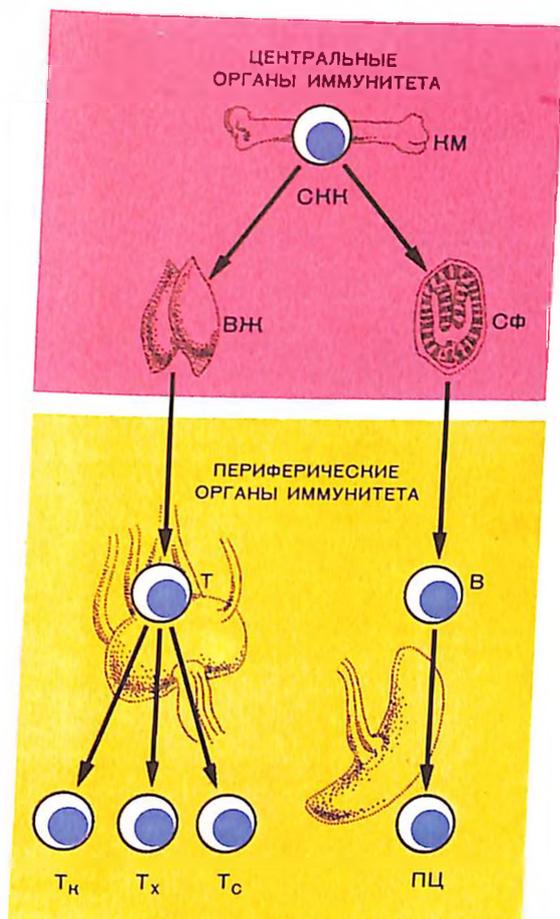


Рис. 29. Формирование Т- и В-систем иммунитета.

Стволовая кроветворная клетка (СКК), или клетка-предшественник лимфопоэза, мигрируя из костного мозга (КМ) в вилочковую железу (ВЖ) дифференцируется под влиянием микроокружения этого органа в Т-клетку. При миграции СКК в сумку Фабрициуса (СФ) у птиц или неизвестный аналог данного органа у млекопитающих происходит дифференцировка в клетки В-ряда. Из центральных, или первичных, органов иммунитета (костный мозг, вилочковая железа) клетки расселяются в периферические, или вторичные, органы иммунной системы (селезенку, лимфатические узлы и др.), где они приобретают функциональные особенности, свойственные зрелым Т- и В-клеточным популяциям. Т-киллер

(Т_к) — клетка с цитолитической активностью по отношению к антигенно неродственной клетке-мишени. Т-хелпер (Т_х) — клетка, обеспечивающая положительную (усиливающую) регуляцию гуморального иммунного ответа, в случае положительной регуляции клеточного иммунитета эта клетка называется Т-амплификатором. Т-супрессор (Т_с) — клетка, обеспечивающая негативную (подавляющую) регуляцию иммунного ответа. ПЦ-плазмоцит, конечная клетка в В-клеточном пути дифференцировки, активно синтезирующая и секретирующая антитела.

Т а б л и ц а 6. Сравнение свойств Т- и В-клеток у мышей

Характеристика	В-клетки	Т-клетки
Дифференцировка	Под влиянием сумки Фабрициуса у птиц и неизвестного ее аналога у млекопитающих (истощение В-клеток при неонатальной бурсыэктомии у птиц)	Под влиянием вилочковой железы (истощение Т-клеток у неонатально тимэктомированных мышей и у мышей с аплазией вилочковой железы)
Антигены клеточной мембраны		
Thy1	—	+
TL	—	+ (только на кортикальных тимоцитах)
G IX	—	То же
Lyt1, 2, 3	—	+ (разная экспрессия на различных субпопуляциях Т-клеток) Lyt1, 2, 3 — незрелые Т-клетки Lyt1—Т-хелперы Lyt2, 3—Т-киллеры, Т-супрессоры
PC	+ (только на плазматических клетках)	—
H-2	+	+
Рецепторы к антигену	Ig в большом количестве (на одной клетке представлен только один класс, идиотип и аллотип)	Специфические рецепторы к антигену представлены, но, возможно, с низкой плотностью; природа их неизвестна (может быть переменная часть Ig)
Рецепторы к: комплементу C3b и C3d	+	—
Fc IgG	++	+
эритроцитам барана (у человека)	—	+

Характеристика	В-клетки	T-клетки
Пролиферативный ответ на:		
ФГА, Кон А	—	+
СКЛ	—	+
лектину фитолакка (pokeweed)	+	+
ЛПС	+ (у мышей)	—
Приблизительная частота (% в органе):		
кровь	15	85
лимфатические узлы	15	85
грудной проток	10	90
селезенка	65	35
костный мозг	<15	<3
вилочковая железа	<3	>97
Миграция	Нет или слабая рециркуляция. Локализация в фолликулах вокруг центров размножения	Рециркуляция многих T-клеток. Локализация в тимусзависимых зонах
Продолжительность жизни	В основном короткоживущие, но имеются и долгоживущие	Сосуществование коротко- и долгоживущих T-клеток
Чувствительность к ин-активации in vivo: облучением	+++	++
антилимфоцитарной сывороткой	(+)	+++
циклофосфамидом (высокие дозы)	+++	+ (возможно T-супрессоры)
Функции:		
продукция антител	Секреция	Регуляторные функции, позитивная (хелперная функция, ответ на специфический носитель) и негативная (супрессорная)
гиперчувствительность замедленного типа	Роль неизвестна	Эффекторные клетки
отторжение трансплантата и опухоли	Производство блокирующих и цитотоксических антител	Эффекторные, цитотоксические клетки
толерантность	Поздняя и преходящая	Ранняя и долго остающаяся

Примечание. Fc — рецептор к Fc-части иммуноглобулина; ФГА, Кон А — лектины, фитогемагглютинин и конконавалин А; СКЛ — смешанная культура лимфоцитов; ЛПС — липополисахарид.

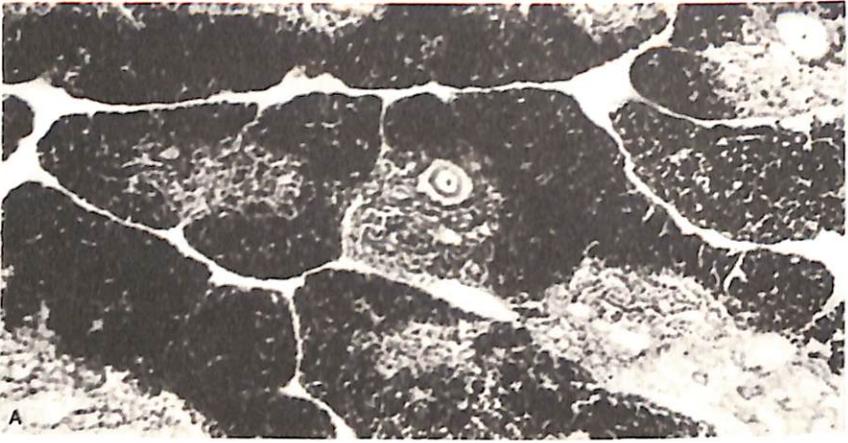


Рис. 30. Гистологическое строение вилочковой железы.

У млекопитающих этот орган расположен в грудной полости непосредственно за грудиной. Он имеет две доли, каждая из которых подразделяется на мелкие дольки. В каждой дольке ясно выявляется два слоя: кора с плотной упаковкой малых лимфоцитов и мозговое вещество, в котором количество лимфоцитов снижено. Лимфоциты в данном слое представлены в основном бластными формами (А). Одной из особенностей мозгового вещества является наличие телец вилочковой железы, которые образованы эпителиальными клетками, сгруппированными в округлые структуры (Б). Функциональное назначение телец неясно. По мнению одних исследователей, они образуются в результате активной деструкции тимоцитов, что приводит к «обнажению» эпителиальных элементов. Другие авторы склонны видеть в тельцах специальные эпителиальные структуры, функция которых — активная продукция гуморальных факторов, поступающих в циркуляцию [по Bier O. G. et al., 1981].

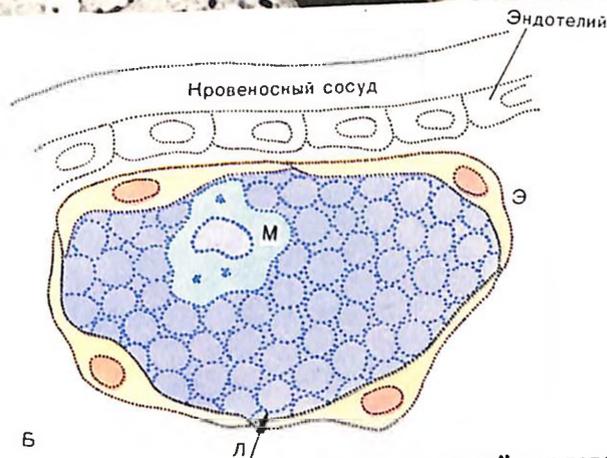
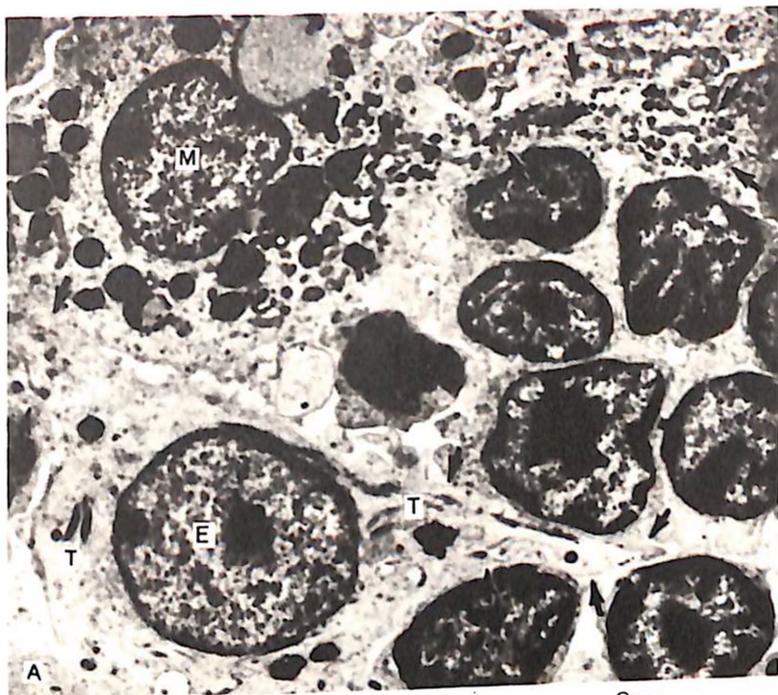


Рис. 31. Фолликул Кларка в вилочковой железе.

А. Элементарными структурно-гистологическими единицами вилочковой железы являются фолликулы Кларка. Они расположены главным образом в корковом веществе и включают эпителиальные клетки (Э), лимфоциты (Л) и макрофаги (М). Отличительными субклеточными структурами эпителиальных клеток являются псевдоподии (Т). Отростки эпителиальных клеток и псевдоподии макрофагов (отмечено стрелками) обеспечивают контакт этих клеток с лимфоцитами, входящими в состав фолликула ($\times 4500$) [Clark S. L., 1963]. Б. Реконструкция фолликула Кларка представлена по М. F. Burnet (1969).

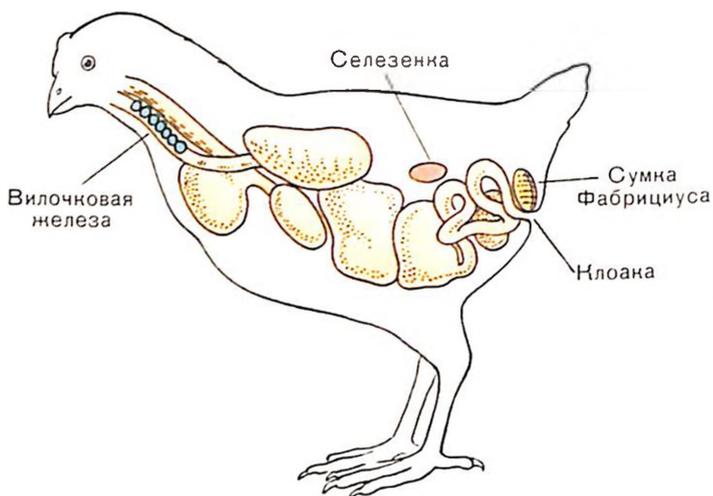


Рис. 32. Локализация сумки Фабрициуса у птиц. Сумка Фабрициуса — лимфоэпителиальный орган, расположенный в задней части клоаки у птиц. В этом органе происходит генерация В-клеток. Аналог сумки Фабрициуса у млекопитающих пока не известен [Good R. A., Fisher D. W., 1970].

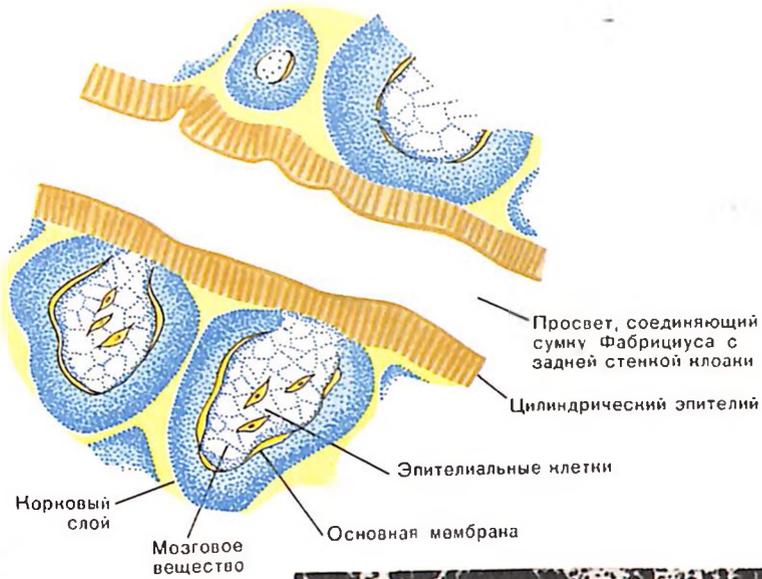


Рис. 33. Гистологическое строение сумки Фабрициуса.

Просвет сумки выстлан цилиндрическим эпителием, подобным эпителию кишечника. Непосредственно за эпителиальным слоем располагаются узелки (дольки), общее строение которых неотличимо от строения соответствующих структур вилочковой железы. Кора представлена в основном плотным скоплением малых лимфоцитов. Более светлое мозговое вещество включает большие лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, гранулоциты, ретикулярные клетки. Эпителиальные клетки образуют сеть, переходящую



в эпителиальные покровы просвета органа. В отличие от вилочковой железы в узелках сумки корковый слой отделен от медуллярного основной мембраной (По Bach J.-E., 1982). А — медуллярного изображения участка сумки Фабрициуса; Б — гистологический срез.

ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ ОРГАНЫ ИММУНИТЕТА

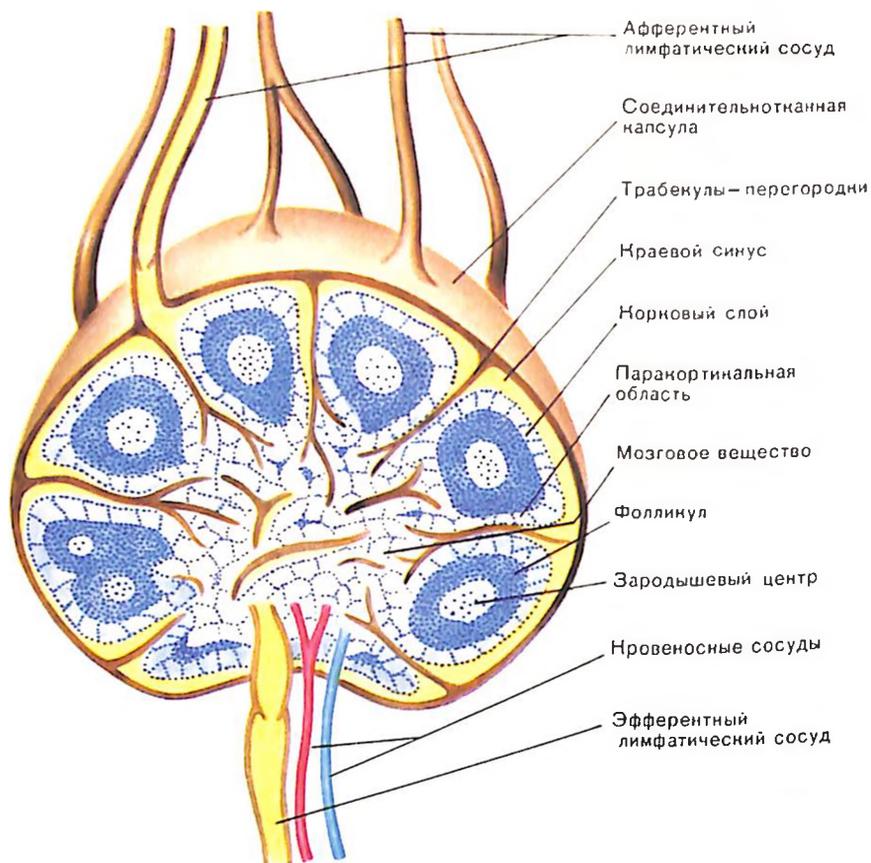


Рис. 34. Лимфатический узел.

Лимфатические узлы представляют собой хорошо различимые образования, расположенные обычно в месте слияния крупных лимфатических сосудов. Размеры узлов у человека в условиях нормы колеблются от 3 до 30 мм. Снаружи узел покрыт соединительнотканной капсулой. От капсулы в глубь узла отходят перегородки — трабекулы. Непосредственно под капсулой находится краевой синус, куда поступает лимфа из афферентных (приносящих) лимфатических сосудов. Из краевого синуса лимфа поступает в промежуточные синусы, пронизывающие всю толщу органа, и собирается в эфферентный (выносящий) лимфатический сосуд. Место выхода сосуда называется воротами узла. Через ворота в узел проходят кровеносные сосуды. Лимфоидная ткань узла делится на корковый слой и мозговое вещество. Корковый слой характеризуется плотной упаковкой лимфоидных клеток, которые собраны в округлые скопления — первичные и вторичные фолликулы. Первичные фолликулы представляют собой естественные гистологические структуры органа. Вторичные фолликулы отличаются наличием светлой центральной части, состоящей из пролиферирующих бластных форм. Они получили название зародышевых центров и образуются в ответ на проникновение в орган антигена.

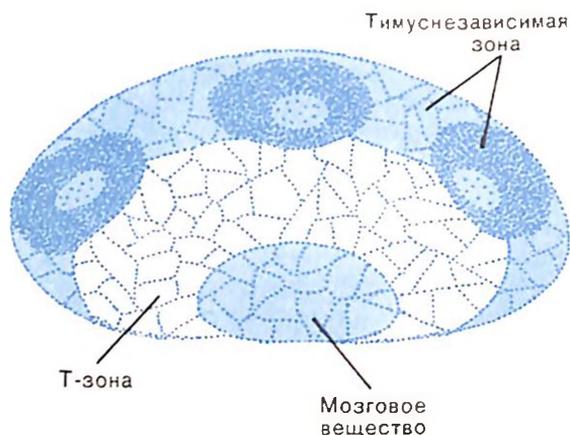


Рис. 35. Тимусзависимые и тимуснезависимые зоны в лимфатическом узле.

Неонатальная тимэктомия у мышей приводит к исчезновению лимфоцитов из паракортикальной области, которая получила название тимусзависимой зоны (Т-зоны). Кора и мозговое вещество при тимэктомии остаются незатронутыми. Сделан вывод, что лимфоциты вилочковой железы заселяют Т-зону, а лимфоциты костного мозга — В-зону, или тимуснезависимую зону [Parrott D. V. et al., 1966; Parrott D. V., De Souse M., 1971].

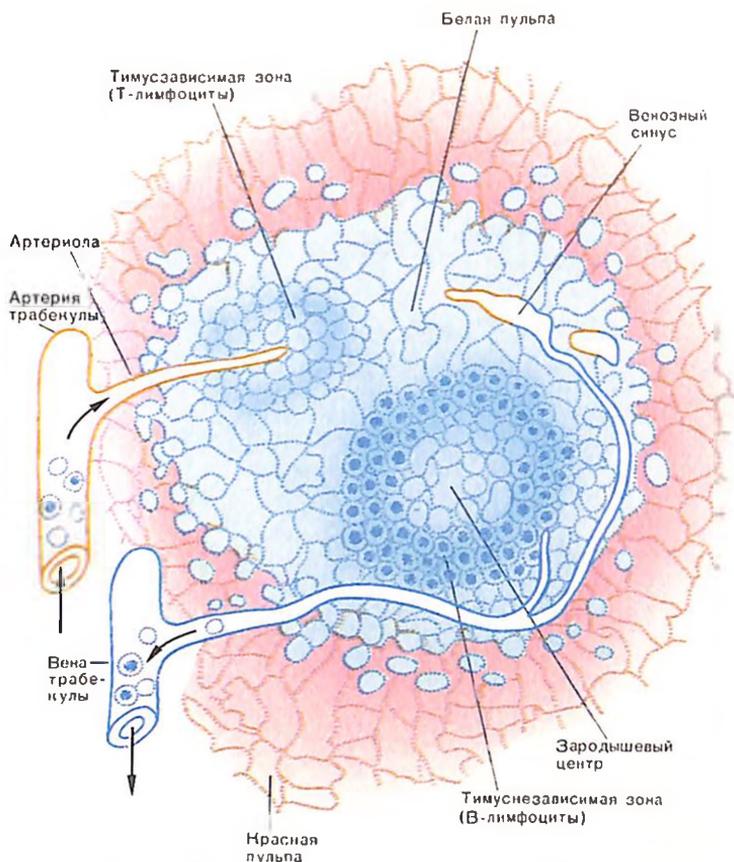


Рис. 36. Участок селезенки (схема).

Селезенка относится к периферическим органам иммунной системы. Снаружи орган окружен соединительнотканной капсулой, от которой отходят поддерживающие перегородки — трабекулы. Паренхима селезенки включает белую и красную пульпы. Белая пульпа — место локализации лимфоцитов, которые собраны в отдельные элементарные гистологические структуры (мальпигиевы тельца). Красная пульпа состоит из ретикулокапиллярных петель, пространство между которыми заполнено свободными клеточными элементами. Среди этих клеток большинство представлено эритроцитами, что и определяет цвет пульпы. Четких границ между белой и красной пульпой нет, и переход клеточного состава из одной области в другую происходит постепенно. Белая пульпа заселяется Т- и В-лимфоцитами, мигрирующими из центральных органов иммунной системы. Они распределяются по двум зонам: тимусзависимой, где скапливаются Т-лимфоциты вокруг пронизывающих пульпу артериол, и тимуснезависимой — места накопления В-лимфоцитов. В этой зоне хорошо образуются в ответ на кулы с центрами размножения, которые образуются в ответ на антигенный стимул.

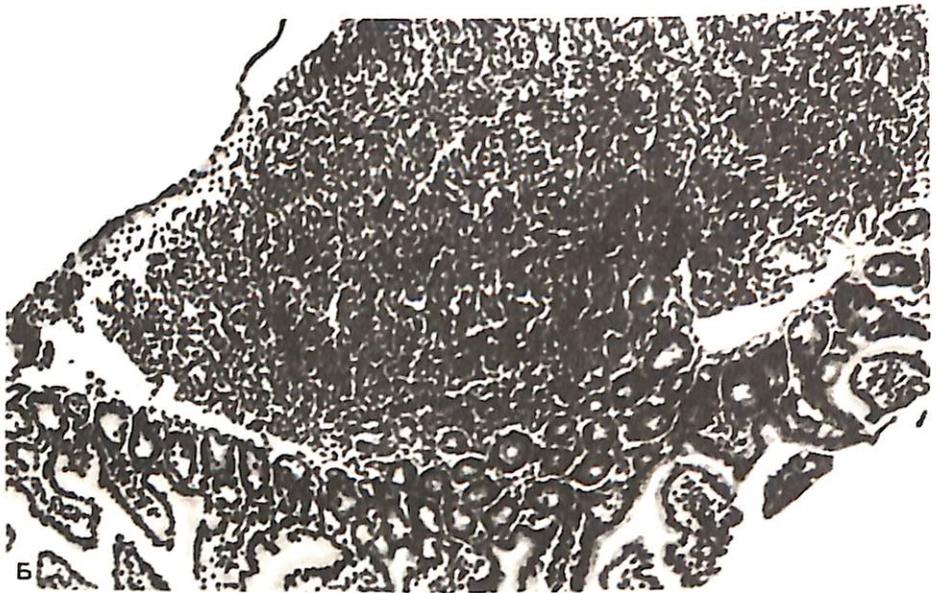
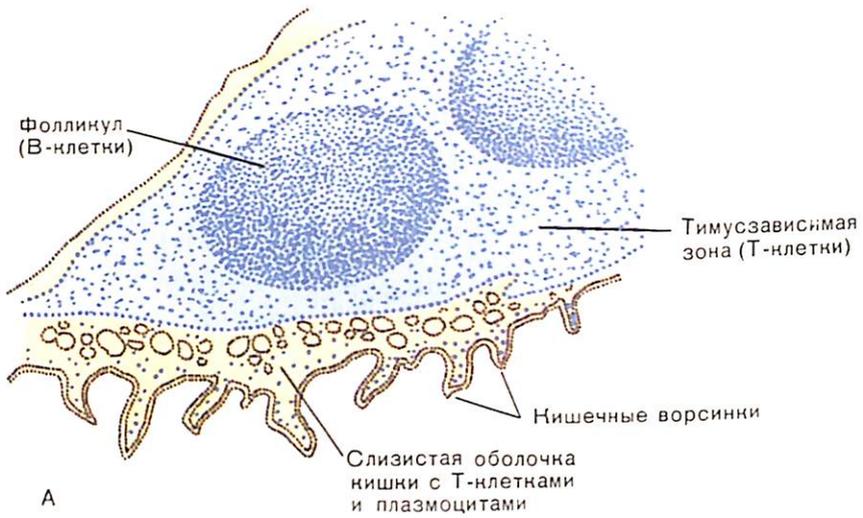


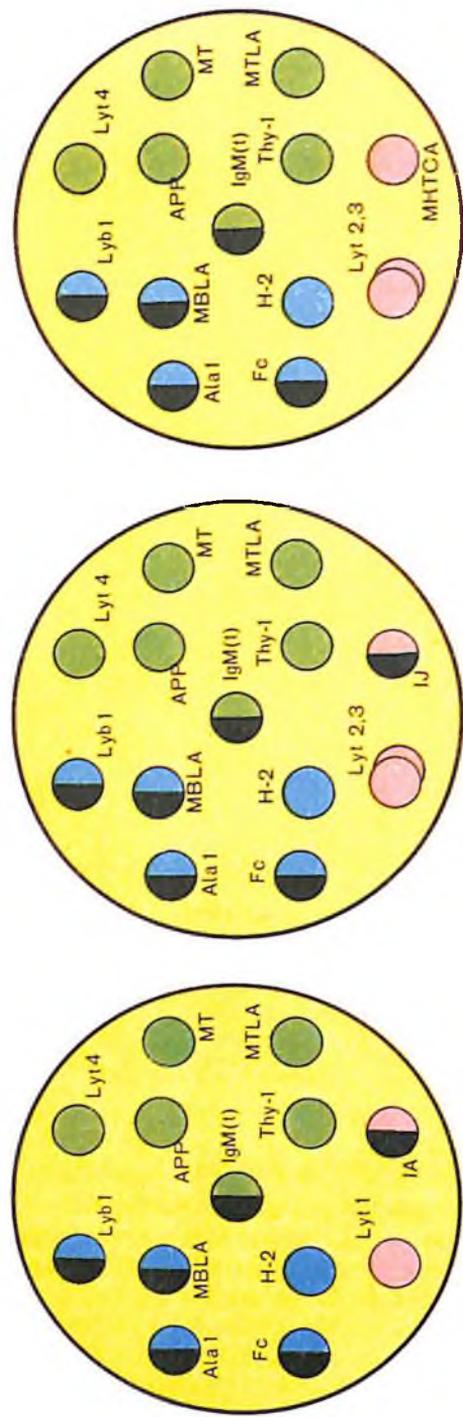
Рис. 37. Гистологическое строение групповых лимфатических фолликулов.

Групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки) — лимфоидные образования кишечника. Лимфоциты этих образований представлены как В-, так и Т-клетками, которые концентрируются в соответствующих зонах. Среди В-клеток более 50% имеет поверхностный IgA. Оставшаяся часть представлена клетками с поверхностными IgM и IgG. Плазмócиты и Т-клетки способны проникать в слизистую оболочку, находящуюся в прямом контакте с бляшками [по Vach J.-F., 1982]. А — схематическое изображение участка лимфатического фолликула; Б — гистологический срез.

Т-КЛЕТКИ



Рис. 38. Электронная сканирующая микрофотография Т-клетки. Обращает на себя внимание практически гладкая поверхность клетки. Однако активация Т-клетки антигеном или митогеном приводит к появлению большого числа цитоплазматических выростов — микроворсинок [по Polliack A. et al., 1973].



Т-хелперы

Т-супрессоры

Т-киллеры



—рецепторы и маркеры, общие для Т- и В-клеток, H-2, Fc представлены также на макрофагах

—рецепторы и маркеры Т-клеток; Lyt 4 обнаружен на макрофагах

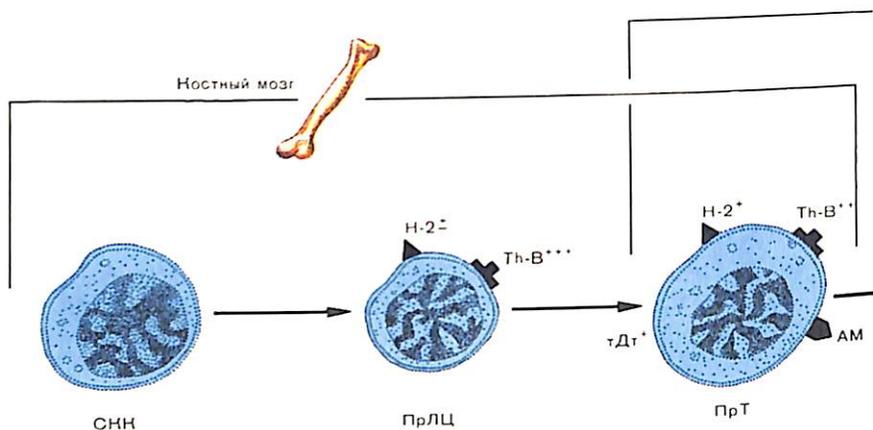
—маркеры, позволяющие дифференцировать субпопуляции Т-клеток

—появление рецептора или маркера клеточной поверхности только после активации антигеном или митогеном

Рис. 39. Рецепторы и маркеры различных субпопуляций Т-клеток (Т-хелперов, Т-супрессоров и Т-киллеров).

Рецепторы — структуры клеточной поверхности, функция которых известна или предполагается как вполне вероятная. Маркеры — свидетели принадлежности к одному из типов клеток, определенного этапа развития или функционального состояния. Рецепторы: IgM (t) — мономерный IgM, представленный на поверхности Т-клеток; выявляется после антигенной стимуляции; APP — антигенраспознающий рецептор, включает идиотип, специфичный к определенной антигенной детерминанте, и продукт Ia-области основной системы гистосовместимости; MT — рецепторы к митогенам Т-клеток (ФГА, Кон А); Fc — рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, проявляется после активации Т-клеток. Маркеры: H-2 — антигены тканевой совместимости, определяют индивидуальность особей одного вида за счет широкого набора аллелей локусов, входящих в комплекс H-2; представлены на всех клетках лимфо-миелоидной ткани, а также клетках других тканей организма; MBLA (mouse B-lymphocyte antigen) до недавнего времени считался специфическим маркером В-клеток, в настоящее время доказано его появление на Т-клетках после их активации; Ala1 — антиген активированных (бластных) Т- и В-клеток; Lyb1 — антиген, первоначально описан для В-клеток, однако он проявляется и на активированных Т-клетках; Thy-1 — антиген Т-клеток, основной маркер, позволяющий дифференцировать тимусзависимые клетки от В-клеток. MTLA (mouse thymus-derived lymphocyte antigen) — антиген тимоцитов и Т-клеток, возможно, является одной из антигенных детерминант белка, несущего Thy-1 специфичность; Lyt4 — антиген Т-клеток, включая претимоциты и тимоциты; Lyt1 — антиген Т-хелперов; Lyt2, 3 — антигены Т-супрессоров антителопродукции и иммунных Т-киллеров; IA — антиген, контролируемый I-A-субобластью основной системы гистосовместимости, обнаружен на Т-хелперах, после активации количество антигена на клеточной поверхности увеличивается, предполагается, что он входит в состав антигенспецифического хелперного фактора и антигенраспознающего рецептора Т-хелперов. IJ — антиген, контролируемый I-J-субобластью основной системы гистосовместимости, обнаружен на Т-супрессорах, предполагается, что он входит в состав антигенспецифического супрессорного фактора; MKTCA (mouse killer T-cell antigen) — антиген, представленный на иммунных Т-киллерах, впервые обнаружен на лимфоцитах перитонеального экссудата — наиболее активных клетках в иммунном цитолизе. Представлены рецепторы и маркеры, для которых относительно хорошо установлены функция и распределение по различным типам клеток; имеются и другие изучающиеся в настоящее время антигенные маркеры (по данным В. М. Манько, 1982; J. F. C. McKenzie, T. Potter, 1979).

Рис. 40. Этапы антигеннезависимой дифференцировки Т-клеток.
 На первом этапе из полипотентной стволовой кроветворной клетки (СКК) костного мозга, обеспечивающей миело- и лимфопоэз, образуется общий для Т- и В-лимфоцитов предшественник (ПрЛЦ). Такой коммитированный в сторону лимфопоэза предше-

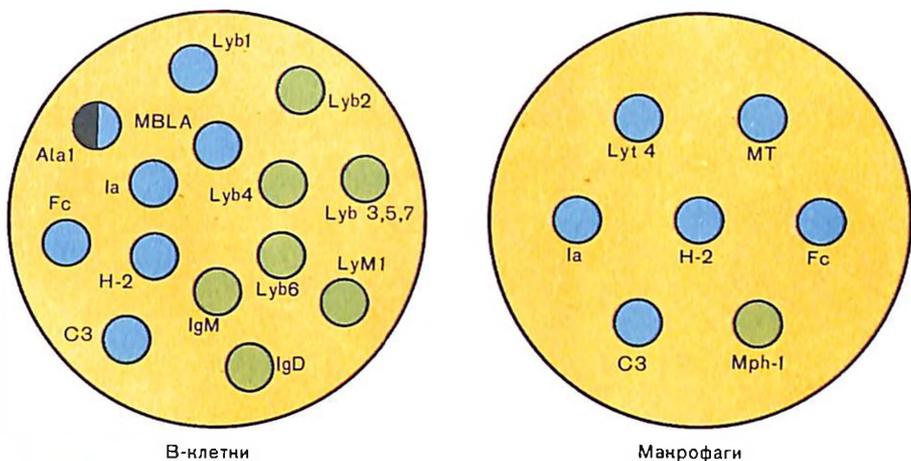


ственник становится обладателем антигенов H-2 и антигена Th-B. Предполагается, что этот антиген является стадийноспецифическим маркером ПрЛЦ. Его количество снижается по мере созревания лимфоцитов, вышедших на Т-клеточный путь развития. Ближайшим потомком ПрЛЦ является протимоцит (предшественник Т-клеток; ПрТ). Маркером данного клеточного типа служит терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (тДт), выявленная только у кортикальных тимоцитов. Другой отличительный маркер ПрТ — один из антигенов мозга (Ам). ПрТ локализуются в костном мозге, а также непосредственно под капсулой вилочковой железы, где их содержание приближается к 5%. Под влиянием гормонов вилочковой железы, секретируемых эпителиальными клетками, и монокинов, выделяемых тимоцитарными макрофагами, происходит созревание ПрТ до кортикальных тимоцитов (КТЦ). КТЦ становятся обладателями хорошо выраженного специфического антигена Т-клеток Thy-1, а также дифференцировочных антигенов Lyl1, 2, 3. Активность тДт снижается по сравнению с таковой в клетках предшествующей стадии дифференцировки (ПрТ). Отличительным маркером данного типа клеток является антиген TL, а также рецептор к агглютиниону арахиса (AA). Прямые потомки кортикальных клеток — медуллярные тимоциты (МТЦ), располагающиеся в мозговом веществе вилочковой железы и мигрирующие в периферические лимфоидные органы. МТЦ характеризуются большими размерами по сравнению с КТЦ, лучшей выраженностью антигенов H-2, отсутствием марке-

В-КЛЕТКИ



Рис. 41. Электронная сканирующая микрофотография В-клетки. Вся поверхность клетки покрыта выростами цитоплазмы — микроворсинками, благодаря которым эта клетка образно называется «голова Медузы» ($\times 35\ 000$) [по Polliak A. et al., 1973].



- — рецепторы и маркеры, общие для В-, Т-клеток и макрофагов; Ala1 и MBLA на макрофагах отсутствуют; Lyt4 отсутствует на В-клетках; наличие рецептора к С3-компоненту комплемента на Т-клетках неясно
- — рецепторы и маркеры, специфические только для В-клеток и макрофагов

Рис. 42. Рецепторы и маркеры В-клеток и макрофагов.

Некоторые рецепторы и маркеры В-клеток общие с таковыми Т-клеток или макрофагов (H-2, Lyb1, Ala1, Fc, C3, MBLA, Ia). Lyb1, MBLA, Fc, IgM и Ia легко обнаруживаются на В-клетках в отличие от Т-клеток, где они проявляются только после стимуляции. С3-рецептор к компоненту комплемента, легко обнаруживается и на макрофагах. LyM1, Lyb2, 3, 4, 5, 6, 7 — специфические маркеры зрелых В-клеток; Lyb3, 5, 7 — возможно, разные антигенные детерминанты одного и того же белка. IgD — иммуноглобулин зрелых В-клеток, не вступивших в реакцию на антигенный стимул. Mph1 — специфический антиген макрофагов, остальные рецепторы и маркеры макрофагов являются общими с таковыми В- и Т-клеток. Цветные обозначения те же, что на рис. 39 (по данным J. F. C. McKenzie, T. Potter, 1979; В. М. Манько, 1982).

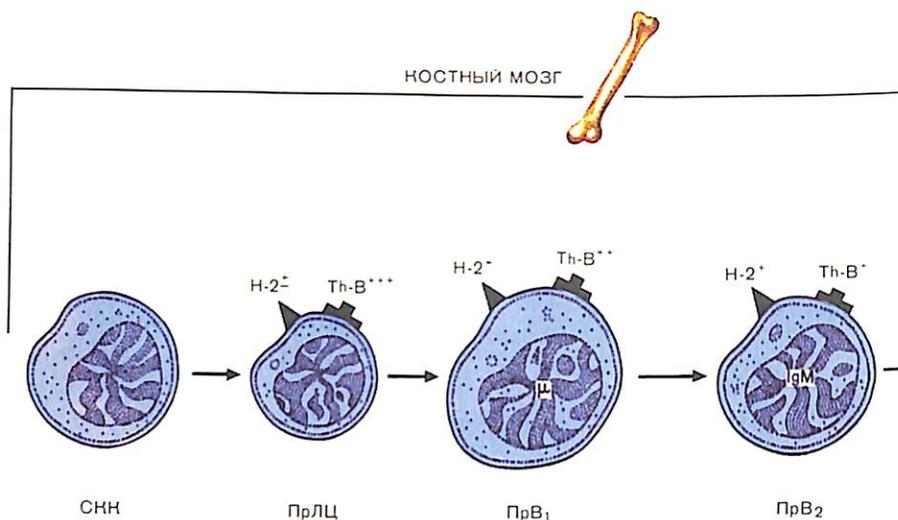
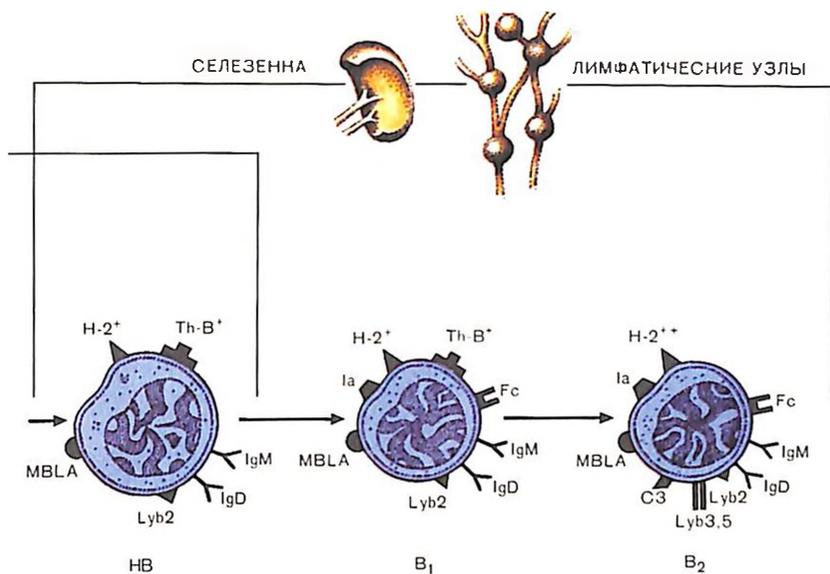


Рис. 43. Этапы антигенезависимой дифференцировки В-клеток. На первых этапах дифференцировки на территории костного мозга взрослых мышей от общего прекурсора для Т- и В-лимфоцитов (ПрЛЦ) формируется родоначальная форма для В-клеточного пути развития, или предшественник В-клеток первого типа (ПрВ₁). В данном клеточном типе происходит активация гена для тяжелой цепи IgM (μ -цепи). Продукт этого гена представлен только в цитоплазме и отсутствует на клеточной поверхности. Гены для легких χ - или λ -цепей на данном этапе дифференцировки зарепрессированы. Количество Th-B-антигена снижено по сравнению с количеством на ПрЛЦ. На следующем этапе раннего периода развития образуется предшественник В-клеток 2-го типа (ПрВ₂). Основным признаком клеток этого типа является наличие в цитоплазме мономерных молекул IgM и их отсутствие на клеточной поверхности. Уровень Th-B-антигена прогрессивно снижается. Первые наиболее ранние этапы дифференцировки генерализуют процесс развития по В-клеточному пути. Незрелая В-клетка (НВ) представлена как



в костном мозге, так и на периферии, главным образом в селезенке, хотя небольшое их количество имеется и в лимфатических узлах. Для данного этапа дифференцировки характерны появление маркера В-клеток — MBLA, наличие поверхностных иммуноглобулинов двух классов — IgM и IgD, отсутствие маркеров зрелых В-клеток. NB способны к распознаванию антигена. Однако их контакт с антигенами не приводит к трансформации в антителопродуценты. Синтез IgM (8S) и IgD в NB снижен по сравнению с этим процессом в зрелых В-лимфоцитах. В₁ — В-клетка 1-го типа представляет собой промежуточную стадию дифференцировки между NB и наиболее зрелыми клетками — В₂-клетками. В₂-клетки, помимо иммуноглобулиновых рецепторов IgM и IgD, имеют рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулина (Fc), рецептор к третьему компоненту комплемента (C3), дифференцировочные антигены Lyb3, 5, антигены I-области основной системы гистосовместимости (Ia-антигены). В₂-клетки являются непосредственными предшественниками антителопродуцирующих клеток, формирующихся после контакта В₂-клеток с антигеном.

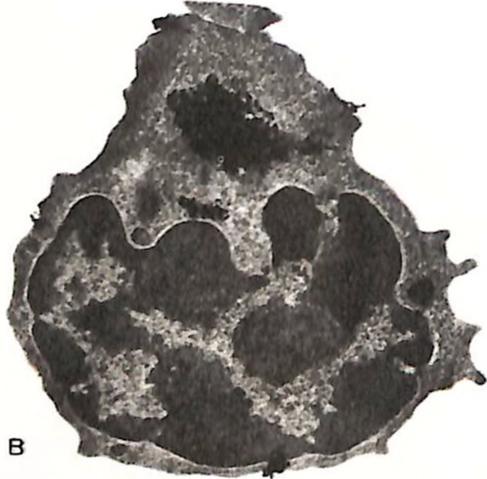
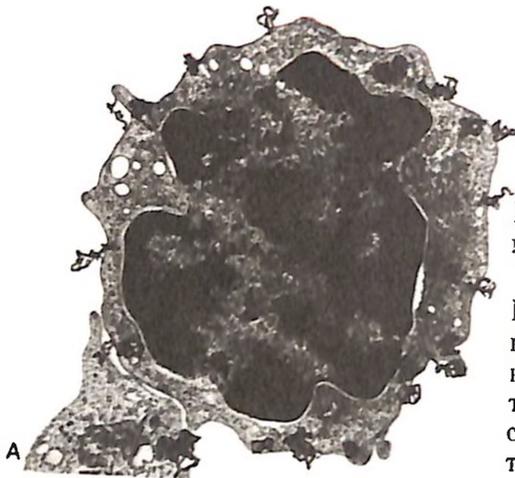


Рис. 44. Поверхностный иммуноглобулин (sIgM) В-клеток.

Прямое доказательство в пользу наличия sIgM на поверхности мемbrane В-клеток было получено при непосредственном наблюдении ауторадиографических препаратов клеток, меченных ^{125}I -анти-Ig. А — видно равномерное распределение гранул радиоактивности по периферии клетки, что свидетельствует о диффузном распределении sIgM на клеточной поверхности; Б — как и другие поверхностные белки, sIgM свободно перемещаются в билипидном слое; способность к перемещению проявляется в феномене образования «шапочки» (cap formation) как следствие концентрации комплекса sIgM — анти-Ig на одном из полюсов клетки: В — сформировавшаяся «шапочка» подвергается эндоцитозу, явление эндоцитоза sIgM, комплексированного с высокомолекулярным соединением, послужило основанием для постулирования одной из форм толерантности В-клеток [Unanue E. et al., 1972].

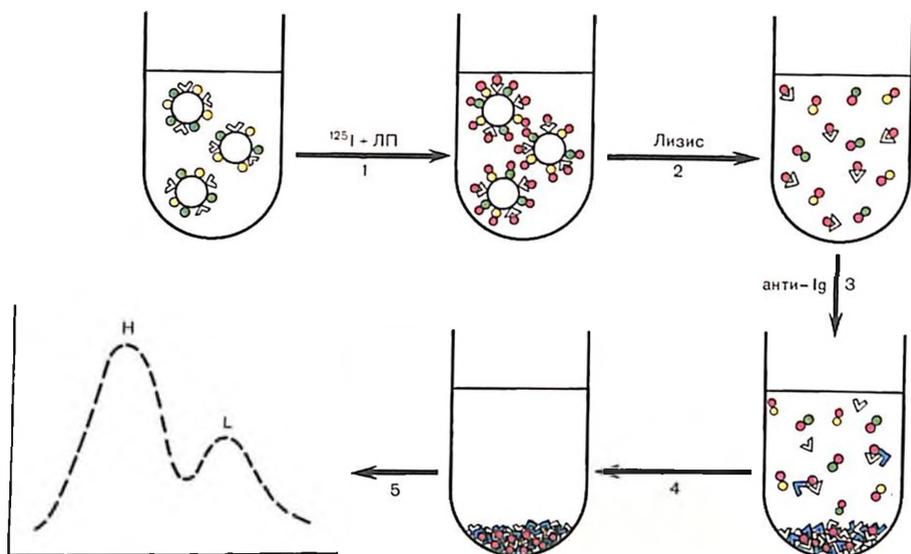


Рис. 45. Метод выделения мембранного иммуноглобулина (sIgM-8S) с поверхности В-лимфоцитов.

1. Мечение поверхностных белков лимфоцитов ^{125}I в присутствии лактопероксидазы (ЛП). 2. Лизис клеток и выход поверхностных белков в раствор. 3. Осаждение меченых иммуноглобулинов с помощью специфической анти-Ig-сыворотки. 4. Отмывание и осаждение преципитата. 5. Разрушение преципитата и электрофоретический анализ легких и тяжелых цепей в полиакриламидном геле [по Uhr J. W., Vitetta E. S., 1973; Marchalonis J. J., 1974].

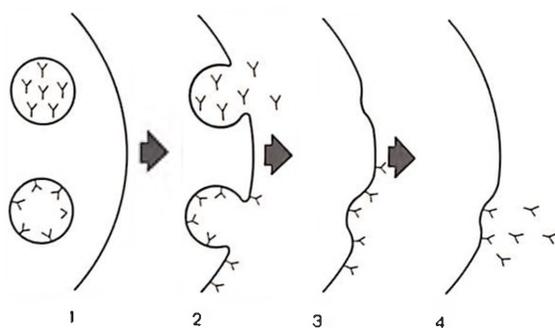


Рис. 46. Последовательные этапы выхода sIgM (8S) на клеточную поверхность В-лимфоцита.

1. Пузырьки пластинчатого комплекса содержат молекулы IgM (8S) либо свободные, либо ассоциированные с мембраной. 2. Пузырьки, приближаясь к плазматической мембране, образуют единый слой из своей собственной мембраны и внешней мембраны клетки. При этом свободные IgM (8S) экскретируются во внеклеточную среду, а ассоциированный с мембраной IgM (8S) становится компонентом плазмомембраны клетки. 3 и 4. Поверхностные IgM (8S) связаны с мембраной в течение ограниченного времени. Рассчитано, что такой иммуноглобулин ассоциирован с плазматической мембраной в течение около 3 ч. На место сорвавшихся с мембраны молекул приходят другие, и цикл повторяется [по Uhr J. W., Vitetta E. S., 1973].

МАКРОФАГИ

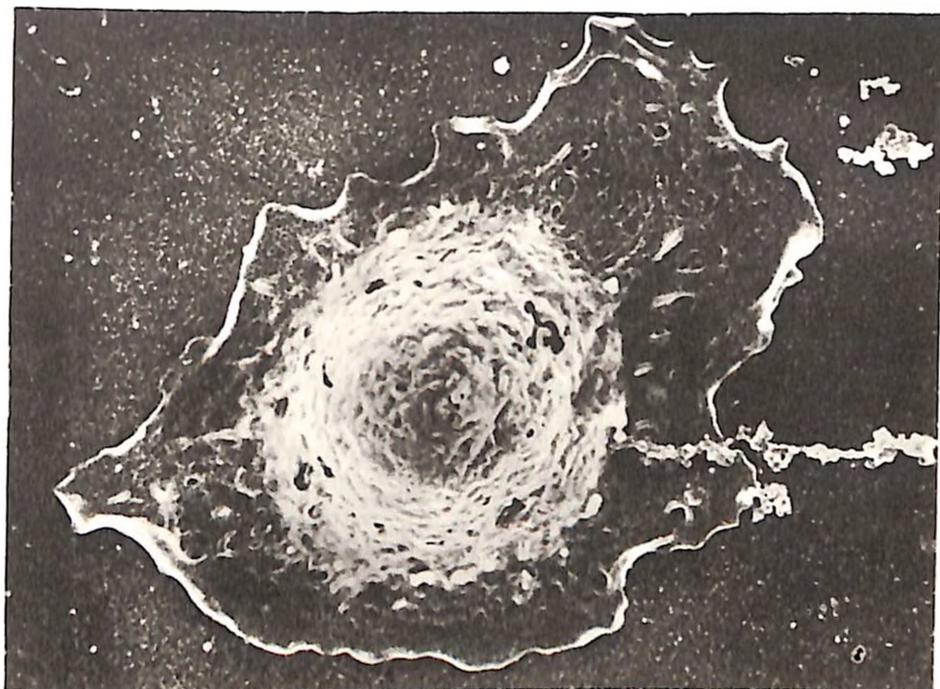


Рис. 47. Сканирующая электронная микрофотография макрофага из перитонеального экссудата мышей ($\times 15\ 000$). Препарат С. А. Чернова и Е. П. Сенченкова (1982).

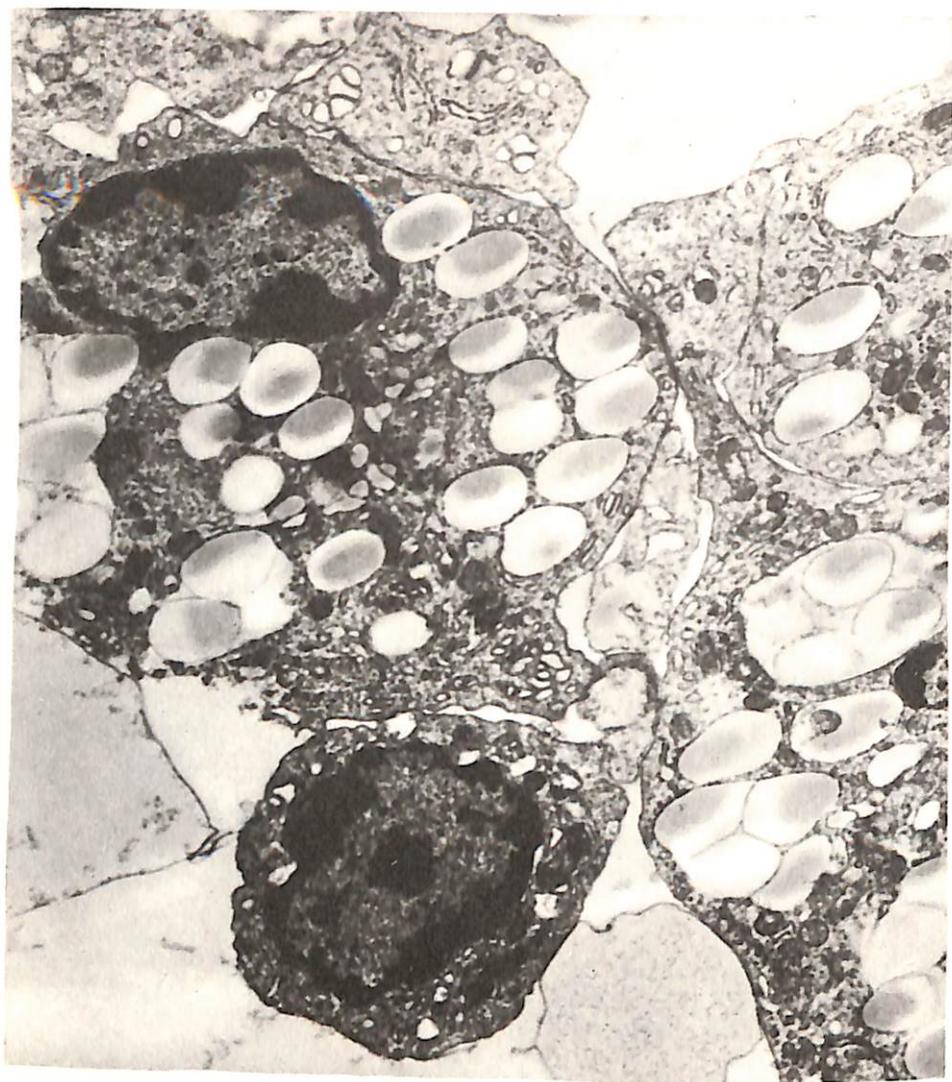


Рис. 48. Трансмиссивная электронная микрофотография макрофагов ($\times 35\ 000$). Препарат А. А. Хромцова и В. М. Земского. Препарат демонстрирует высокую фагоцитарную активность макрофагов из перитонеального экссудата мышей. Центральный макрофаг содержит 24 частицы латекса. С ним непосредственно связан (внизу) проконтактировавший лимфоцит.

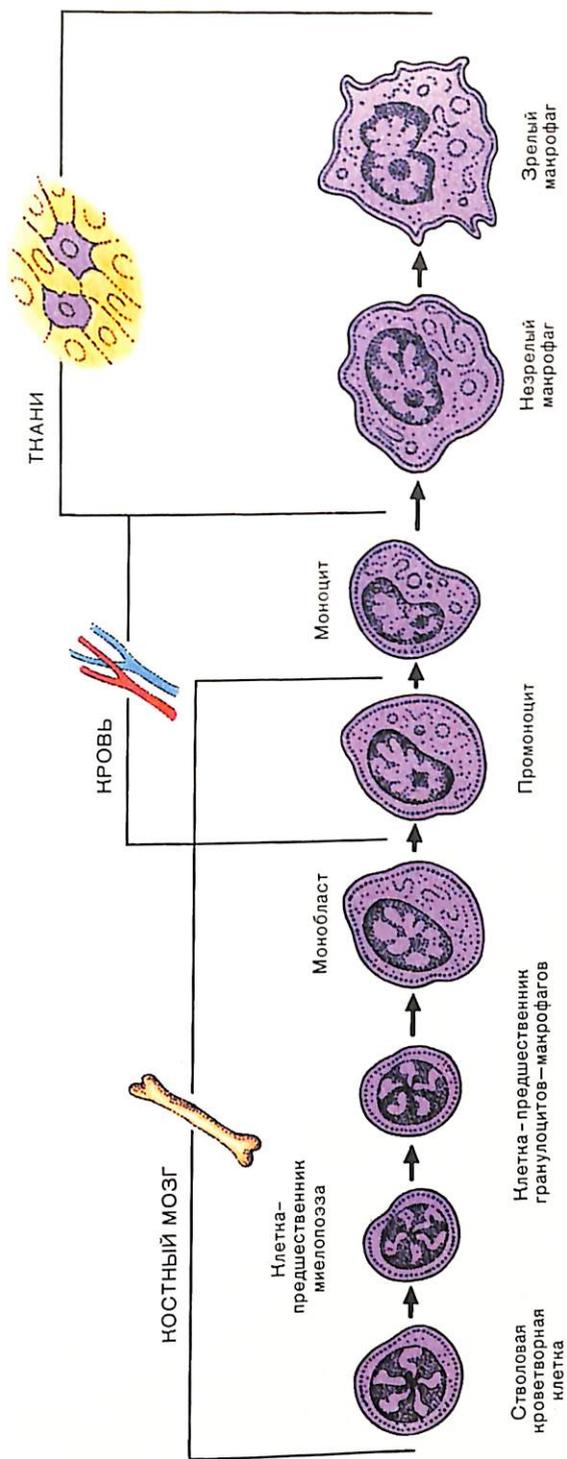


Рис. 49. Этапы созревания тканевого макрофага от прекурсора костного мозга.

Первые этапы дифференцировки происходят в костном мозге, где определяется линия развития в направлении макрофагального ростка. В крови основной

представитель данной линии развития — моноцит. При его проникновении в паренхимы органов осуществляются завершающие этапы дифференцировки, которые приводят к формированию зрелого не вступающего в пролиферацию тканевого макрофага.

Т а б л и ц а 7. Характеристика системы фагоцитирующих мононуклеаров

Свойство клеток	Монобласт костного мозга	Промоноцит костного мозга	Моноцит крови	Тканевые макрофаги		Макрофаги в культуре	
				свободные	фиксированные	молодые	старые
Диаметр, мкм	12—15	14—20	10—14	10—25	—	15—40	20—50
Ядерно-цитоплазматическое отношение	~ 1	< 1	~ 1	≪ 1	< 1	≪ 1	< 1
Форма ядра	Круглая или слабо удлинённая	Складчатая или с вдавлениями	Почкообразная	Почкообразная или овальная			
Ядрышки	+	+	+	+	+	+	+
Синтез ДНК при пульсовой метке, %	50—70	50—70	0—1	0,5—3	1,5—2,5	+	0
Полисомы		+++	+	±	±	Нет данных	Нет данных
Эндоплазматический ретикулум		+	+	++	++	То же	То же
Аппарат Гольджи		Большой	Небольшой	Разной величины		» »	» »
Митохондрии		++	++	От ++ до +++		» »	» »
Лизосомы		+	+	То же		» »	» »
Эндоцитирующие пузырьки		+	+	То же		То же	То же
Поверхностные мембраны:							
шероховатость		++	+++	++++		» »	» »
микроворсинки		+	++	+++		» »	» »

Свойство клеток	Моно- бласт кост- ного мозга	Про- моно- цит кост- ного мозга	Моно- цит крови	Тканевые макрофаги		Макрофаги в культуре	
				сво- бод- ные	фикси- рован- ные	моло- дые	ста- рые
Функцио- нальные свойства:							
прилипание к стеклу	0	От 0 до ++	++	От +++ до ++++		+++	+++
фагоцитоз	0	±	+			+++	+++
иммунный фагоцитоз		++	+++	++++		++++	
рецепторы для иммуноглобулинов	0	+	++			+++	+++

Глава 4. ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК

Как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ — это комплексный процесс, развивающийся в результате взаимодействия различных типов клеток (В-, Т-лимфоцитов, макрофагов и, возможно, иных клеточных форм, таких как дендритные клетки, нейтрофилы и др.).

Включение иммунных механизмов защиты начинается сразу после проникновения антигена (АГ) в организм (см. рис. 50). Распознавание большинства АГ (тимусзависимых АГ) в индуктивную фазу развития гуморального иммунного ответа осуществляется как В-, так и Т-клетками. Первичный иммунный ответ начинается с синтеза низкоаффинных иммуноглобулинов класса М с последующим внутриклеточным переключением на синтез IgG, а затем — IgA. При вторичном ответе на тот же самый АГ продуцируются в основном высокоаффинные IgG и IgA (см. рис. 51). Один из возможных механизмов повышения сродства иммуноглобулинов к АГ связан с селективным преимуществом в размножении клона В-клеток, имеющих более аффинные антигенраспознающие рецепторы (см. рис. 52).

Большим достижением современной иммунологии является открытие клеточного взаимодействия при развитии иммунного ответа. Н. Н. Glaman и соавт. (1966) первыми продемонстрировали участие Т- и В-клеток в формировании антителопродуцентов (см. рис. 53). Позднее было установлено, что Т- и В-лимфоциты распознают разные участки АГ. В-лимфоциты отвечают на гаптенную часть АГ, а Т-лимфоциты — на его несущую часть (см. рис. 54). На основании этих фактов были сформулированы первые гипотезы о двухклеточной системе взаимодействия при развитии иммунного ответа (см. рис. 55) и как следствие этих гипотез сформировались представления о двухсигнальной системе активации В-клеток: первый сигнал — специфический, возникающий в результате взаимодействия АГ с антигенраспознающим рецептором В-клеток, и второй — неспецифический, обусловленный медиаторами Т-клеток.

В опытах *in vitro* удалось продемонстрировать, что полноценное развитие иммунного ответа требует участия клеток третьего типа — макрофагов (МФ) (см. рис. 56). Эти экспериментальные данные легли в основу представлений о трехклеточной системе

кооперации (см. рис. 57). Попытки выяснить конкретные механизмы, обеспечивающие кооперацию клеток в индуктивный период развития иммунного процесса, определили разработку ряда экспериментальных подходов (см., например, рис. 58).

В настоящее время роль каждого клеточного типа в системе взаимодействия определена достаточно точно. Участие МФ состоит в захвате, переработке и приведении АГ в иммуногенной форме на клеточную поверхность. АГ, ассоциированный с МФ, в 100—1000 раз более иммуногенен, чем нативный АГ (см. рис. 59). Функция В-клеток проявляется в формировании антителопродукторов после специфического распознавания АГ. Т-клетки обеспечивают помощь в развитии В-клеточного клона посредством секреции медиаторов, роль которых заключается в обеспечении второго сигнала для В-клеток. Реальной формой проявления клеточной кооперации является прямой физический контакт между МФ, Т- и В-лимфоцитами. Этот контакт обеспечивает индукцию иммунного ответа (см. рис. 60). Однако некоторые авторы считают возможными и дистанционные кооперативные отношения. В суммарном виде механизмы межклеточных отношений изображены на рис. 61. Современные взгляды на развитие гуморального иммунного ответа с учетом участия в нем субпопуляций лимфоцитов, вступающих в антителопродукцию, представлены на рис. 62.

Основными участниками отторжения чужеродного трансплантата, раковых клеток или клеток, зараженных вирусом, являются соответствующие типы лимфоцитов или МФ (Т-эфффекторы гиперчувствительности замедленного типа, К-клетки, естественные киллеры, активированные или «армированные» МФ). Клеточная форма иммунного ответа проявляется в основном в двух видах: в непосредственном цитотоксическом действии Т-киллеров (Тк) и в воспалительной реакции, получившей название гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), когда в реакцию воспаления включаются в качестве соучастников МФ, которые привлекаются в воспалительный очаг инициаторами реакции — Т-клетками ГЗТ (Т_{гзт}). Участие К-клеток, естественных киллеров, и МФ оценивается как дополнительный механизм элиминации чужеродного клеточного материала (см. рис. 63).

Этапы цитотоксического действия Тк в настоящее время достаточно хорошо изучены, хотя до сих пор неизвестна молекулярная природа цитотоксина, разрушающего клетки-мишени (см. рис. 64).

Для исследования механизмов различных типов клеточного

иммунного реагирования были разработаны экспериментальные приемы *in vivo* и *in vitro*. Непосредственную цитотоксическую активность лимфоцитов изучают в реакции цитолиза, обусловленной клетками (СМЛ). Процессы антигенного распознавания и индукции Тк анализируются в смешанной культуре лимфоцитов (МЛС). Аналогом этой реакции *in vivo* считается реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Для изучения молекулярных механизмов ГЗТ используют тест подавления миграции МФ.

Развитие клеточных форм иммунного реагирования, так же как и гуморальный ответ, требует клеточной кооперации. Необходимость взаимодействия предшественников клеток-эффекторов с Т-хелперами (Т-амплификаторами) и МФ установлена при индукции Т-киллеров в МЛС (см. рис. 65), развитии РТПХ (см. рис. 66), формировании ГЗТ (см. рис. 67). В наиболее общем виде различные формы клеточного иммунного реагирования проявляются в реакции отторжения трансплантатов (см. рис. 68).

Начальные события в клеточном взаимодействии включают по крайней мере два этапа. Первый из них — это либо прямой физический контакт между кооперирующими клеточными типами (например, взаимодействие макрофага с тимоцитами или Т-клетками), либо непосредственное действие лиганда (антигена, митогена) на клетку. В результате этого начинается реализоваться второй этап — синтез и секреция биологически активных соединений, действие которых на клетку-мишень обеспечивает формирование эффекторных клеток иммунных реакций (см. рис. 69, табл. 8 и 9).

ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ АНТИТЕЛ

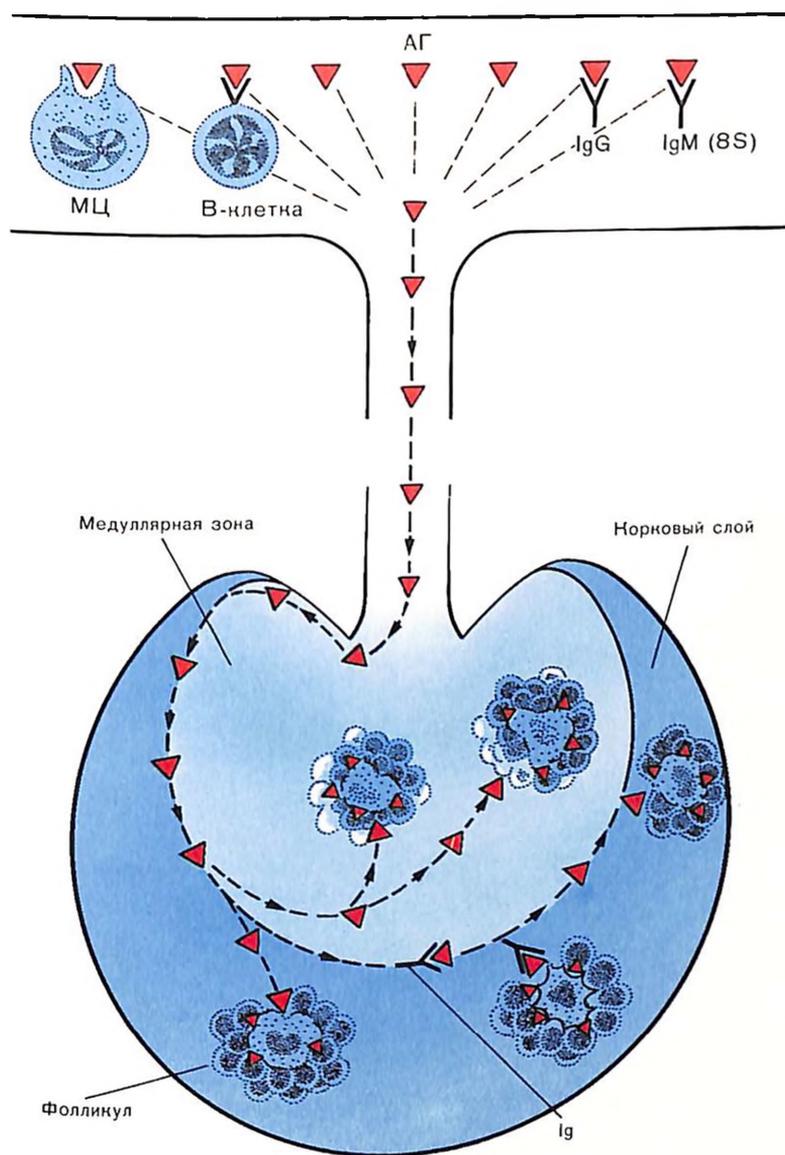


Рис. 50. Локализация антигена в лимфатическом узле.
 Накопление антигена (АГ) в тех или иных органах лимфо-миело-

идного комплекса зависит от способа проникновения АГ в организм. При попадании непосредственно в кровь АГ в значительных количествах концентрируется в селезенке. При подкожном введении АГ достигает ближайших лимфатических узлов через кровеносные и лимфатические сосуды. На рис. 50 показан способ доставки и локализации АГ в лимфатическом узле. В крови или лимфе АГ может оставаться нативным или вступать в специфическое взаимодействие либо с лимфоцитами, имеющими соответствующие антигенсвязывающие рецепторы (вероятнее всего это В-клетки), либо с IgM (8S), постоянно секретируемым В-клетками, либо с IgG при условии предсуществования его в организме. Кроме того, возможен захват АГ присутствующими в жидкостях моноцитами (МЦ). Ток жидкостей доставляет АГ в синусы маргинальной зоны. Оттуда он мигрирует в медуллярную зону, где оказывается захваченным макрофагами. Через 1—2 ч после введения концентрация АГ в медуллярной зоне достигает максимума. Помимо медуллярной зоны, АГ обнаруживается в макрофагах фолликулов коркового слоя. Если антиген мигрирует в комплексе с иммуноглобулином, то он накапливается в значительном количестве в дендритных клетках фолликулов. Некоторые АГ остаются в течение месяца и более связанными с данными клеточными формами, что имеет определенное значение для провокации вторичного иммунного ответа. Макрофаги, захватившие АГ, окружены плотным кольцом лимфоцитов, что создает реальные условия для запуска иммунных процессов.

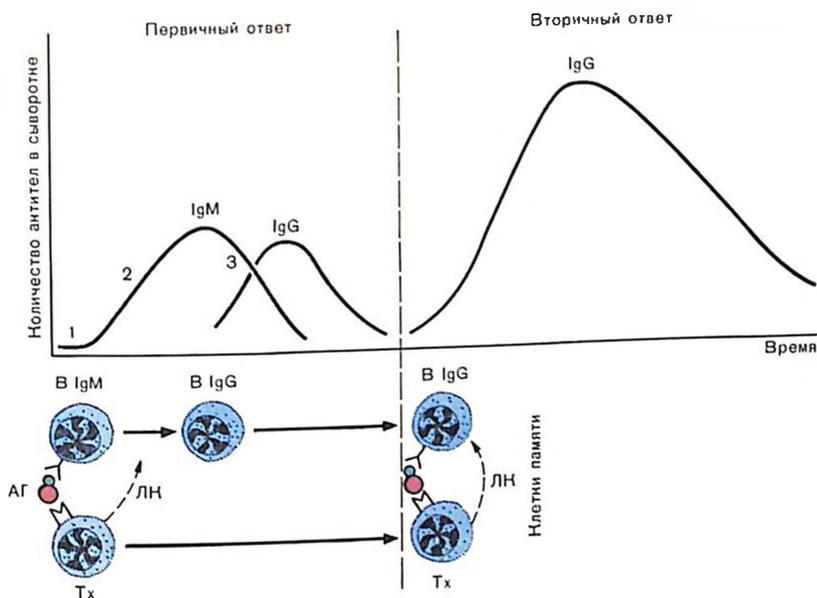


Рис. 51. Динамика образования антител.

В результате проникновения антигена (АГ) в лимфоидную ткань развиваются события, приводящие к накоплению в крови специфических к данному АГ антител. При первичном ответе динамика накопления антител характеризуется тремя периодами: лаг-фазой (латентным периодом; 1) — интервалом времени между проникновением АГ в организм и появлением первых выявляемых антител в сыворотке крови; фазой роста — экспоненциальным увеличением количества антител в сыворотке крови (2) и фазой снижения (3). В зависимости от структурных особенностей и дозы АГ, способа его проникновения, индивидуальных и видовых особенностей организма различные фазы антителопродукции варьируют. Так, лаг-фаза для бактериофага $\varnothing \times 174$ составляет приблизительно 20 ч, для гетерологичных эритроцитов — около 3 дней, для белковых АГ — 5—7 дней. Пик антител также варьирует от перечисленных выше условий; для гетерологичных эритроцитов он наблюдается через 5 дней после инъекции АГ, для белковых антигенов — через 9—10 дней. Очень медленно идет накопление антител к дифтерийному анатоксину — около 3 мес. При повторной иммунизации антитела накапливаются в сыворотке крови значительно быстрее и в большем количестве. Первичный ответ на АГ характеризуется более ранней продукцией IgM-антител. IgG-антитела появляются позднее. Повторный контакт с АГ приводит к преимущественному накоплению IgG-антител. При изучении точных механизмов первичного и вторичного иммунного ответа выявлено, что при первой встрече с АГ В-клетки с поверхностным

IgM (B IgM) в качестве антигенраспознающего рецептора реагируют на гаптенную детерминанту АГ, в то время как Т-клетки (Т-хелперы; Тх) — на несущую часть АГ. Подобное распознавание приводит к активному накоплению клеток, секретируемых IgM. Через некоторое время после начала развития реакции на АГ в части популяции В IgM-клеток происходит внутриклеточное переключение синтеза IgM на IgG. Причем это переключение осуществляется, вероятно, под влиянием лимфокинов (ЛК), секретируемых Тх. Из В IgG-клеток формируется пул клеток памяти (В-клетки памяти). Тх, распознавшие АГ при первичном контакте, формируют популяцию Т-клеток памяти. Вторичный контакт организма с АГ провоцирует немедленное развитие иммунного ответа с доминирующей продукцией IgG за счет быстрого вступления в реакцию накопленных В- и Т-клеток памяти.

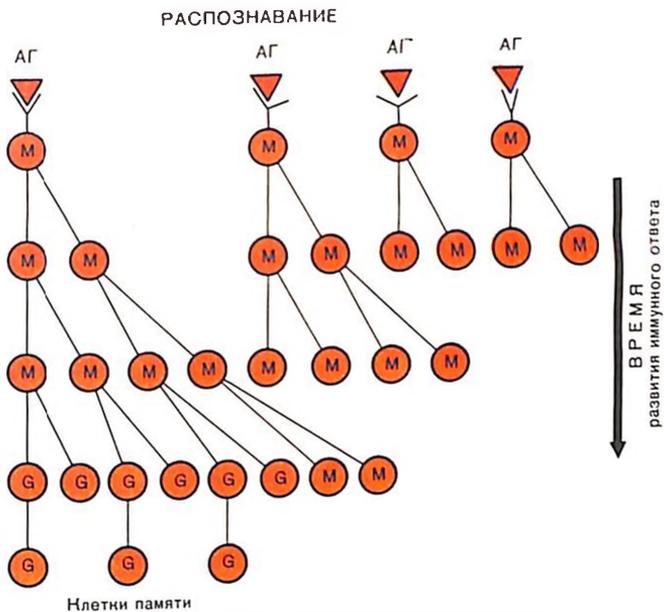


Рис. 52. Повышение аффинности антител в динамике развития иммунного ответа.

На ранних этапах формирования иммунного ответа к определенному антигену (АГ) образуется несколько близких по специфичности, но неидентичных антител. Однако по мере развития иммунного процесса сродство (аффинность) активного центра антител к антигену усиливается. На рис. 52 показан один из возможных механизмов повышения аффинности антител в процессе развития иммунного ответа. В реакцию распознавания АГ вступают клетки нескольких клонов, имеющих антигенраспознающие рецепторы отличающихся друг от друга по строению антигенсвязывающего (активного) центра. В силу этого на самых ранних этапах иммунного процесса пул специфических иммуноглобулинов будет наиболее гетерогенным. Клон, имеющий антигенраспознающие рецепторы с наибольшим сродством к АГ, будет обладать селективным преимуществом в размножении, что обеспечит ускоренное накопление высокоаффинных иммуноглобулинов. Именно в этом клоне вступает в работу механизм переключения синтеза IgM на IgG и формируется ряд клеток памяти. Схема объясняет как большую аффинность IgG по сравнению с таковой IgM, так и преимущественный синтез высокоаффинных IgG при вторичном ответе [Галактионов В. Г., 1980].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК ПРИ ГУМОРАЛЬНОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ

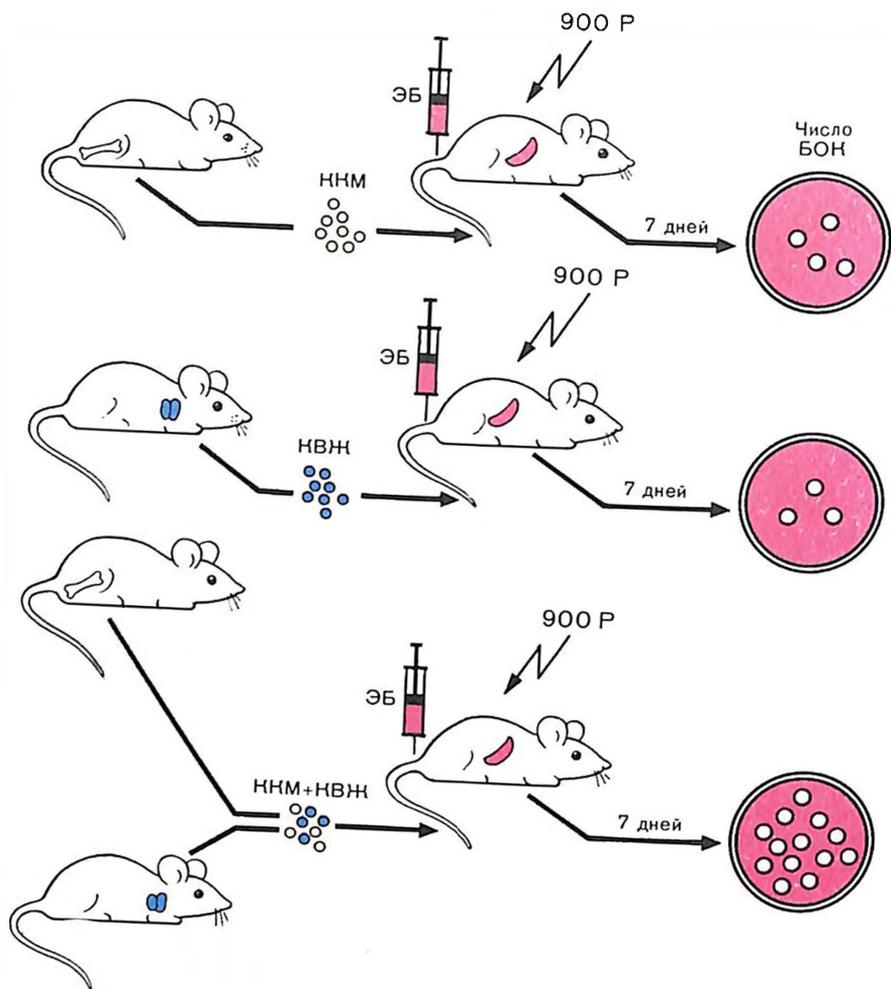


Рис. 53. Взаимодействие между клетками вилочковой железы (источника Т-клеток) и клетками костного мозга (источника В-клеток) при индукции гуморального иммунного ответа.

Гуморальный ответ развивается как комплексный процесс, который включает несколько типов клеток. Впервые необходимость кооперации Т- и В-лимфоцитов продемонстрировали Н. Н. Claman и соавт. Введение облученным мышам только клеток костного мозга — ККМ (В-лимфоцитов) или только клеток вилочковой железы — КВЖ (Т-клеток) не обеспечивает развитие иммунного ответа достаточной силы. В то же время введение смеси этих клеток приводит к формированию интенсивной продукции антител к эритроцитам барана. Причем ответ при таком совместном введении клеток значительно выше, чем сумма ответов при раздельном введении клеток различного происхождения. Иначе кооперация различных типов клеток приводит к синергическому эффекту. Ответ оценивали по количеству бляшкообразующих клеток (БОК) в селезенке (по данным Н. Н. Claman, E. A. Charperon и Triplett R. F., 1966).

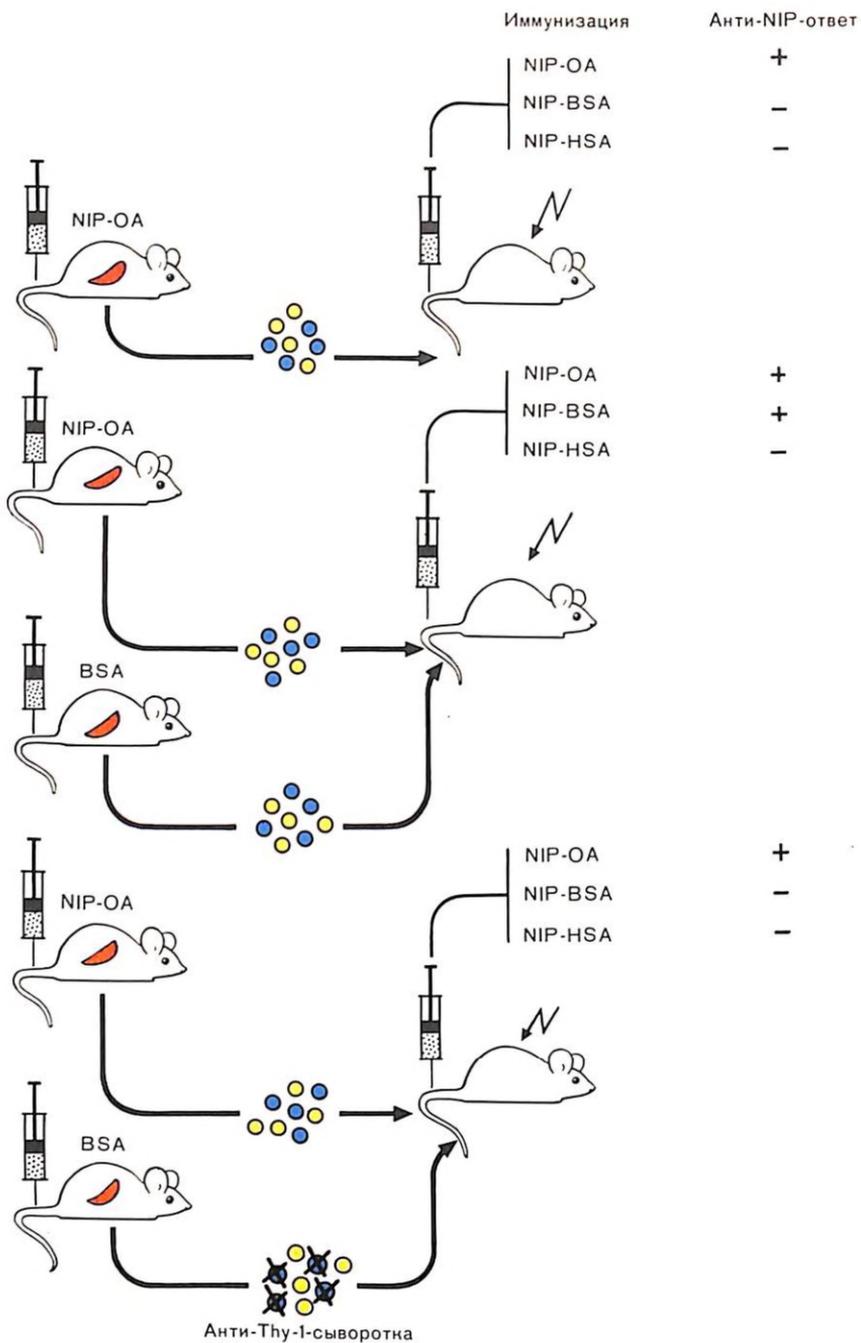
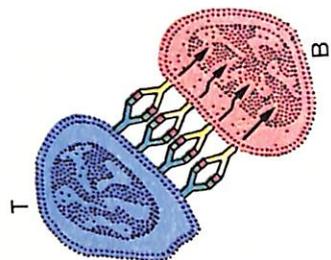
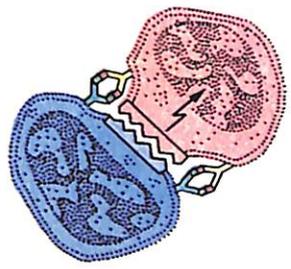


Рис. 54. Эксперименты, демонстрирующие кооперацию между клетками, специфичными к носителю (Т-клетками) и гаптену (В-клетками).

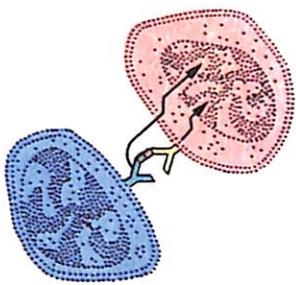
Мышей иммунизировали конъюгатом NIP-OA (NIP — гаптен 4-гидрокси-3-йод-5-нитрофенилуксусная кислота, OA — овалбумин кур, использованный как носитель для гаптена). При переносе клеток селезенки примированных мышей в организм сингенного облученного хозяина развивается анти-NIP-ответ только после введения NIP-OA. Продукция антител к NIP отсутствует, если в качестве антигена использован NIP, конъюгированный с другим носителем, например с бычьим сывороточным альбумином (BSA) или сывороточным альбумином человека (HSA). В то же время при введении клеток селезенки от мышей, иммунизированных NIP-OA и BSA, реципиенты способны отвечать как на NIP-OA, так и на NIP-BSA. На комплексный антиген гаптена с третьим, не использовавшимся при иммунизации носителем HSA, анти-NIP-ответ отсутствует. Если из клеток селезенки мышей, иммунизированных BSA, удалить Т-клетки, то оставшаяся популяция В-клеток не способна обеспечить ответ к NIP-BSA, хотя реактивность к другому конъюгату сохраняется. С помощью аллотипического маркера для иммуноглобулинов установлено, что антитела к NIP секретируются донорскими клетками, полученными от тех животных, которых иммунизировали NIP-OA, но не BSA. Таким образом, Т-клетки реагируют на носитель (опыты по элиминации Т-клеток с помощью анти-Thy-1-сыворотки), в то время как В-клетки отвечают на гаптен. Эти результаты получены в экспериментах на облученных животных и не учитывают роли фагоцитирующих мононуклеаров в процессах индукции иммунного ответа. Желтые кружки — В-клетки, синие — Т-клетки (по данным N. A. Mitchison, 1971).



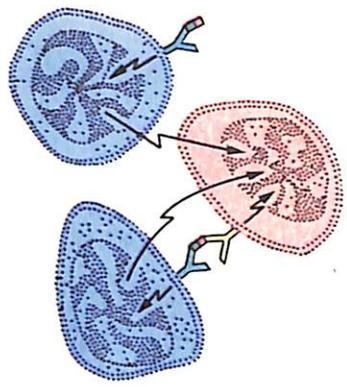
1



2



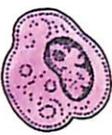
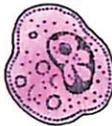
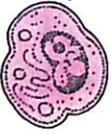
3



4

Рис. 56. Эксперименты, доказывающие необходимость трех клеточных типов (Т-клеток, В-клеток и макрофагов) для индукции антителообразования. В-клетки (В) получали из селезенки тимэктомированных и облученных животных, которым инъецировали клетки костного мозга (1). Клетки селезенки таких мышей (условно называемых В-мышами) содержат в основном В-клетки. Однако для получения более чистой В-клеточной популяции клетки вначале разделяли на прилипающую к стеклу или пластике и неприлипающую популяцию. Неприлипающие клетки обрабатывали анти-Thy-1-сывороткой и компонентом для удаления возможно присутствующих в небольшом количестве Т-клеток. Для получения Т-клеток (Т) облученным мышам вводили клетки вилочковой железы от интактного донора (2). Клет-

ки селезенки мышей после облучения «реконструированных» клетками вилочковой железы (так называемые Т-мышы) пропускали через нейлоновую вату для получения высокоочищенной Т-клеточной популяции. Популяцию макрофагов (А) выделяли из селезенки интактных мышей (3). Клетки данного типа легко прилипают к стеклу или пластике, что позволяет получать относительно чистую популяцию фагоцитирующих мононуклеаров. Какая-либо одна из популяций (В-клетки, Т-клетки или макрофаги) или смесь двух клеточных популяций не способны развить полноценный иммунный ответ *in vitro* при стимуляции антигеном. В то же время смесь клеток всех трех типов приводит к полноценной продукции антители (по данным D. E. Mosier и A. Coppleston, 1968).

КЛЕТКИ	ОТВЕТ
	0
	0
	0
 + 	0
 + 	0
 + 	0
 + 	+
	+
	+
	+

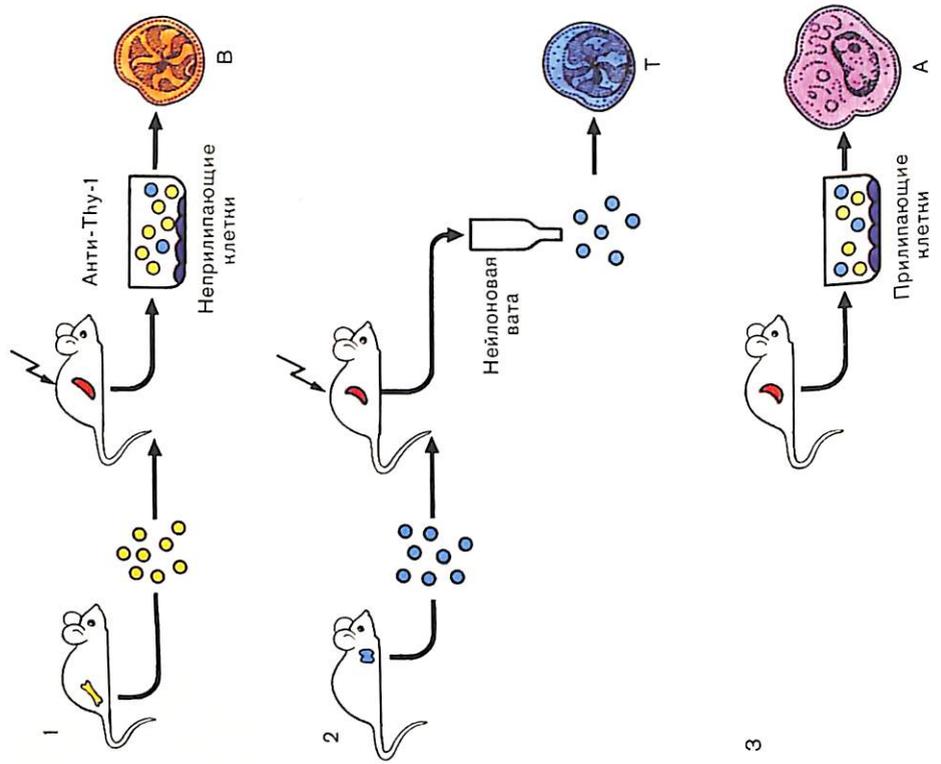


Рис. 56. Эксперименты, доказывающие необходимость трех клеточных типов (Т-клеток, В-клеток и макрофагов) для индукции антителообразования. В-клетки (В) получали из селезенки тимэктомированных и облученных животных, которым инъецировали клетки костного мозга (1). Клетки селезенки таких мышей (условно называемых В-мышами) содержат в основном В-клетки. Однако для получения более чистой В-клеточной популяции клетки вначале разделяли на прилипающую к стеклу или пластике и неприлипающую популяцию. Неприлипающие клетки обрабатывали анти-Thy-1-сывороткой и компонентом для удаления возможно присутствующих в небольшом количестве Т-клеток. Для получения Т-клеток (Т) облученным мышам вводили клетки вилочковой железы от интактного донора (2). Клет-

ки селезенки мышей после облучения «реконструированных» клетками вилочковой железы (так называемые Т-мышы) пропускали через нейлоновую вату для получения высокоочищенной Т-клеточной популяции. Популяцию макрофагов (А) выделяли из селезенки интактных мышей (3). Клетки данного типа легко прилипают к стеклу или пластике, что позволяет получать относительно чистую популяцию фагоцитирующих мононуклеаров. Какая-либо одна из популяций (В-клетки, Т-клетки или макрофаги) или смесь двух клеточных популяций не способны развить полноценный иммунный ответ *in vitro* при стимуляции антигеном. В то же время смесь клеток всех трех типов приводит к полноценной продукции антител (по данным D. E. Mosier и A. Coppleston, 1968).

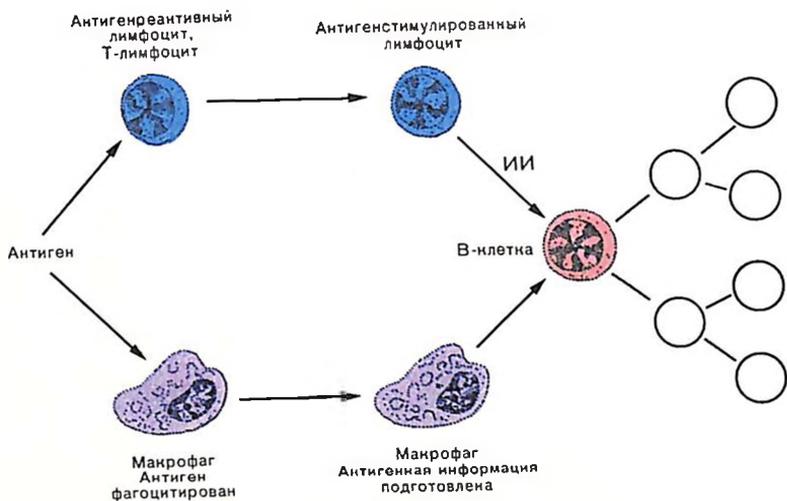


Рис. 57. Трехклеточная система взаимодействия при развитии гуморального иммунного ответа.

В-лимфоцит получает специфическую информацию об антигене от поглотившего чужеродный материал макрофага и неспецифическую — от индуктора иммунопозза (ИИ), секретируемого Т-лимфоцитом после распознавания антигена. В условиях, когда кооперируют все три типа клеток, развивается полноценный иммунный ответ. Если В-клетка получает только информацию об антигене от макрофага, а помощь со стороны Т-клетки отсутствует, то индуцируется специфическая неответаемость — толерантность. При действии на В-клетку только ИИ происходит синтез неспецифических иммуноглобулинов [Петров Р. В., 1970].

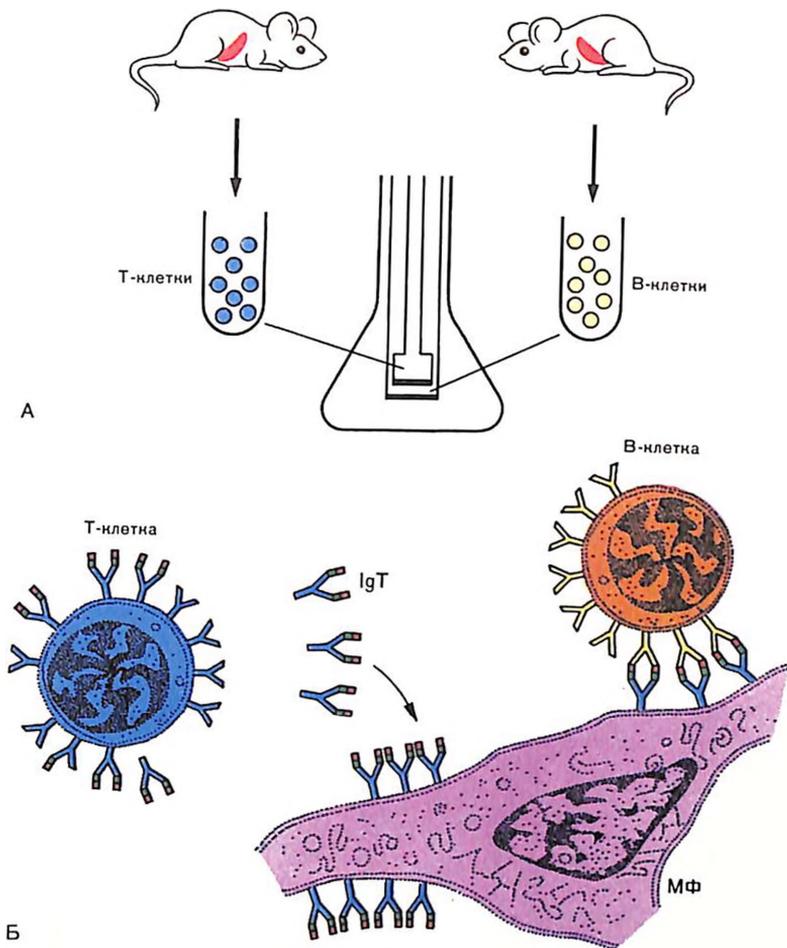


Рис. 58. Взаимодействие Т- и В-клеток без прямого контакта.

А. Т-клетки, примированные к конъюгату DNP-гемоцианин, помещали в верхний сосуд двухкамерной культуральной системы. В-клетки (клетки селезенки от мышей, примированных к DNP-флагеллину и обработанные анти-Thy-1-сывороткой) вносили в нижний сосуд. Два сосуда разделены миллипоровой мембраной, которая препятствует клеточному обмену, но позволяет проникать макромолекулам. Показано, что для развития иммунного ответа к DNP между Т- и В-клетками контакт не обязателен. В то же время требуется прямая физическая связь между макрофагом (МФ) и В-клеткой. Реализация иммунного ответа осуществляется гуморальным фактором Т-клеток, включающим иммуноглобулин, названный IgT, и антиген. **Б.** Предполагаемый механизм индукции В-клеток включает в качестве основного участника антигенспецифический фактор Т-клеток (IgT, ассоциированный с антигеном). Фактор после выхода из Т-клетки сорбируется на МФ, создавая «батарею» антигенных детерминант, которые обеспечивают полноценное включение в ответ В-клеток [по Feldman M., 1974].

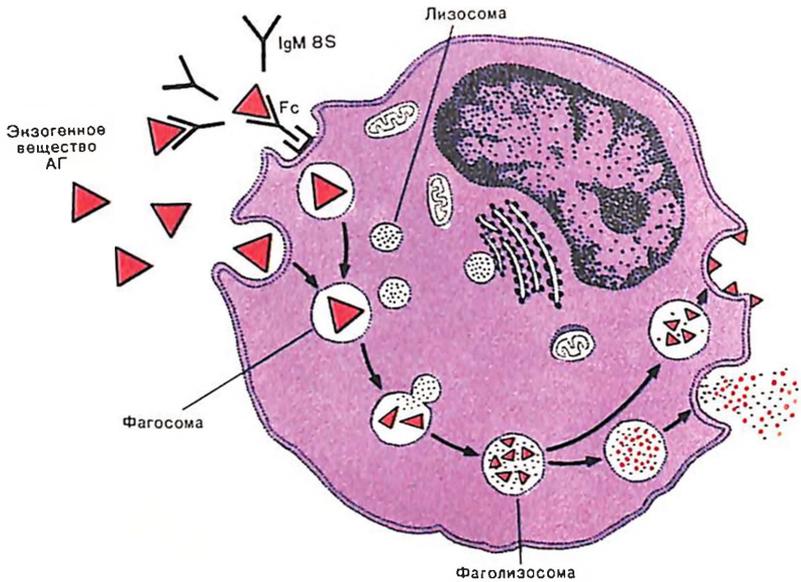


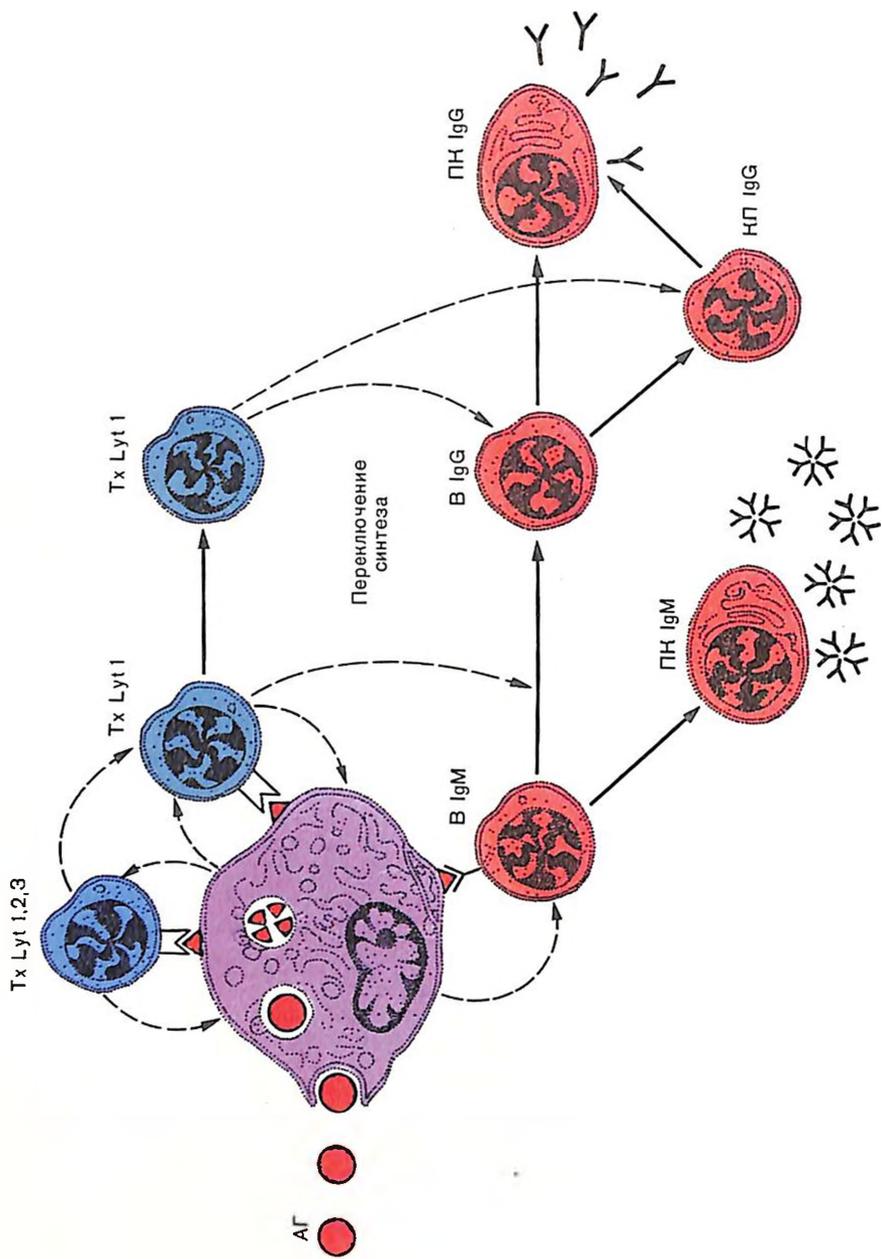
Рис. 59. Захват и переработка антигена макрофагами.

Роль макрофагов (МФ) в развитии иммунного ответа состоит не только в пассивной сорбции антигенспецифических рецепторов Т-клеток (см. рис. 58), но и в активном захвате антигенного материала, его внутриклеточном переваривании и представлении фрагментов антигена (АГ) на клеточной поверхности в иммуногенной форме. На рис. 59 представлены этапы этих событий. Возможны два способа поглощения антигена макрофагами: первый — прямой захват АГ после его адгезии на поверхности МФ, второй — более эффективный, он связан с процессом опсонизации. В качестве одного из опсонизирующих веществ выступает мономерная форма иммуноглобулина (IgM 8S), выполняющего функцию антигенраспознающих рецепторов В-клеток. В норме они постоянно срываются с клеточной поверхности В-лимфоцитов и создают таким образом постоянный пул предсуществующих к определенным АГ специфических молекул. Функцию опсонизации могут выполнять и IgG. Проникший в организм АГ взаимодействует со специфическими иммуноглобулинами (IgM 8S или с IgG). Процесс адгезии осуществляется в результате взаимодействия Fc-части иммуноглобулинов с Fc-рецепторами, которыми обладают макрофаги. Вслед за адгезией происходит процесс фагоцитоза — поглощение адгезированного АГ. Образовавшаяся в результате захвата антигена фагосома сливается с лизосомами, обильно представленными в цитозоле клетки. В сформировавшихся фаголизосомах идет активный процесс гидролиза антигенного материала. Под влиянием гидролаз фаголизосом АГ либо полностью гидролизуется и выходит из клетки, либо процесс гидролиза остается незавершенным,

что может быть связано с недостаточным количеством или активностью ферментов фаголизосом или избыточностью поглощенного АГ. В этом случае неполностью разрушенный АГ выходит на клеточную поверхность в иммуногенной форме.



Рис. 60. Контактное взаимодействие макрофага с Т-клетками.
Электронная микрофотография взаимодействия макрофага с Т-клетками *in vitro* (реакция гроздеобразования). Препарат: А. S. Rosenthal и Е. Shevach (1973).



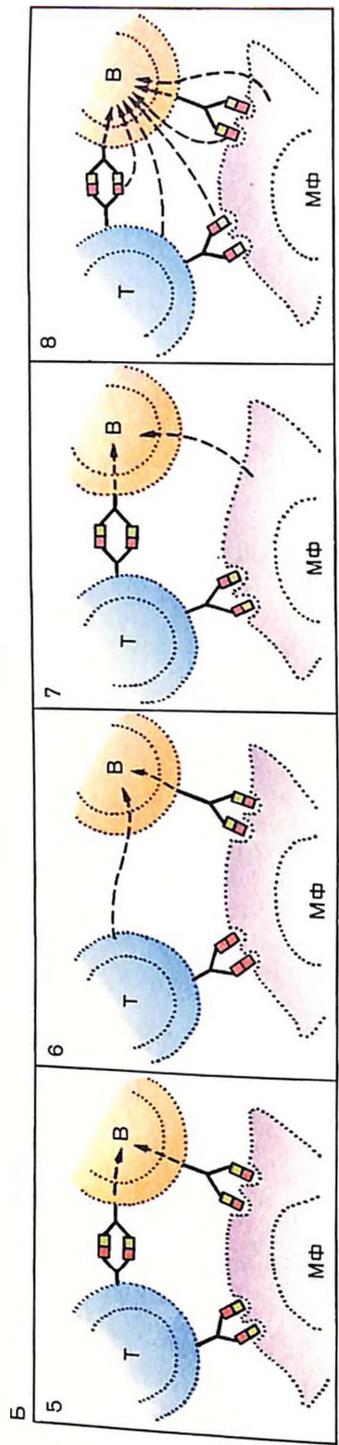
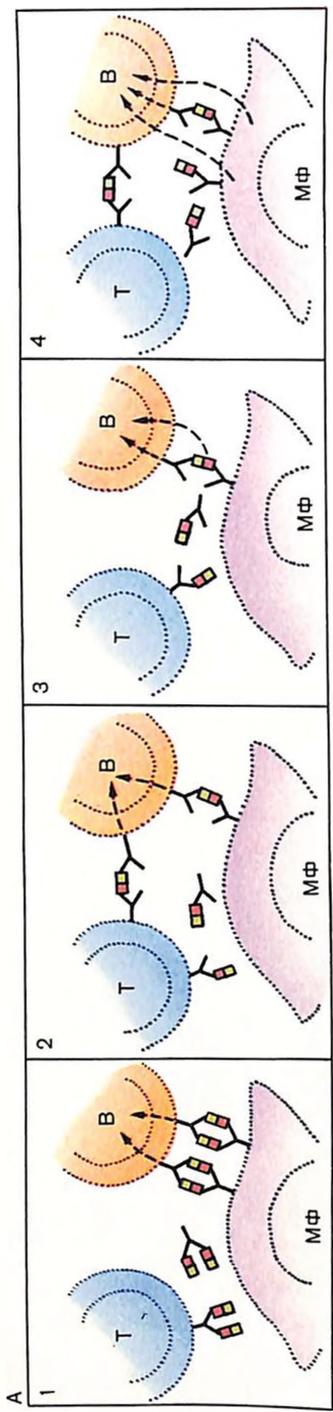


Рис. 61. Возможные механизмы взаимодействия клеток в трехклеточной системе кооперации (Т-клетки — В-клетки — макрофаги).

Установление факта необходимости макрофагов (МФ) для индукции иммунного ответа на тимусзависимые антигены (АГ) стимулировало проведение обширных исследований, цель которых заключалась в выяснении конкретных механизмов, действующих в трехклеточной системе кооперации. Функция каждого клеточного типа в системе взаимодействия в определенной степени выяснена. МФ обеспечивает представление АГ в иммуногенной форме на своей поверхности. Т-хелперы, распознав АГ, обеспечивают помощь В-клеткам. Сами В-клетки после комплексной стимуляции, включающей специфическое действие АГ и неспецифическое (медиаторы Т-клеток и МФ), вступают в процесс пролиферации и дифференцировки, результатом которой является образование антителопродуцирующих плазмочитов. На рис. 61 показано несколько возможных путей, приводящих к индукции иммунного ответа в трехклеточной системе взаимодействия.

А. Передача рецепторов Т-клеток на МФ. 1. Рецептор Т-клеток (Т) — комплекс IgT с АГ — концентрируется на МФ в результате взаимодействия Fc-части Ig с Fc-рецептором МФ. Возникающая «батарея» АГ достаточна для активации В-клетки (В). 2. Двух-сигнальное взаимодействие, возникающее в результате контакта антигенраспознающих рецепторов В-клеток с АГ на поверхности Т-клеток и одновременно на МФ. 3. Взаимодействие В-клеток с МФ, приводящее к возникновению двух сигналов: от антигенраспознающего рецептора В-клеток и рецептора Т-клеток, ассоциированного с МФ. 4. Взаимодействие В-клетки через антигенный мостик с Т-клеткой и МФ, в результате чего возникает дополнительный сигнал со стороны МФ в виде секретируемого монокина.

Б. Контактное взаимодействие Т-клеток — В-клеток — МФ. 5. В результате концентрации АГ на поверхности МФ происходит прямое контактное взаимодействие данной клеточной формы с Т- и В-клетками посредством антигенраспознающих рецепторов. Одновременно возникает контактная связь через антигенный мостик между Т- и В-клетками. 6. Т- и В-клетки вступают в прямой контакт с МФ, имеющим АГ на своей поверхности. Взаимодействие между Т- и В-клетками опосредуется лимфокином Т-клеток. 7. В результате прямого контакта между Т- и В-клетками посредством антигенного мостика возникает сигнал для В-клетки. Второй сигнал В-клетка получает от МФ в виде растворимого медиатора — монокина — после воздействия МФ с Т-клетками. 8. Множественные сигналы, возникающие в результате взаимодействия В-клеток с Т-клетками и МФ, могут быть специфическими как результат взаимодействия антигенспецифических рецепторов с соответствующим АГ и неспецифическими как результат антигенной активации МФ и Т-клеток [по Sell St., 1980].

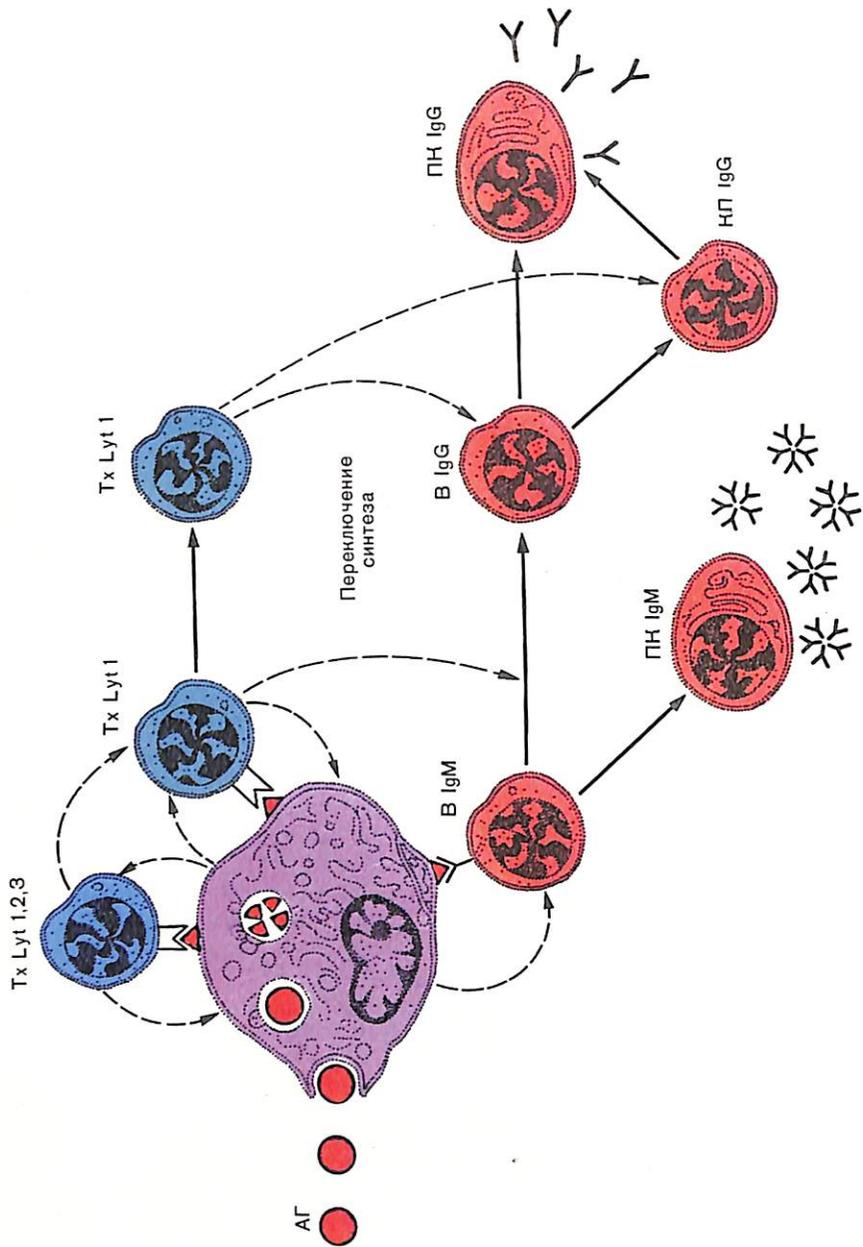


Рис. 62. Развитие гуморального иммунного ответа.

«Суммарная» схема, учитывающая субпопуляции лимфоцитов, которые участвуют в индукции антителогенеза, переключение синтеза IgM на синтез IgG и создание клеток памяти. Захваченный макрофагами (МФ) антиген (АГ) выводится на клеточную поверхность в иммуногенной форме. В реакцию распознавания АГ вступают «ранние» Т-хелперы с фенотипом Lyt1, 2, 3 (Тх Lyt1, 2, 3), которые способствуют созреванию «поздних» Т-хелперов, помогающих антителопродукции (Тх Lyt1). Развитие первичного IgM-ответа не требует помощи со стороны Тх Lyt1. Для накопления плазматических клеток, продуцирующих IgM-антитела (ПК IgM), очевидно, достаточно простого распознавания АГ на поверхности МФ. Однако помощь Тх Lyt1 необходима для внутриклеточного переключения синтеза IgM на синтез IgG, накопления плазматических клеток, синтезирующих и секретирующих IgG (ПК IgG) и вступления клеток памяти (КП IgG) во вторичный иммунный ответ.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК ПРИ КЛЕТОЧНОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ

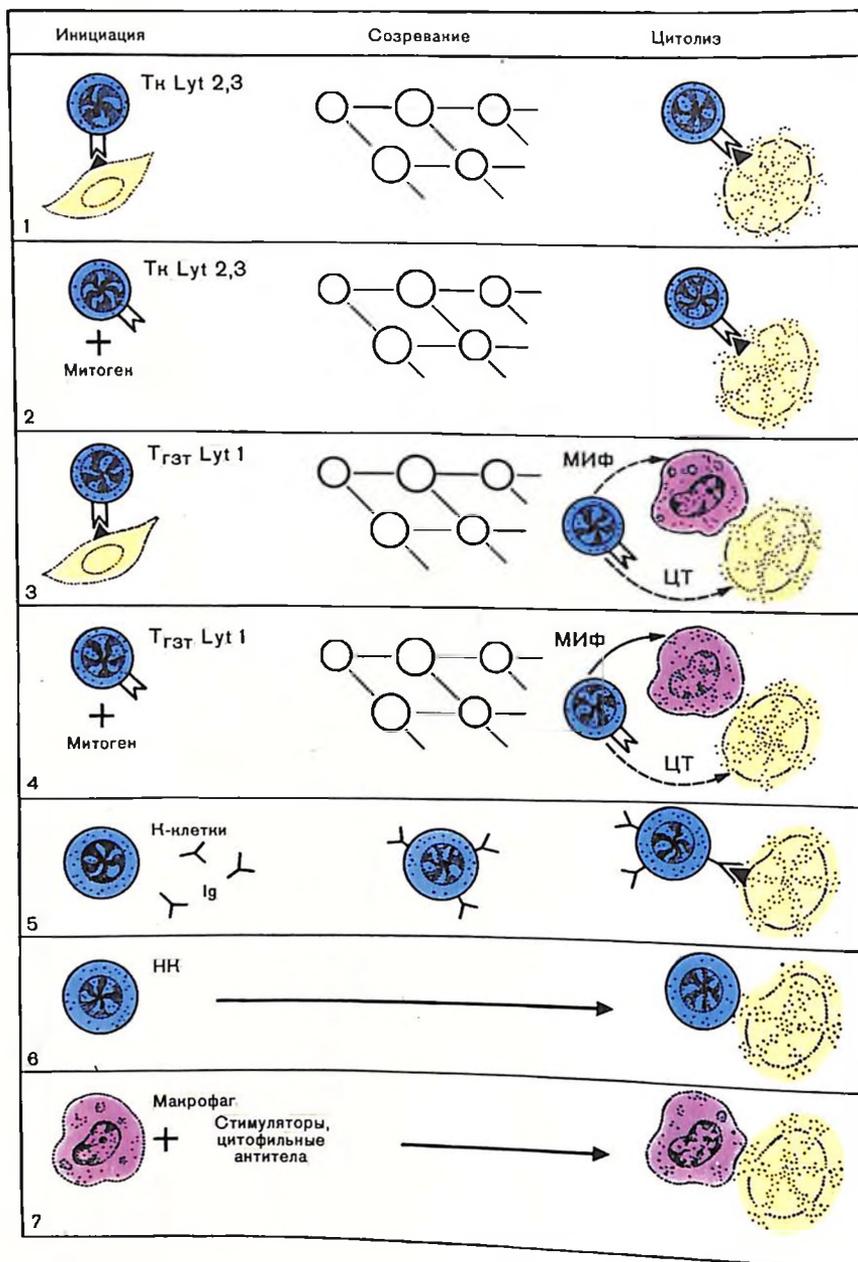


Рис. 63. Формы цитотоксических реакций в клеточном иммунитете.

Помимо гуморального иммунного ответа, когда процесс элиминации чужеродного антигена осуществляется специфическими иммуноглобулинами (антителами), существует клеточная форма реагирования. Клеточный иммунитет проявляется в реакциях клеток иммунной системы на чужеродные для данного организма клеточные формы. Клетками-мишенями в этом случае могут быть клетки трансплантата, опухолевые клетки, клетки, зараженные вирусом. Основными эффекторами в реакциях клеточного иммунитета являются Т-киллеры (Тк). Однако цитотоксическое разрушение клеток-мишеней способны осуществлять и другие типы клеток. На рис. 63 показаны различные формы цитотоксической активности клеток, участвующих в реакциях клеточного иммунитета.

1. Тк сенсibilизируются к антигенам клеток-мишеней и после этапа созревания (пролиферации и дифференцировки) осуществляют прямой лизис клеток-мишеней. 2. Несенсibilизированные предшественники Тк активируются митогенами и после этапа созревания приобретают способность к лизису клеток-мишеней. 3. T_{H2T} сенсibilизируются к антигенам клеток-мишеней и становятся способными к активной секреции цитотоксинов (ЦТ), разрушающих клетки-мишени, или медиаторов (например, МИФ), привлекающих в место реакции макрофаги. Реакция лизиса клеток-мишеней осуществляется мигрировавшими в место реакции макрофагами (реакция непрямого киллинга). 4. T_{H2T} активируется митогенами, в результате чего разворачиваются события, аналогичные тем, которые указаны выше. Специфически сенсibilизированные или активированные T_{H2T} способны также к непосредственному лизису клеток-мишеней. 5. К-клетки после связывания специфических Ig посредством Fc-рецепторов приобретают способность к лизису клеток-мишеней (реакция антителозависимой клеточной цитотоксичности). 6. Натуральные киллеры (НК) способны оказывать непосредственный цитотоксический эффект на клетки-мишени. 7. Активированные различными стимуляторами (эндотоксином, полинуклеотидами и др.) макрофаги или макрофаги, опсонизированные Ig (армированные макрофаги), приобретают способность к лизису клеток-мишеней [по Sell St., 1980].

ИНГИБИТОРЫ

Протеазы, ЭДТА, антитела к клеткам-мишеням, азид натрия, пуромицин, динитрофенол

Стимуляторы цАМФ, колхицин, винбластин, ЭДТА, гепарин

Низкая температура, преднизолон, хлорохин, трипановый синий, фтородаты, декстран, (40 000)

Специфическое связывание

„Летальный удар“

Разрушение клеток - мишеней

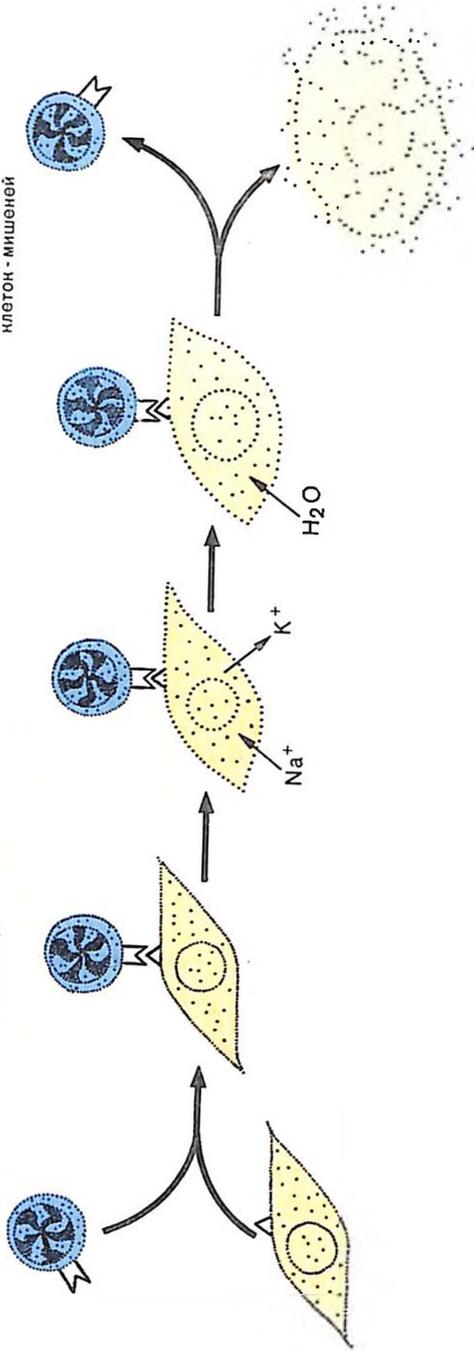
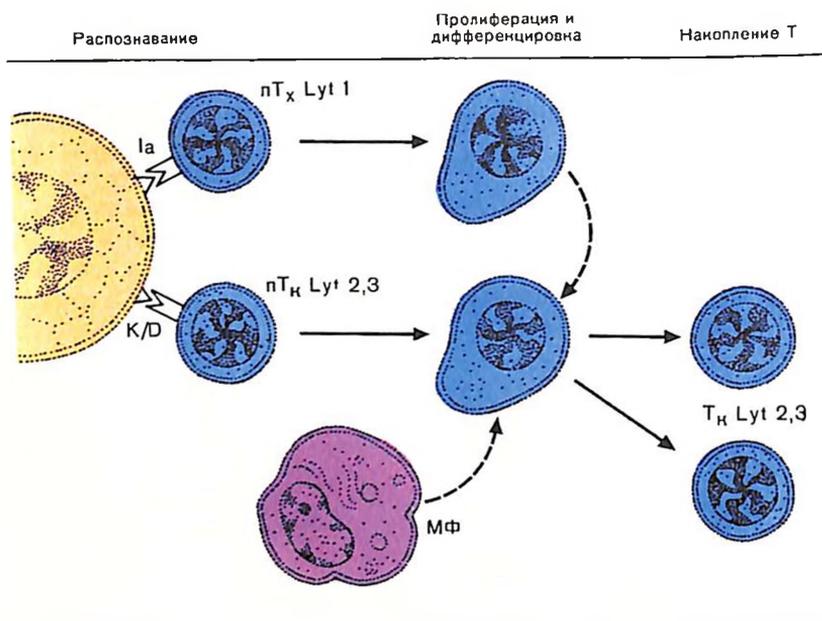


Рис. 64. Этапы взаимодействия Т-киллера с клеткой-мишенью.

Цитотоксическое действие основных участников клеточного иммунитета — Т-киллеров (Тк) — складывается из нескольких этапов. Первый этап — специфическое связывание сенсibilизированных Тк с антигенами (АГ) клеток-мишеней. Взаимодействие антиген-распознающего рецептора Тк с соответствующим АГ не единственный процесс при установлении контакта между двумя клетками. Имеется много дополнительных, неспецифических событий, связанных с молекулярной характеристикой клеточной поверхности, которые обеспечивают наиболее эффективную динамическую адгезию Тк на клетках-мишенях. Вторым этапом — «летальный удар» — основное событие, предопределяющее гибель клетки-мишени. Механическое разобщение Тк и клетки-мишени на этом этапе «не спасает» последнюю от гибели. Механизм, лежащий в основе «летального удара», неясен. Известно, что Тк должен находиться в состоянии активного метаболизма. При этом поддержание жизнеспособности клетки-мишени не обязательно. Возможно, имеются специальные белковые вещества ферментной природы — лимфотоксины, повреждающие мембрану клетки-мишени. Одним из существенных моментов второго этапа является повышение проницаемости плазматической мембраны клетки-мишени. Третий этап, приводящий к лизису клетки-мишени, характеризуется увеличением объема клетки за счет все большего проникновения H_2O через поврежденную мембрану. Следствием этого процесса являются разрыв мембраны клетки-мишени и ее гибель. Тк остается неповрежденным и способен к дальнейшему цитотоксическому действию (по данным Б. Д. Брондза, О. В. Рохлина, 1978; St. Sell, 1980).

ОТВЕТ НА ВЕСЬ КОМПЛЕКС АНТИГЕНОВ ГЛАВНОЙ СИСТЕМЫ
ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ



ОТВЕТ НА РАНОВЫЕ АНТИГЕНЫ И ИЗМЕНЕННЫЕ СОБСТВЕННЫЕ
АНТИГЕНЫ

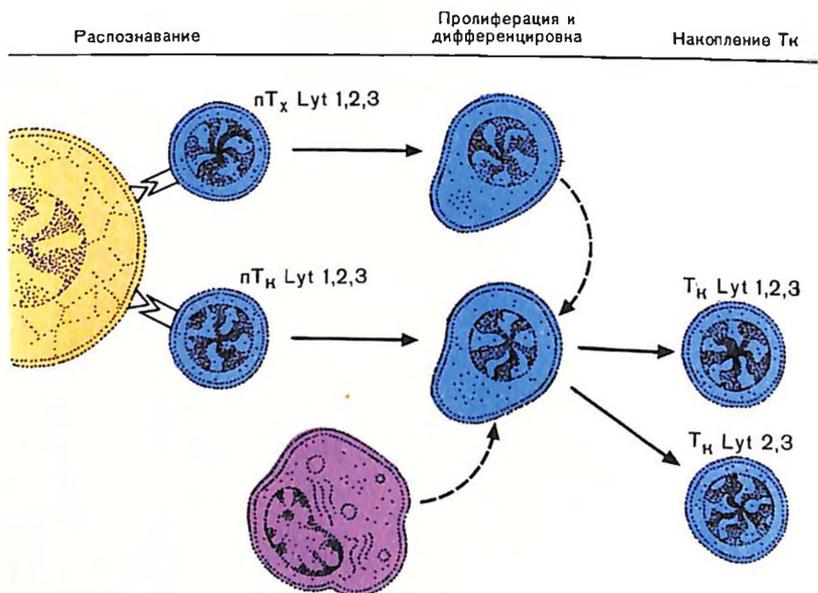


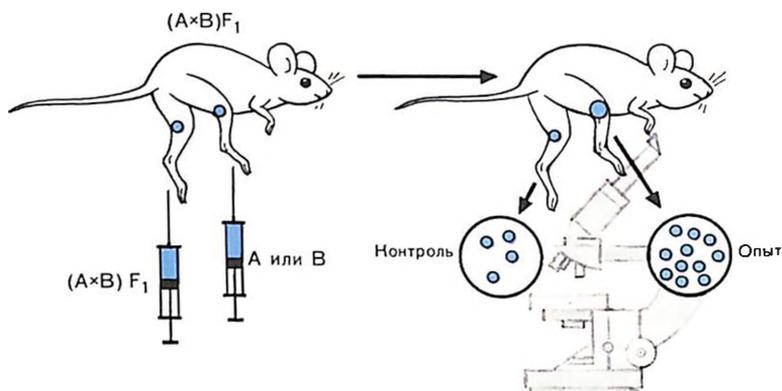
Рис. 65. Взаимодействие клеток при индукции Т-киллеров (реакция в MLC).

Для изучения механизма действия Т-киллеров (Тк) используют два приема: индукцию Тк *in vivo*, когда для получения Тк проводят иммунизацию организма антигенами клеток-мишеней (обычно это аллогенные или раковые клетки), и индукцию Тк *in vitro*, когда сенсibilизацию предшественников Тк (пТк) проводят в смешанной культуре лимфоцитов (MLC). В последнем случае в качестве клеток-стимуляторов для сенсibilизации пТк используют клетки лимфоидной ткани, генетически отличающиеся от распознающих пТк, клетки, модифицированные вирусом или иным экзогенным антигеном (например, гаптеном), а также сингенные раковые клетки. Клетки-стимуляторы облучают суперлетальной дозой или обрабатывают ингибитором клеточного деления для подавления их пролиферации. пТк вносят в культуру интактными. В результате распознавания антигенов клеток-стимуляторов пТк вступают в реакцию пролиферации и дифференцировки, что оценивается по включению ^3H -тимидина или микроскопически. Эффективность сенсibilизации пТк, результатом которой является накопление зрелых Тк, определяется во вторичной культуре по лизису клеток-мишеней, аутологичных или сингенных клеткам-стимуляторам.

В аллогенной системе, когда между клетками-стимуляторами и клетками, вступающими в реакцию MLC, имеются различия по всему комплексу локусов главной системы гистосовместимости, распознавание трансплантационных антигенов (у мышей антигены локусов H-2K и H-2D) осуществляется пТк с фенотипом Lyt2,3. Установлено, что распознавание антигена пТк недостаточно для генерации функционально активных Тк. Необходима помощь со стороны вспомогательных клеточных типов — Т-амплификаторов (Т-хелперов клеточной формы реагирования) и макрофагов. Предшественники Т-хелперов (пТх), распознающие антигены I-области (Ia-антигены), обладают фенотипом Lyt1. Помощь Тх и макрофагов опосредуется через гуморальные факторы.

Если клетки-стимуляторы представлены измененными «собственными» клетками (например, сингенными клетками, обработанными гаптеном или вирусом, в результате чего образуется «новый» антиген — комплекс гаптена или вируса с продуктами главной системы гистосовместимости) или сингенными, опухолевыми клетками, то в реакцию распознавания вступают пТк, имеющие фенотип Lyt1, 2, 3. Помощь в данном случае оказывают Тх того же фенотипа Lyt1, 2, 3. пТк-фенотипа Lyt1, 2, 3 при созревании дифференцируется в две субпопуляции с фенотипом Lyt1, 2, 3 и Lyt2, 3 (по данным F. H. Bach, B. J. Alter, 1979).

ВАРИАНТ ПОСТАНОВНИ РТПХ



РАЗВИТИЕ РТПХ

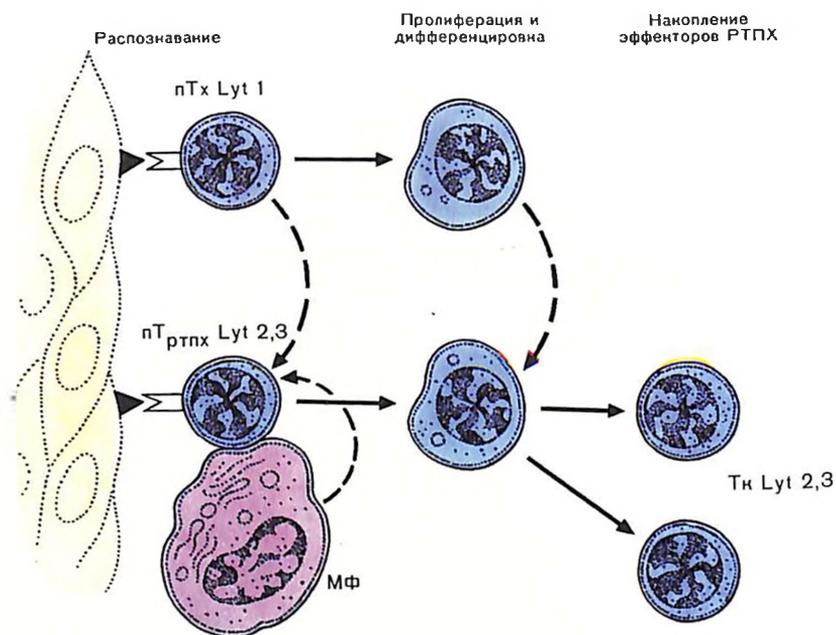


Рис. 66. Взаимодействие клеток при развитии реакции «трансплантат против хозяина».

В клинической практике для компенсации врожденной или приобретенной иммунологической недостаточности иногда вынуждены прибегать к трансплантации клеток кроветворной и лимфоидной ткани. Поскольку в клеточном трансплантате содержатся иммунокомпетентные клетки, то, как правило, развивается реакция этих клеток на антигены реципиента. Такая реакция получила название реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Для экспериментального воспроизведения РТПХ требуются следующие условия: 1) реципиент должен быть толерантным к введенным клеткам; 2) трансплантируемые клетки должны обладать иммунологической компетенцией; 3) между клетками донора и реципиента должны существовать антигенные различия.

В эксперименте реакцию оценивают либо по увеличению селезенки или лимфатических узлов, либо по смертности иммунологически инертного реципиента, которому введены лимфоциты генетически отличающегося донора. Один из вариантов РТПХ — увеличение массы и количества клеток в лимфатическом узле, регионарном к месту введения чужеродных лимфоцитов. Схема постановки реакции представлена на рис. 66. Мышам (А×В) F₁ вводят лимфоциты одного из родителей (А или В) в подушечку одной из лап. Реципиент иммунологически толерантен к введенным клеткам, так как антигены родителей полностью представлены в гибриде. В подушечку противоположной лапы (контроль) вводят генетически идентичные клетки гибрида. Через 7 дней определяют массу или количество клеток в подколенном (регионарном к месту введения клеток) лимфатическом узле. Отношение количества клеток в «опытном» лимфатическом узле к количеству клеток в «контрольном» узле дает индекс РТПХ. При отношении опыт: контроль, дающем индекс более 1,3, реакция считается положительной. Введенные, чужеродные, лимфоциты распознают неродственные антигены реципиента. В процесс распознавания включаются две субпопуляции лимфоцитов: предшественники Т-эффекторов РТПХ (pT_{рtpx}) с фенотипом Lyl2, 3 и Т-амплификаторы с фенотипом Lyl1. Результатом реакции является накопление зрелых Тк. В процесс созревания включаются также макрофаги (МФ). Увеличение количества клеток в селезенке или лимфатическом узле происходит не только за счет пролиферации введенных лимфоцитов, но и в результате размножения собственных клеток реципиента (по данным Д. И. Маянского, Д. Р. Каулена, 1978; Б. Д. Брондза, О. В. Рохлина, 1978; Т. В. Анфаловой и соавт., 1983).

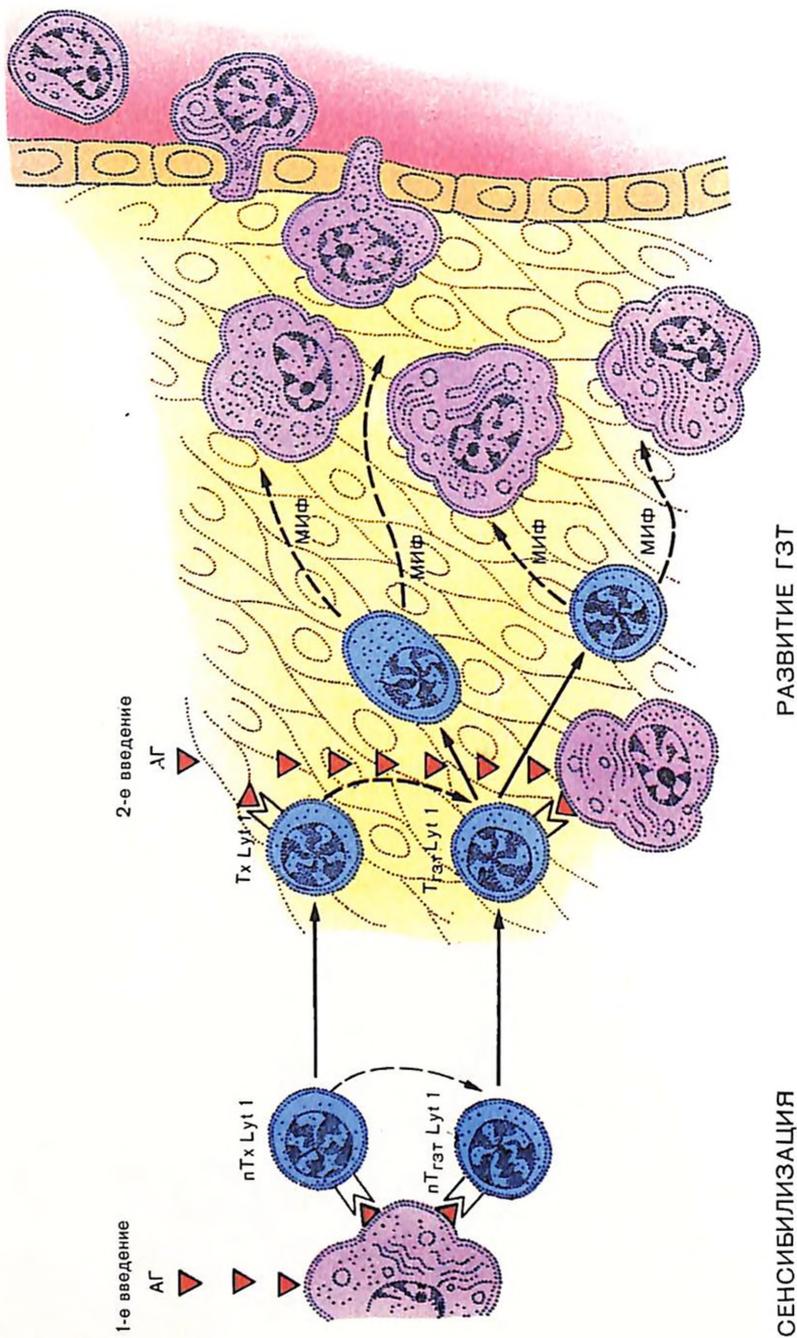


Рис. 67. Взаимодействие клеток при развитии реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Клеточный иммунитет развивается не только за счет Т-киллеров (см. рис. 65), но и Т-клеток, инициирующих реакцию гиперчувствительности замедленного типа ($T_{ГЗТ}$). ГЗТ — это реакция воспаления, развивающаяся на месте локализации антигена (АГ). В развитии реакции участвуют по крайней мере три типа клеток: $T_{ГЗТ}$, Т-хелперы и макрофаги (МФ). Проникший в организм АГ поглощается МФ и после внутриклеточной обработки выходит на плазматическую мембрану в иммуногенной форме. В распознавании АГ участвуют две субпопуляции лимфоцитов: предшественники Т-клеток — инициаторов ГЗТ ($pT_{ГЗТ}$) с фенотипом $Lyt1$ и предшественники Т-хелперов (pTx) с тем же фенотипом. Клетки последней субпопуляции обеспечивают помощь в созревании $T_{ГЗТ}$. Повторное локальное введение АГ (например, внутрикожно) приводит к развитию воспалительного очага в месте проникновения АГ через 24—48 ч. АГ может быть распознан на поверхности либо МФ, либо паренхиматозных клеток. Распознавание АГ приводит к накоплению $T_{ГЗТ}$, активно секретирующих хемотаксический фактор. Последний привлекает к месту воспаления моноциты из ближайших кровеносных сосудов, трансформирующихся в воспалительном очаге в МФ. Фактор, секретируемый $T_{ГЗТ}$, получил название фактора, угнетающего миграцию МФ (МИФ) (по данным Б. Д. Брондза, О. В. Рохлина, 1978).

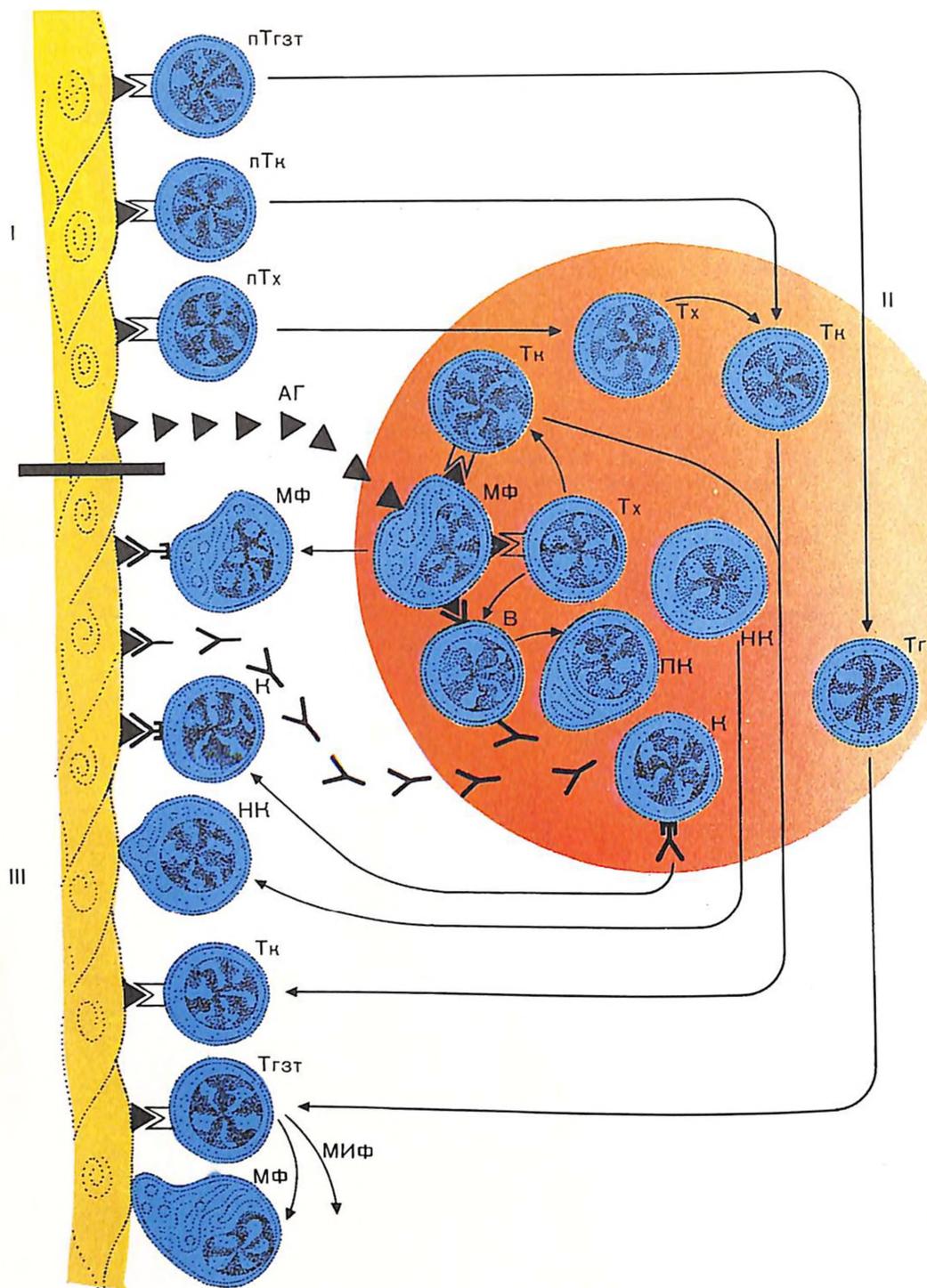


Рис. 68. Клеточные и молекулярные механизмы отторжения трансплантата.

Отдельные реакции клеточного и гуморального иммунитета, представленные выше, имеют свое интегральное проявление при отторжении чужеродной ткани. Развитие реакции трансплантационного иммунитета включает три этапа: распознавание чужеродных антигенов (АГ) трансплантата (I), созревание и накопление эффекторов трансплантационной реакции в периферической, ближайшей к трансплантату лимфоидной ткани (II) и разрушение трансплантата (III).

Этап I. В процесс распознавания трансплантационных АГ вступают предшественники Т-киллеров (пТк), Т-хелперов (пТх) и Т-клеток, обеспечивающих гиперчувствительность замедленного типа (пТ_{гзт}). После распознавания АГ клетки перечисленных типов мигрируют в ближайшую (лимфоидную) ткань (например, регионарный лимфатический узел).

Этап II. В периферической лимфоидной ткани развиваются основные события, приводящие к созреванию и накоплению клеток разных типов — эффекторов реакции отторжения. пТк и пТ_{гзт} под влиянием лимфокинов, секретируемых Тх, дифференцируются в зрелые Тк и Т_{гзт}. Процесс распознавания может происходить не только непосредственно в зоне трансплантата, но и в регионарной лимфоидной ткани за счет проникновения в них АГ трансплантата. В лимфоидной ткани АГ после усвоения макрофагами (МФ) и выхода в иммуногенной форме на клеточную поверхность фагоцитирующей клетки специфически активирует Тк и В-клетки (В). Вступление в реакцию В-лимфоцитов обеспечивает накопление плазматических клеток (ПК), секретирующих иммуноглобулин (Ig). Таким образом, помимо эффекторов клеточного иммунитета, в лимфоидной ткани накапливаются эффекторы гуморального иммунитета. IgG может пассивно сорбироваться на поверхности так называемых К-клеток (К) — особой популяции лимфоцитов, не имеющих маркеров Т- или В-лимфоцитов. Цитофильность IgG по отношению к К-клеткам обеспечивается взаимодействием Fc-участка Ig с рецептором к Fc, имеющимся на данном клеточном типе. К-клетки, связавшие Ig, приобретают способность к антителозависимому цитолизу клеток-мишеней. В процессе развития реакции на трансплантат происходит активация МФ либо под воздействием лимфокинов Т-клеток, либо в результате пассивной сорбции Ig посредством Fc-рецептора к этим молекулам (по аналогии с К-клетками). И, наконец, в лимфоидной ткани представлен особый клеточный тип клеток — естественные (натуральные) киллеры (НК), не имеющие соответствующих специфических антиген-распознающих структур, но при этом обладающие цитотоксическим действием.

Этап III. В разрушении и отторжении трансплантата участвуют перечисленные выше клеточные формы и специфические Ig. Т_{гзт} после взаимодействия с АГ трансплантата начинают активную сек-

рецию хемотаксического фактора (МИФ), привлекающего в зону реакции МФ, способные к неспецифическому лизису клеток трансплантата. Неспецифически лизируют клетки трансплантата также активированные Т-лимфокинами МФ и НК. Тк и К вступают в специфическую реакцию разрушения трансплантата. Первые — за счет собственных специфических антигенраспознающих структур, вторые — за счет цитофильных антител. Первичное отторжение трансплантата развивается за 10—14 дней — времени, необходимого для формирования клеточных и гуморальных эффекторов разрушения трансплантата. Вторичная реакция отторжения формируется значительно быстрее — за 5—7 дней за счет имеющихся клеток памяти, образовавшихся после первичного «знакомства» с чужеродными антигенами трансплантата.

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

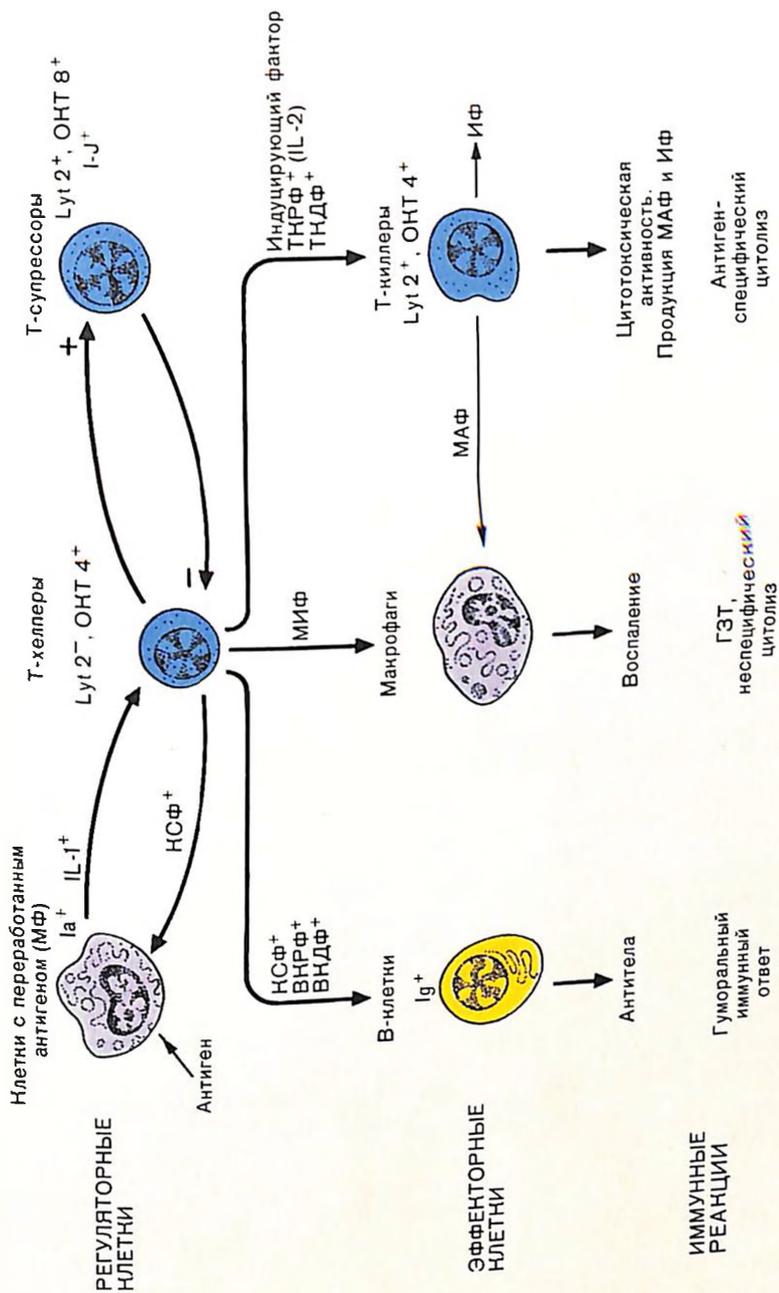


Рис. 69. Саморегуляция иммунного ответа.

На рис. 69 представлены обобщенные данные о взаимодействии клеток с учетом различных типов иммунного реагирования, клеток-регуляторов и клеток-эффекторов иммунных процессов, а также гуморальных факторов, реализующих взаимодействие клеток. Различают три типа регуляторных клеток: клетки, представляющие антиген (АГ) в иммуногенной форме (макрофаги, или А-клетки); клетки, усиливающие иммунный ответ — Т-хелперы (Т-амплификаторы), и клетки, подавляющие иммунный ответ — Т-супрессоры. Каждый из этих типов характеризуется своими дифференцировочными антигенами. Клетки, представляющие антиген, имеют Ia⁺-специфичность; Т-хелперы мышей обладают Lyt1-специфичностью и не имеют Lyt2; Т-хелперы человека экспрессируют ОКТ 4⁺-специфичность; Т-супрессоры мышей несут Lyt2 и I-J-антигенные маркеры; эти же клетки у человека характеризуются наличием ОКТ 8⁺.

Поглощение и переработка АГ макрофагами (МФ) сопровождается синтезом и секрецией одного из монокинов — интерлейкина-1 (IL-1), способного активировать Т-хелперы. В свою очередь Т-хелперы после распознавания АГ секретируют колониестимулирующий фактор (КСФ⁺), который оказывает дополнительное активирующее действие на МФ. Т-хелперы совместно с АГ обеспечивают включение в иммунный процесс Т-супрессоров. Отрицательная регуляция иммуногенеза Т-супрессорами реализуется не через подавление работы клеток-эффекторов, а через угнетение Т-хелперов.

Среди эффекторных клеток выделяют три основных типа, каждый из которых ответствен за развитие определенной формы иммунного реагирования. В-клетки после распознавания АГ и действия одного или нескольких лимфокинов (КСФ — колониестимулирующего фактора, ВКРФ — В-клеточного ростового фактора, ВКДФ — В-клеточного дифференцирующего фактора) обеспечивают развитие гуморального иммунного ответа. МФ, активированные фактором, ингибирующим их миграцию (МИФ), участвуют в реакциях воспаления, в таких, как ГЗТ, а также в реакции неспецифического цитолиза чужеродных клеток. Т-киллеры — основные участники клеточной формы иммунного реагирования, вступают в реакцию антигенспецифического цитолиза после распознавания АГ и созревания под влиянием Т-клеточных регуляторов (индуцирующего фактора, ТКДФ — Т-клеточного ростового фактора, ТКРФ — Т-клеточного дифференцирующего фактора). В свою очередь Т-киллеры продуцируют МАФ — фактор, активирующий МФ, и интерферон (ИФ) — неспецифический стимулятор антивирусной защиты.

Т а б л и ц а 8. Факторы, включенные в кооперацию клеток

Факторы	Клетки-продуценты	Клетки-мишени	Ответ	Молекулярная масса	Наличие Ia-антигенов	Генетические ограничения
Антигенспецифические						
Хелперные: фактор Munro, Taussig	Сенсибилизированные Т-клетки	В-клетки	Первичный IgM	50 000	I-A	—
Фактор Feldman	Т-клетки Lyt1	В-клетки и макрофаги	Первичный и вторичный IgM и IgG	50 000	I-A	—
Фактор созревания Т-хелперов	Макрофаги	Предшественники Т-хелперов	Вторичный IgG in vitro	60 000	I-A	I-A
Супрессорные: фактор Tada	Клетки Lyt2, 3	Сенсибилизированные Т-клетки	Вторичный IgG	40 000	I-J	+ (I-A)
Фактор Kapp, Théze, Benacerraf	Т-клетки от неответствующих мышей	Т-клетки	Первичный IgG	40 000	I-J	Неответствующие реципиенты
Фактор Feldman	Т-клетки Lyt2, 3	Т-хелперы	Первичный, вторичный IgM, IgG	40 000	I-J	—
Антигеннеспецифические						
Аллогенный фактор Katz	Т-клетки	В-клетки	Продукция антител	30 000	I-A β ₂ -микроглобулин	+
Т-клеточный, замещающий фактор Shimpl, Wecker	Т-клетки	В-клетки	Продукция антител	25 000		—

Факторы	Клетки-продуценты	Клетки-мишени	Ответ	Молекулярная масса	Наличие Ia-антигенов	Генетические ограничения
«Растворимый супрессор иммунного ответа»	Т-клетки, проинкубированные 48 ч с Кон А	Макрофаги, В-клетки, Т-клетки MLC	Производство антител, MLC	48 000		
Супрессорный фактор MLC	Т-клетки, стимулированные <i>in vivo</i> аллоантигенами	?	MLC			+ (I-C)
Интерлейкин-1 (ИЛ-1)	Макрофаги	Тимочиты, Т-клетки, В-клетки	Производство антител, MLC	15 000	—	—
Тимочитдифференцирующий фактор	Макрофаги	Тимочиты	MLC	40 000	—	—
Индуктор Т-эффекторов РТПХ	Макрофаги	Тимочиты	РТПХ	65 000	H-2K	H-2K

Т а б л и ц а 9. Биологическое действие продуктов, выделяемых лимфоцитами

Клетки-мишени	Факторы	Эффект
Макрофаги	Фактор, подавляющий миграцию макрофагов (МИФ)	Подавление миграции макрофагов
	Фактор, активирующий макрофаги (МАФ)	Индукция или усиление цитотоксического действия макрофагов против клеток опухолей, некоторых нормальных клеток и микроорганизмов Усиление адгезии макрофагов Усиление включения глюкозаминов, пиноцитоза, продукции активаторов плазминогена, простагландинов, факторов комплемента, внутриклеточного включения Ca^{2+} , уровня ГМФ Изменение активности некоторых ферментов
	Макрофагальный хемотаксический фактор	Провокация миграции макрофагов или моноцитов через мембранные поры
	Макрофагальный митогенный фактор	Индукция пролиферации макрофагов
	Фактор агглютинации макрофагов	Агглютинация макрофагов в суспензии
Полиморфы: все типы	Фактор, подавляющий миграцию лейкоцитов (ЛИФ)	Подавление миграции полиморфноядерных клеток
нейтрофилы	Нейтрофильный хемотаксический фактор	Привлечение нейтрофилов
	Фактор, подавляющий миграцию нейтрофилов	Подавление миграции нейтрофилов
базофилы (и тучные клетки)	Базофильный хемотаксический фактор	Привлечение базофилов
	Фактор, освобождающий гистамин	Индукция дегрануляции базофилов
	Фактор, стимулирующий гистаминапродуцирующие клетки	Индукция синтеза гистамина и пролиферации тучных клеток

Клетки-мишени	Факторы	Эффект
	Базофилопоэтин	Индукция пролиферации базофилов
эозинофилы	Эозинофильный хемотаксический фактор	Привлечение эозинофилов
	Промотор стимуляции эозинофилов	Увеличение миграции эозинофилов
лимфоциты	Лимфоцитарный митогенный фактор (ЛМФ) или бластогенный фактор (БФ)	Провокация лимфобластной трансформации или деления нормальных (В) лимфоцитов
	Интерлейкин-2 (ИЛ-2), прежде называвшийся:	Индукция и обеспечение клонального роста активированных Т-клеток
	<ul style="list-style-type: none"> — Т-клеточный ростовой фактор — тимоцитарный митогенный фактор — тимоцит - стимулирующий фактор — Ко-стимулятор — хелперный фактор киллерных клеток — Т-клеточный индуцирующий фактор вторичной цитотоксичности 	
	Антигеннеспецифический хелперный фактор или:	Стимуляция дифференцировки антителопродуцирующих В-клеток
	<ul style="list-style-type: none"> — Т-клеточный замещающий фактор — неспецифический медиатор — растворимый, усиливающий фактор 	
	Фактор аллогенного эффекта	Стимуляция дифференцировки активированных антигеном В- и Т-клеток
	Антигеннеспецифический супрессорный фактор или:	Супрессия дифференцировки активированных антигеном В- и Т-клеток
	<ul style="list-style-type: none"> — растворимый супрессор иммунного ответа — субстанция, подавляющая антитела — иммуноглобулин-блокирующий фактор 	

Клетки-мишени	Факторы	Эффект
Перевиваемые клеточные линии	Лимфотоксин (ЛТ)	Усиление цитотоксического действия на определенные клеточные линии (такие, как L-клетки)
	Фактор, подавляющий пролиферацию и образование клонов	Подавление пролиферации клеток и образования клонов
	Интерферон (тип 2)	Снижение цитотоксического действия вирусов на культивируемые клетки Увеличение активности нормальных киллеров
Гемопоэтические клетки	Коллагенпродуцирующий фактор	Индукция образования коллагена
	Колонистимулирующий фактор (КСФ)	Стимуляция дифференцировки стволовых кроветворных клеток костного мозга в миелоидные или моноцитарные клетки
Остеокласты	Остеокластактивирующий фактор	Увеличение активности остеокластов, измеряемой по выделению ^{45}Ca из эмбриональной кости <i>in vitro</i>
Эффекты <i>in vivo</i>	Фактор кожной реактивности	Увеличение проницаемости капилляров, измеряемое по диффузии меченого альбумина. Вклад в реакцию воспаления в коже морских свинок в результате инфильтрации мононуклеарными клетками
	МИФ, интерферон, лимфотоксин	Снижение уровня циркулирующих моноцитов (при внутриперитонеальном введении) и числа перитонеальных макрофагов (при внутривенном введении)

Глава 5. ГЛАВНАЯ СИСТЕМА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

Успех или неудача трансплантации зависит в основном от генетической системы, получившей название главной системы гистосовместимости. В самом общем виде генетические отношения при трансплантации выглядят достаточно просто. При наличии генетической идентичности между донором клеток, тканей или органов и реципиентом наблюдаются приживление и нормальное функционирование трансплантата в организме нового хозяина. В то же время генетические различия между донором и реципиентом приводят к разрушению и отторжению трансплантированного материала.

Первые опыты, которые в последующем привели к открытию главной системы гистосовместимости, были выполнены L. Loeb в 1901 г. Исследователь работал с японскими вальсирующими мышами. Они представляли собой, вероятно, первую инбредную линию животных, выведенную японскими селекционерами-любителями. Спонтанная опухоль, возникшая у одного из животных этой линии, успешно приживалась у всех особей данной линии, но отторгалась у белых лабораторных мышей. После этих научно документированных фактов о генетической основе несовместимости началась целенаправленная работа по выведению инбредных линий животных для целей экспериментальной онкологии. Инбредными называются линии, все особи которой гомозиготны и генетически однородны. Получение таких линий возможно при длительном близкородственном скрещивании по схеме: брат \times сестра (см. рис. 70).

К 20—30 гг. удалось вывести значительное количество инбредных линий мышей, что создало условия для обнаружения и генетической характеристики главной системы гистосовместимости. У истоков открытия новой генетической системы стоял P. Gorer (1936). Работая с кроличьей антисывороткой к эритроцитам мыши, он обнаружил антиген, условно обозначенный цифрой II. Наличие данного антигена на эритроцитах мыши-реципиента и переносимой опухоли обеспечивало приживление и развитие опухоли. При различиях по антигену II опухоль отторгалась. Первый обнаруженный антиген гистосовместимости дал название всей системе, которая обозначается в настоящее время символом H-2 (от англ. Histocompatibility-2).

Для стандартизации генетических отношений между трансплантатом и хозяином разработана соответствующая терминология (см. табл. 10).

Генетические закономерности восприимчивости мышей к трансплантату были суммированы D. Snell (1953) (см. рис. 71). Помимо H-2 имеются и другие системы гистосовместимости (H-1, H-3 и т. д.), которые оказывают значительно меньшее влияние на результат трансплантации.

В настоящее время в мире имеется уже более 200 линий инбредных мышей. Для обозначения каждого самостоятельного комплекса генов H-2 (гаплотипа), отличающегося от линии к линии, введены условные обозначения: H-2^b, H-2^d, H-2^f и т. д. (см. табл. 11).

Широкое изучение трансплантационных отношений в мире животных позволило установить наличие генетических систем гистосовместимости у всех исследованных видов животных (см. табл. 12), включая даже наиболее низкоорганизованные формы, какими являются губки и кишечнополостные [Hildemann W. H., 1979].

Основная информация о строении комплекса H-2 получена при работе с конгенными и рекомбинантными линиями мышей, отличающимися друг от друга только по комплексу H-2. Для получения конгенных линий животных применяют определенные схемы скрещивания и отбора потомства. Задачи такого скрещивания заключаются во внедрении генов комплекса H-2 одной линии в геном другой (основной) линии. Отселекционированное после многих скрещиваний потомство будет иметь генетическую основу, общую с основной линией, но при этом будет включать гены комплекса H-2 линии партнера (см. рис. 72). Получение рекомбинантных по комплексу H-2 линий возможно в результате обмена генами между гомологичными хромосомами, конъюгирующими в профазе первого мейотического деления (см. рис. 73).

На основании серологического и генетического анализа рекомбинантных по комплексу H-2 линий мышей установлено, что данный комплекс состоит из четырех областей: K, I, S, D, каждая из которых включает определенное число генов (см. рис. 74). Все гены делятся на три класса. К первому классу относятся гены H-2K (K) и H-2D (D), контролирующие синтез гликопротеинов (см. рис. 75), аллельные варианты которых отличаются друг от друга по антигенной специфичности (см. табл. 13). Гены второго класса локализованы в области I, состоящей из пяти локусов (см. рис. 76 и табл. 14). Характер взаимодействия и экспрессии на

клеточной поверхности продуктов генов первого и второго классов показан на рис. 77. Гены третьего класса Ss и SLp контролируют синтез C4 компонента комплемента и один из белков сыворотки крови у самцов.

Вопрос о функциональном назначении генов первых двух классов вызывает особое внимание иммунологов. Доказано участие генов первого класса K и D в обеспечении реакции отторжения чужеродного трансплантата. Продукты этих генов выполняют также роль мишеней для цитотоксических Т-клеток. Однако контроль этих свойств не является отражением их истинного, эволюционно возникшего функционального предназначения. Природа «не ожидала», что хирурги и экспериментаторы займутся изучением вопросов трансплантации, и «создавала» эти биологические структуры, конечно же, для других целей. Одна из наиболее вероятных функций K- и D-генов — это обеспечение контактного взаимодействия между клетками лимфо-миелоидного комплекса в процессе их роста и развития (см. главу 6). Функция генов второго класса многообразна и связана в первую очередь с реализацией некоторых иммунологических процессов (см. табл. 14; подробнее см. главу 6).

Главная система гистосовместимости у человека (HLA) соответствует таковой мышей и включает те же классы генов (см. рис. 78). Наиболее продуктивным направлением исследований данной системы явилось изучение связи антигенов, контролируемых этой системой, с заболеваниями (см. табл. 15).

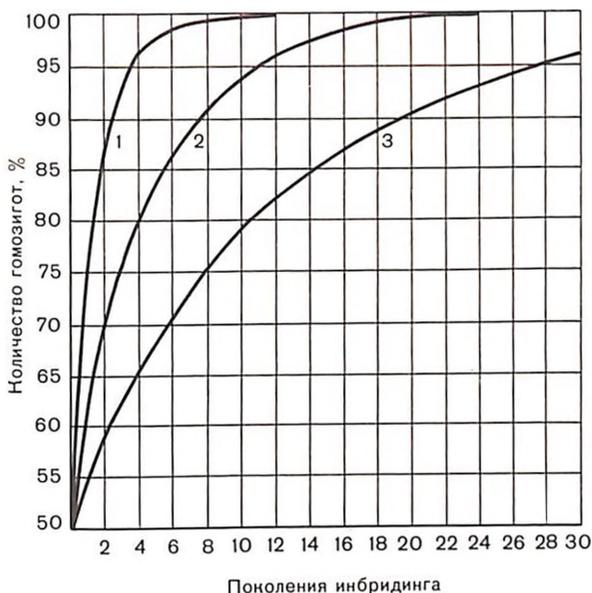


Рис. 70. Кривые возрастания гомозиготности для трех систем инбридинга.

Получение гомозиготных линий животных (в частности мышей) основано на длительном (до 18—20 поколений) близкородственном скрещивании по схеме: брат × сестра (2). Оценку генетической идентичности в ряду поколений проводят по результатам трансплантации (например, кожного лоскута, взятого от одной особи инбридируемо-

го поколения и пересаженного на другую особь того же поколения). Приживление трансплантата свидетельствует о генетической идентичности (сингенности) между парами донор — реципиент. 1 — самооплодотворяющиеся организмы; 2 — скрещиваемые особи — братья и сестры; 3 — скрещиваемые особи — двоюродные братья и сестры [Медведева Н. Н., 1964].

Т а б л и ц а 10. Терминология гистогенетических отношений между донором трансплантата и реципиентом

Генетические отношения	Термин, обозначающий характер трансплантации	Условия трансплантации
Разные виды	Ксенотрансплантация (гетеротрансплантация)	Трансплантация между особями разных видов
Генетически отличающиеся особи одного вида	Аллотрансплантация (гомотрансплантация)	Трансплантация между различными, генетически отличающимися особями того же самого вида или между особями разных инбредных линий
Генетически идентичные особи одного вида	Сингенная трансплантация (изотрансплантация)	Трансплантация между идентичными близнецами или между различными особями, принадлежащими к одной и той же линии
Донор и реципиент — тот же самый индивидуум	Аутотрансплантация	Трансплантация с одного участка тела на другой у того же самого индивидуума

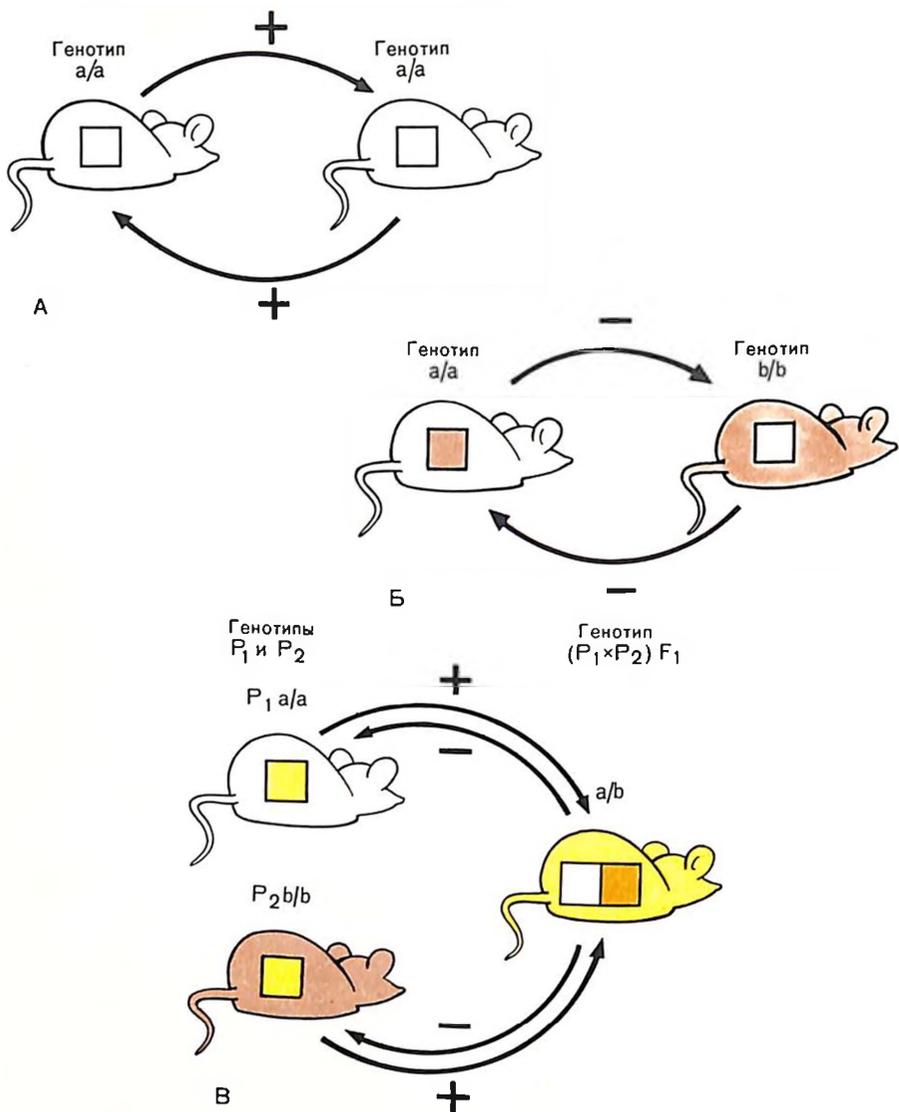
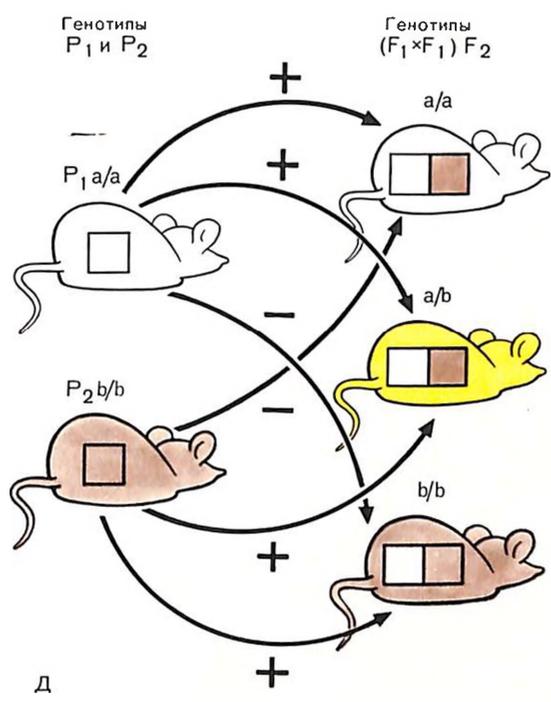
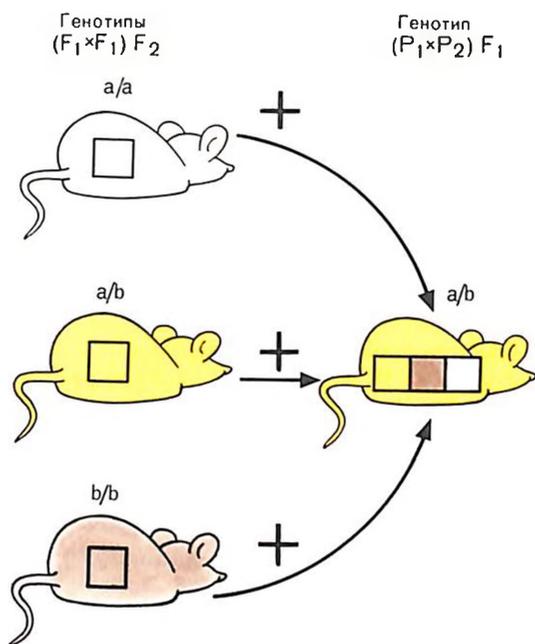


Рис. 71. Законы трансплантации, сформулированные G. D. Snell.

А — трансплантация внутри одной инбредной линии (сингенная трансплантация) всегда успешна: между донором и реципиентом отсутствуют генетические (а, следовательно, и антигенные) различия. Б — трансплантация между разными инбредными линиями (аллогенная трансплантация) безуспешна: между донором и реципиентом имеются различия по антигенам гистосовместимости, в результате у реципиента развивается иммунный ответ на чужеродные антигены донора, что приводит к отторжению трансплантата. В — трансплантаты родительских линий P_1 или P_2 прижива-



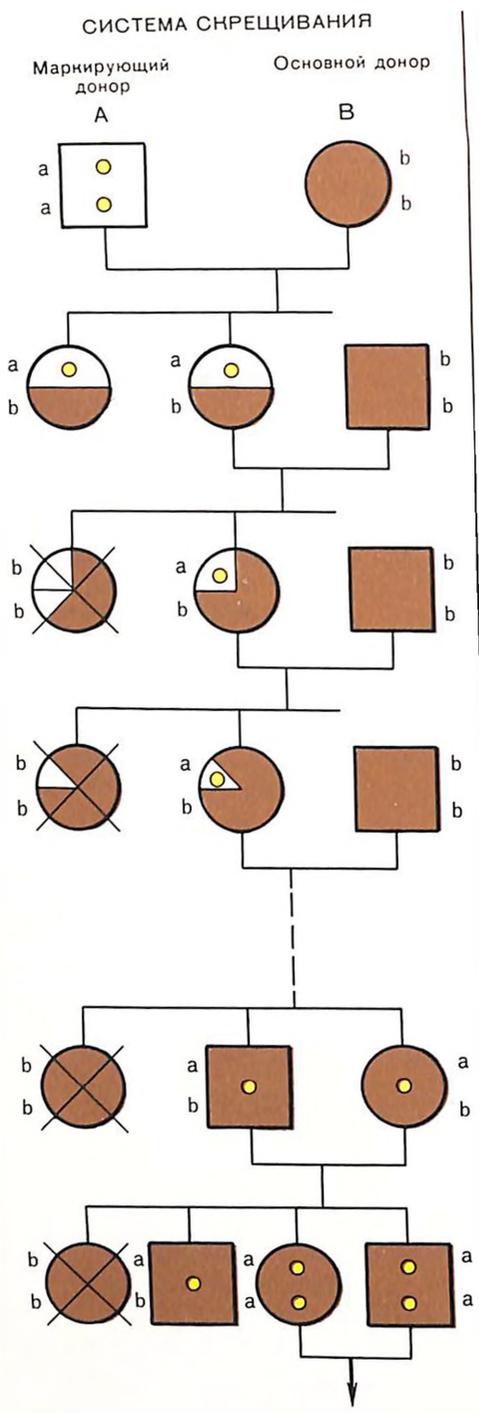
ются у гибрида первого поколения ($P_1 \times P_2$) F_1 ; поскольку антигены гистосовместимости наследуются по кодоминантному типу, то гибриды F_1 имеют полный набор антигенов обоих родителей; трансплантаты родителей не несут чужеродной информации для гибрида F_1 , в результате трансплантат приживается. Трансплантат гибрида F_1 отторгается у мышей родительских линий, так как реципиент (P_1 и P_2) реагирует на антигены второго (P_2 или P_1) родителя, представленные у F_1 . Г — трансплантаты гибридов второго (F_2) и последующих поколений приживаются у гибридов F_1 . У гибридов F_2 происходит расщепление признака по антигенам гистосовместимости на гомо- и гетерозиготы. Таким образом, особи F_2 не имеют каких-либо антигенов, которые не были бы представлены у особей F_1 . В результате наблюдается приживание трансплантата. Д — трансплантаты родительских линий P_1 и P_2 приживаются у одних особей F_2 , но отторгаются у других. Поскольку гибриды F_2 включают как гомозиготы, так и гетерозиготы, то трансплантация ткани одного из гомозиготных родителей на гомозиготную особь F_2 , имеющую иной генотип, приводит к отторжению трансплантата. Аналогичные отношения существуют и при пересадке родительских трансплантатов на гибрид возвратного скрещивания (BC) (по данным G. D. Snell, 1953).

Т а б л и ц а 11. Инбредные линии мышей с определенным H-2-гаплотипом

H-2-гаплотип	Линии
b	ABP/Le, A.BY, AKR.B6, BALB, B10, BAN/Re, BLPBR, BTBRTF/New, BXSB, C3H/Bi-H-2 ^b , CC57BR, CC57W, C3H.B10/Sf, C3H.SW, C57Bl/6, C57Bl/10Sn, C57L, DI.LP, D2.B6, DW/J, HG/Hu, LP/J, SB/Le, St/A, V/Le, B10.129 (6M), 129.
d	BALB/cBY, BALB/cJ, B6.C-H-2 ^d , B10.D2/n, B10.D2/0, C57BL/Ks, DBA/2J, DI.C, LG/J, NBL/N, NZB, SEA/GnJ, SEC/IGn, ST.T6, WH, YBL/Rr, YBR/Wi.
f	A.CA, B10.M, RFM/Un
k	AKR, BALB/AKR, BALB.C3H, BRVR, B6.C3H, B10.BR, B10.CBA. B10.K/Sf, CBA/CaJ, CE, CHI, C3H/An, C3H/DiSn, C3H/He, C3H/St, C3H.A, C57BL/6-H-2 ^k , C57BR/a, C57BR/cd, C58, DE/J(?), DI/ST. FL/1Re, FL/2Re, FL/4Re, FL/6Re, FSF/Sn, HRS/J, L/St, MA/J. MRL/l, PH/Re, RF/J, RNC, RR, ST/bJ, IOI.
n	BIO.F/Ao, B10.F/Eg, B10.F/Sg, B10.F/Y, F/St.
p	BDP/J, B10.CNB, B10.NB, BIO.P, C3H.NB, P/J
q	AU/SsJ, BUB/BnJ, BIO.DI/Ph, B10.G, BIO.Q, C/St, CBA/Rij, C3H/HeNRe, C3H.Q, DBA/1, ICR/Ha, STOLI, SWR/J, T138, T190
r	B10.R111 (71NS), LP.R111/J, R111/Wy
s	A.SW, B10.ASW, B10.S, SJL/J, TN
z	NZW

Таблица 12. Главная система гистосовместимости у разных видов животных и человека

Человек, животные	Обозначение	Генетическая организация	Примечания
Человек	HLA	--D-Bf, C4, DR-B- (>8) (>8) --C- (>6)	Локализация на хромосоме 6. Ассоциация с заболеваниями
Шимпанзе	ChLA	--D- (>1) --B- (>7)	Порядок генов произвольный
Макака ре-зус	RhLA	--D, Bf- (>10) --B- (>13)	--A- (>13)
Бык	BoLA	--D ₁ , D ₂ - (>6)	--A- (>6)
Свинья	SLA	--D- (>4)	--A- (>4)
Собака	DLA	--D- (>9) --B- (>5) --C- (>3)	--A- (>6)
Кролик	RLA	--D- (>5) --B- (>1)	--A- (>13)
Морская свинка	GPLA	--I- (>4) --B- (>3)	
Крыса	RT1	--B- (>9)	--A- (>15)
Мышь	H-2	--K- (>50) --I- (>20) --S- (>50) --D- (>2)	Локализация на хромосоме 17. Ассоциация с аутоиммунными заболеваниями
Курица	B	--B- (>1) --F- (>10)	Локализация на хромосоме 21. Ассоциирована с болезнью Марек



ГЕНЕ-РАЦИЯ

ОТБОР

% ГЕНОМА
ОСНОВ-
НОЙ
ЛИНИИ

№ 1

50

№ 2

Отбираются особи, воспринимающие трансплантат от А (а/а) и дающие положительную реакцию с анти-А-сывороткой

75

№ 3

То же

87,5

№ 12

То же

99,999...

№ 12 F₁

Отбираются особи, отторгающие трансплантат от В (b/b) и не дающие положительную реакцию с анти-В-сывороткой

Рис. 72. Получение конгенных линий мышей.

В основе получения конгенных линий мышей лежит генетический прием возвратного скрещивания — получение потомства в ряду поколений от скрещивания гетерозиготы (детей гомозиготных родителей, генетически отличающихся между собой) с одним из исходных гомозиготных родителей. Смысл подобного скрещивания — внедрить комплекс H-2 донорской линии А в генотип основной линии В. На рис. 72 представлены донорская маркирующая линия А (a/a) и основная линия В (b/b). От скрещивания гомозиготных особей этих двух линий получают гибриды первого поколения F₁, (a/b; генерация № 1). При дальнейшем скрещивании гибридов F₁ с особями основной линии В получают потомство, состоящее как из гомозигот (b/b), так и гетерозигот (a/b) по комплексу H-2. В последующих скрещиваниях отбираются только гетерозиготные особи, имеющие признак a (H-2^a), который определяется по приживлению кожного трансплантата от маркирующей линии А и положительной серологической реакции клеток крови с анти-А-сывороткой. По мере продолжения скрещиваний a-положительных особей с особями основной линии В доля генома линии А постоянно снижается, но при этом для дальнейшего размножения из потомства отбирают только тех особей, которые сохраняют признак a (H-2^a). К двенадцатому поколению (генерация № 12) практически весь геном отбираемых после гибридизации мышей представлен основной линией В, за исключением признака a, по которому шел отбор. Дальнейшая задача состоит в переводе признака a в гомозиготное состояние. Для этой цели гетерозигот (a/b) скрещивают между собой и отбирают для дальнейшего размножения только тех особей потомства, которые отторгают кожный трансплантат, взятый от особей линии В, и не дают реакции с анти-В-сывороткой. Подобный отбор выявляет особей с отсутствием признака b (H-2^b) и гомозиготность по признаку a (H-2^a). Таким образом, в результате применения такой схемы скрещивания в геном основной линии В внедряется комплекс H-2 маркирующей линии А. С момента перевода комплекса H-2^a в гомозиготное состояние констатируется получение новой конгенной линии по отношению к основной линии В [по Klein J., 1975].

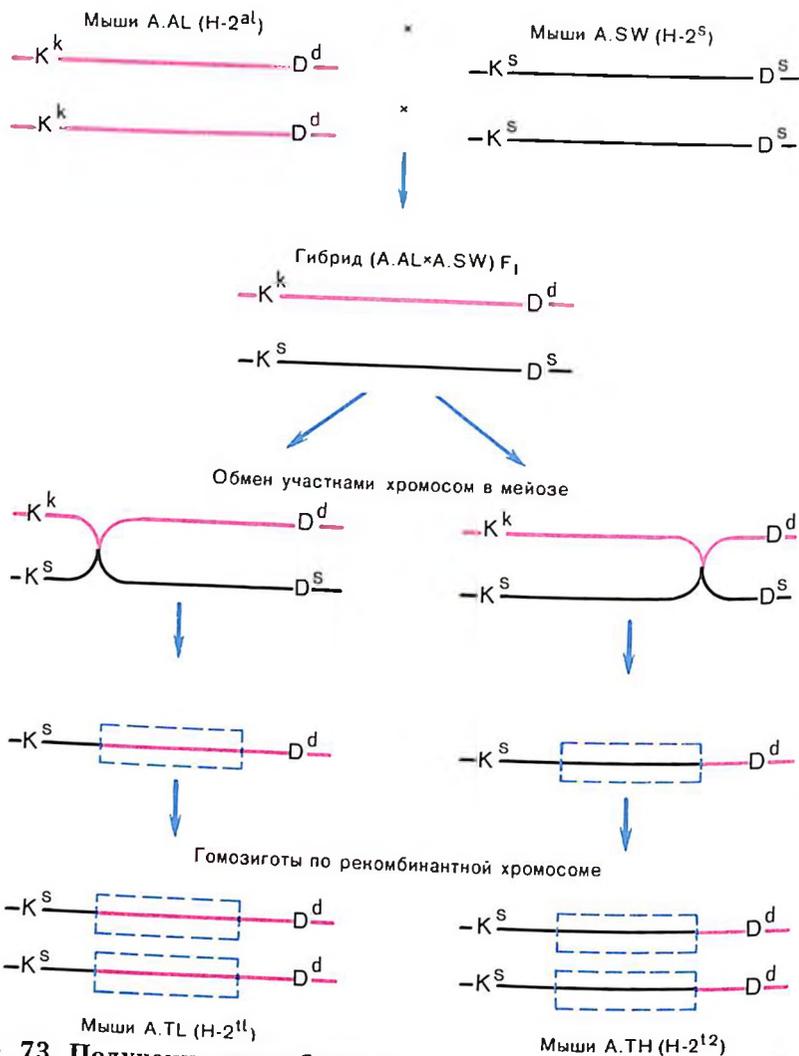


Рис. 73. Получение рекомбинантных по комплексу H-2 линий мышей.

Приведен пример получения рекомбинантных линий мышей A.TL (H-2^{tl}) и A.TH (H-2^{t2}) от исходных линий A.AL (H-2^{al}) и A.SW (H-2^s), отличающихся друг от друга только по комплексу H-2. У гибридов, полученных от скрещивания двух этих линий, произошел обмен участками хромосом в профазе первого мейотического деления, что привело к возникновению половых клеток, имеющих рекомбинантную по комплексу H-2 хромосому. Дальнейшее скрещивание и серологический анализ потомства обеспечили получение гомозигот по рекомбинантной хромосоме (подробнее см. Snell G. D. et al., 1976). Две вновь полученные линии идентичны по K- и D-локусам, но отличаются по участку хромосомы, заключенной между этими локусами. В последующем данный участок получил название I-области [по Bier O. G. et al., 1981, с дополнениями].

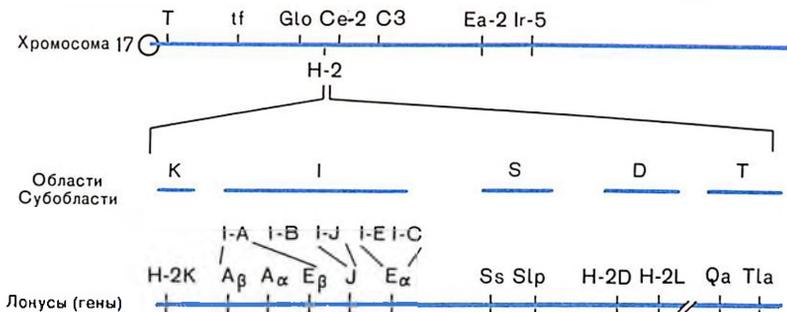


Рис. 74. Генетическая карта комплекса H-2 и его окружения.

Главный комплекс гистосовместимости (H-2) представляет собой набор локусов, расположенных в средней части хромосомы 17. Границы комплекса заключены между областями K и D. В последнее время эти границы расширились за счет области T. Локусы в области T демонстрируют определенное сходство с некоторыми локусами H-2 (H-2K, H-2D) и, возможно, данная область представляет собой часть комплекса H-2. H-2K-, H-2D- и H-2L-локусы, контролирующие антигены гистосовместимости, выявленные с помощью специфических антисывороток к соответствующим антигенным продуктам клеточной поверхности. Область I включает пять локусов (A_β, A_α, E_β, J, E_α) и контролирует синтез белков A_{βα} и E_{βα} с Ia-антигенной специфичностью. Эти белки играют важную роль в генетическом контроле ряда иммунологических функций (см. ниже). Лocus I-J точно не определен; его существование предполагается по результатам функционального теста — генетического контроля супрессии иммунного ответа. Область S включает два лocusа: Ss и Slp. Ss-locus контролирует синтез одного из компонентов комплемента (C4). Slp (sex-limited protein) ответствен за синтез сывороточного белка, образующегося только у самцов инбредных линий.

Локусы комплекса H-2 встречаются во многих вариантах (аллелях), что проявляется, в частности, в разной антигенной специфичности продуктов, контролируемых разными аллелями одного и того же лocusа. Комбинация аллелей разных локусов комплекса H-2 образует множество различных гаплотипов (гаплотип — характеристика генного состава комплекса H-2 определенной инбредной, конгенной или рекомбинантной линии мышей; наследуется как единое целое; гомозиготы имеют идентичные гаплотипы на парных хромосомах, а гетерозиготы — разные). В настоящее время известно около 37 аллельных вариантов лocusа H-2K и около 32 — лocusа H-2D. Общее число идентифицированных гаплотипов по H-2 комплексу составляет 109. Локусы (гены) и признаки, контролируемые ими: T — «короткий хвост» (brachyury), tf — «курчавость», Glo — глюкосаза, Ce-2 — каталаза почек, C3 — компонент 3 комплемента; Ea-2 — эритроцитарный антиген 2; Ir-5 — ген иммунного ответа 5 [по Klein J. et al., 1978; с некоторыми исправлениями по Bier O. G. et al., 1981].

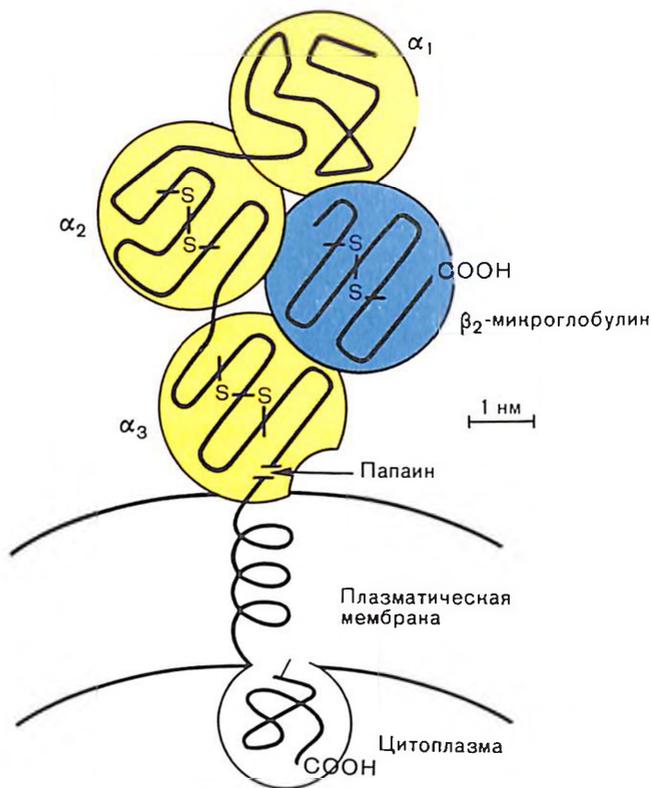


Рис. 75. Структура молекул H-2K и H-2D (K и D).

Антигены, контролируемые локусами H-2K (K) или H-2D (D) у мышей, являются гликопротеинами с молекулярной массой 44 000. Эти молекулы непосредственно связаны с плазматической мембраной «хвостовой» частью. Молекула включает β₂-микροглобулин, который нековалентно сцеплен с основным полипептидом. β₂-Микροглобулин содержит около 100 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу около 12 000. Результаты анализа аминокислотной последовательности β₂-микροглобулина позволяют судить о его близкой гомологии с Cn3-доменом IgG. Полипептид H-2K или H-2D состоит из четырех участков — α₁, α₂, α₃ и «хвостовой» части, каждый из которых включает около 100 аминокислотных остатков. Углеводы, составляющие до 10% от массы всей молекулы, постоянны по своей структуре для разных аллельных форм молекулы и, следовательно, не могут определять ее антигенную специфичность.

Таблица 13. Специфические антигенные детерминанты H-2K и H-2D белков у мышей с разными гаплотипами главной системы гистосовместимости

Аллель	Частная специфичность	Общие специфичности																		
		3	5	8	11	25	34	35	36	37	38	39	42	45	46	47	52	53	54	
H-2K Белки																				
b	33	—	5	—	—	—	—	35	36	—	—	39	—	—	46	—	—	53	54	
d	31	3	—	8	—	—	34	—	—	—	—	—	—	46	47	—	—	—	—	
f	26	—	—	8	—	—	—	—	—	37	—	39	—	—	46	—	—	53	—	
j	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	38	—	—	45	46	47	—	—	—	
k	23	3	5	8	11	25	—	—	—	—	—	—	—	45	—	47	52	—	—	
p	16	—	5	8	—	—	34	—	—	37	38	—	—	—	46	—	—	—	—	
q	17	3	5	—	11	—	34	—	—	—	—	—	—	45	—	—	52	—	54	
r	?	3	5	8	11	25	—	—	—	—	—	—	—	45	—	47	52	—	54	
s	19	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	42	45	—	—	—	—	—	
u	20	—	5	8	—	—	—	35	36	—	—	—	—	45	—	—	52	53	—	
v	21	3	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	45	—	—	—	—	—	
Аллель	Частная специфичность	Общие специфичности																		
		3	6	13	35	36	41	42	43	44	49	50	51	55	56					
H-2D Белки																				
b(j)	2	—	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	56	
d(u)	4	3	6	13	35	36	41	42	43	44	49	50	—	—	—	—	—	—	—	
f	9	—	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	56	
k	32	3	—	—	—	—	—	—	—	—	49	—	—	—	—	—	—	—	—	
r	22	3	6	—	35	—	41	—	—	—	49	—	—	—	—	—	—	—	—	
q(v)	30	3	6	13	—	—	—	—	—	—	49	—	—	—	—	55	56	—	—	
r	18	—	6	—	—	—	—	—	—	—	49	—	—	51	—	—	—	—	—	
s	12	3	6	—	—	36	—	42	—	—	49	—	—	—	—	—	—	—	—	

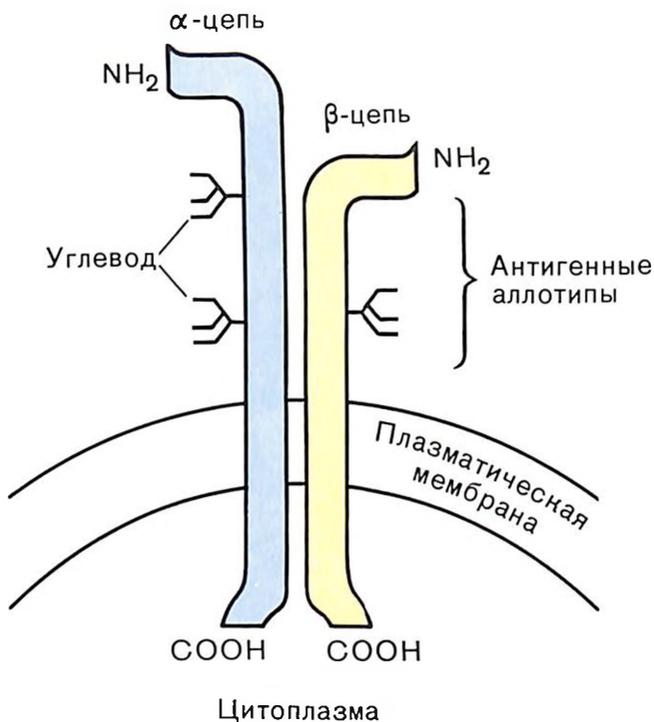


Рис. 76. Структура молекул Ia ($A_{\beta}A_{\alpha}$ - и $E_{\beta}E_{\alpha}$ -белков).

Белки клеточной поверхности — $A_{\beta}A_{\alpha}$ и $E_{\beta}E_{\alpha}$, контролируемые локусами I-области у мышей, являются гликопротеинами. Они состоят из двух субъединиц, каждая из которых имеет молекулярную массу около 34 000 (α -цепь) и 29 000 (β -цепь). Антигенное разнообразие различных аллельных форм связано с β -цепью. α -Цепь более константна. Так, E_{α} -цепь имеет всего две аллельные формы с антигенными специфичностями — 7 и 0.

Т а б л и ц а 14. Свойства I-области комплекса H-2 мышей

Свойства	Субобласти				
	I-A	I-B	I-J	I-E	I-C
Функциональные свойства					
I γ -гены	+	+	-	+	+
I δ -гены	(+)		-	(+)	(+)
MLC	+		+	+	+
Отторжение трансплантата	+		-	+	+
Взаимодействие клеток:					
макрофаг — Т-клетки	+	-	-	(+)	(+)
Т-клетки — В-клетки	+	-	-	(+)	(+)
Т-супрессоры	-	-	+	-	-
перенос ГЭТ	+	-	-	(-)	(-)
Серологически выявляемая специфичность Ia:					
В-клетки	+	-	-	+	+
макрофаги	+	-		(+)	(+)
Т-супрессоры	-	-	+	-	-
Т-хелперы	+	-	-	-	-
Антигенспецифические факторы:					
Т-супрессоры	-	-	+	-	-
Т-хелперы	(+)	-	-	-	-
Биохимические свойства белки Ia	+	-	-	+	+
	A β A α E β			E α	
	Локусы (гены)				

Примечание. + — установленное свойство, (+) — свойство, которое предполагается как возможное, графы без обозначения — характеристика неизвестна, I γ -гены — гены иммунного ответа, I δ — гены супрессии иммунного ответа.

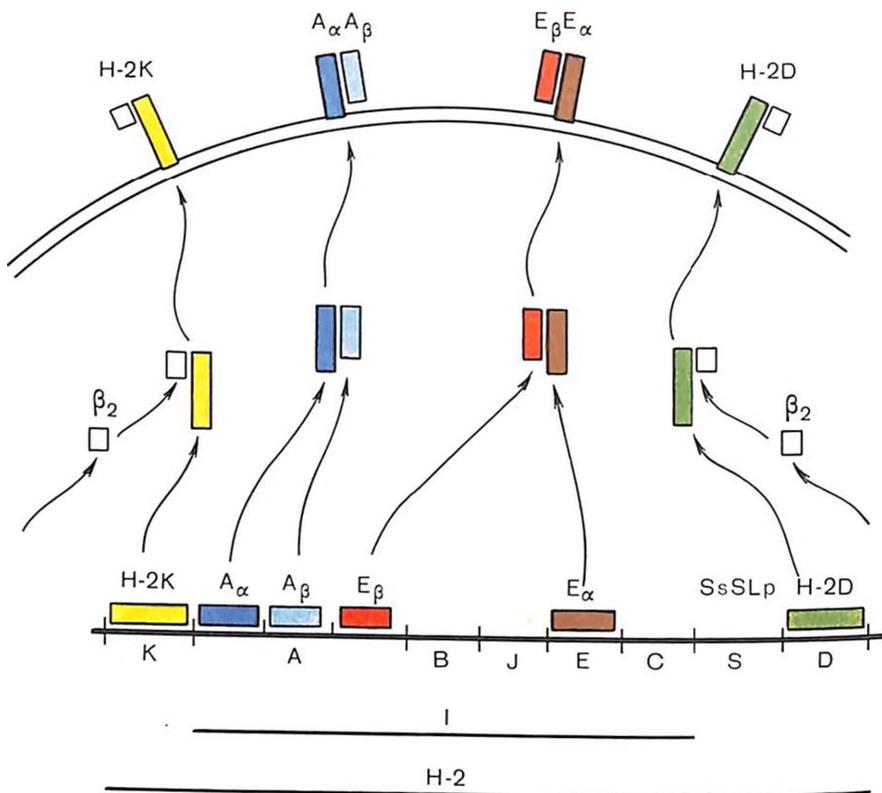


Рис. 77. Сборка и выход на клеточную поверхность белков, контролируемых генами комплекса H-2.

Гены первого класса H-2K и H-2D ответственны за синтез полипептидов с молекулярной массой 44 000. В цитоплазме клетки они нековалентно связываются с β_2 -микроглобулином и в таком комплексованном виде экспрессируются на клеточной поверхности. Гены второго класса, расположенные в A- и E-субобластях, контролируют два белка — A β A α и E β E α (Ia антигены). Связь мономеров при сборке окончательного белка нековалентна и в условиях нормы специфична, т. е. обмен между мономерами разных белков не происходит.

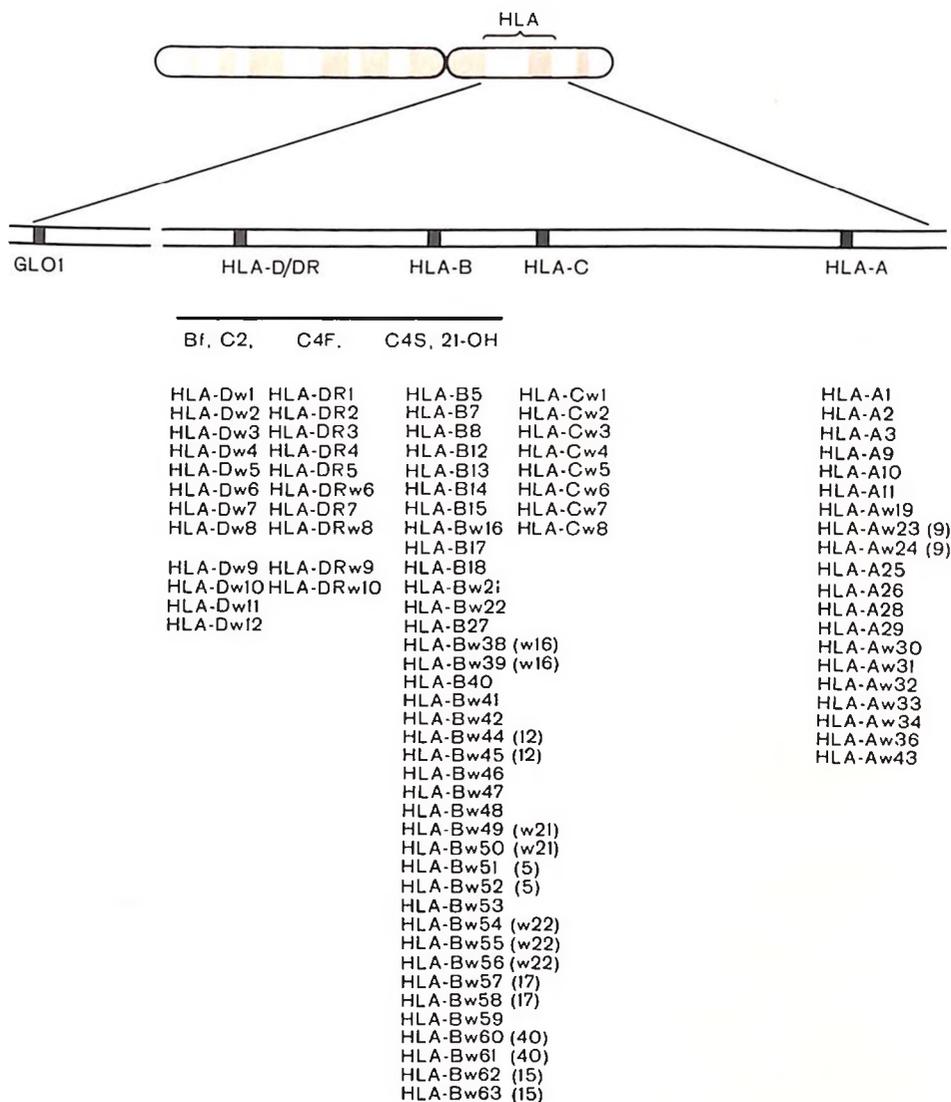


Рис. 78. Генетическая карта HLA человека.

Главный комплекс гистосовместимости человека (HLA) представляет набор локусов, расположенных на коротком плече хромосомы 6. Три локуса HLA-A, В и С кодируют три вида аллоантигенов клеточной поверхности с ярко выраженным аллелизмом, что определяет широкий полиморфизм людей по этим признакам. Локус D/DR ответствен за синтез белков клеточной поверхности, аналогичных белкам А и Е мышей. Для белковых продуктов, контролируемых данным локусом, также известен выраженный полимор-

физм. Одна из функций локуса — контроль силы иммунного ответа и реакции в MLC. Три локуса, C2, C4 и Bf контролируют компоненты каскадного цикла комплемента [по Ryder X. et al., 1982]. Под изображением соответствующих локусов перечислены антигенные специфичности, кодируемые аллельными вариантами этих локусов; символ «w» означает, что данная антигенная специфичность не установлена точно и требуется дополнительная работа с соответствующими антисыворотками, имеющимися в разных лабораториях мира. GLO1 — глюкоксилаза 1; 21-OH — дефицит гидроксилазы.

Т а б л и ц а 15. Частота HLA-антигенов в нормальной популяции людей и у лиц с некоторыми заболеваниями

Заболевание	Антиген	Больные, %	Здоровые, %
Анкилозирующий спондилез	B27	81	4
Псориаз	B17	22	4
Ювенильный диабет	B8	31	11
Celiac	B8	45	11
Гемохроматоз	A3	81	24
Множественный склероз	Dw2	41	12

Т а б л и ц а 16. Тканевое распределение антигенов комплексов H-2 и HLA

Локализация	H-2				HLA			
	K	I	S	D	A	C	B	D
B-лимфоциты	+	+	—	+	+	+	+	+
T-лимфоциты	+	(+)	—	+	+	+	+	(+)
Клетки вилочковой железы	+	(+)	—	+	+	+	+	
Макрофаги	+	+	+	+	+	.	+	+
Гранулоциты	+	.	+	—
Ретикулоциты	+	.	.	+	+	.	+	.
Эритроциты	+	—	—	+	.	.	.	—
Тромбоциты	+	—	.	+	+	+	+	—
Фибробласты	+	—	+	+	+	+	+	—
Эндотелиальные клетки	+	.	.	+	+	.	+	+

Локализация	H-2				HLA			
	K	I	S	D	A	C	B	D
Эпидермальные клетки	+	+	—	+	+	·	+	+
Печень	+	—	·	+	+	·	+	—
Почка	+	—	·	+	+	·	+	—
Сердечная мышца	+	—	·	+	+	·	+	—
Скелетная мышца	+	—	·	+	+	·	+	—
Мозг	+	—	·	+	(—)	·	(+)	·
Плацента	+	·	·	+	+	·	+	·
Сперматозоиды	+	+	—	+	+	·	+	+
Яйцеклетки	(+)	·	—	(+)	·	·	·	·
Трофобласт	—	·	·	—	(+)	·	(+)	·
Бластоциты	+	·	·	+	·	·	·	·
Эмбриональная ткань	+	·	·	+	+	·	+	·

Примечание. + наличие антигена; (+) слабое проявление антигена; — отсутствие антигена; (—) вопрос не решен; · не анализировали.

Глава 6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОТЛИЧАЮЩИХСЯ КЛЕТОК И ПРОБЛЕМА РАСПОЗНАВАНИЯ АНТИГЕНА

При изучении взаимодействия генетически отличающихся клеток лимфо-миелоидного комплекса сформировалось два соподчиненных направления исследований: анализ клеточной кооперации, возникающей в иммунной системе при ответе на тот или иной антиген (иммунное взаимодействие), и анализ межклеточных отношений в процессе нормальной жизнедеятельности клеток (неиммунное взаимодействие).

Первое направление возникло в связи с необходимостью познания природы антигенраспознающих рецепторов Т-клеток, а также выяснения механизмов генетического контроля иммунного ответа и, в частности, определения того типа клеток, где исключительно или главным образом экспрессируются гены иммунного ответа. Второе направление имеет большее отношение к решению вопросов клеточной дифференцировки, функционального созревания и формирования различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток в условиях нормы, до встречи с антигеном.

Для изучения генетических связей при иммунной форме взаимодействия используются такие аналитические системы, как кооперация Т- и В-клеток (см. рис. 79), кооперация Т-клеток с макрофагами (МФ) (см. рис. 80—85), взаимодействие Т-киллеров с клеткой-мишенью (см. рис. 86—88).

Исследование генетических механизмов, действующих при неиммунном взаимодействии, проводится на моделях: аллогенной ингибиции колониеобразования (см. рис. 89), эритропоэза (см. рис. 90), инактивации стволовых кроветворных клеток несингенными лимфоцитами (см. рис. 91), ауторозеткообразования — взаимодействия аутологичных эритроцитов с собственными лимфоцитами (см. рис. 92), ауто-MLC — реакции в смешанной культуре лимфоцитов между собственными лимфоцитами различных классов (см. рис. 93), индукция Т-эффекторов РТПХ в системе взаимодействия с МФ с тимоцитами (см. рис. 94). Если при иммунном взаимодействии генетическая рестрикция связана в большинстве случаев с локусами I-области, то неиммунное взаимодействие требует идентичности главным образом по локусам K и D.

В специальных исследованиях установлено, что подавление функциональной активности взаимодействующих клеток лимфо-миелоидного комплекса можно преодолеть с помощью РНК для антигенов гистосовместимости (см. рис. 95 и 96). Выяснено, что инкубация культивируемых клеток с «аллогенной» РНК для антигенов гистосовместимости определенного гаплотипа приводит к формированию на поверхности культивируемых клеток H-2 антигенов донора РНК. Процесс появления аллоантигенов активен, разворачивается во времени и подавляется циклогексимидом — ингибитором белкового синтеза. При этом возникновение новых антигенных структур связано с классом пре-мРНК ядра и не проявляется при использовании предшественников рибосомной РНК ядрышка (см. рис. 97). Эти факты позволили представить схему участия продуктов главного комплекса гистосовместимости в межклеточных взаимодействиях (см. рис. 98 и 99). Данные по генетике иммунного и неиммунного взаимодействия позволяют представить несколько гипотетических вариантов организации антигенраспознающих структур Т-клеток (см. рис. 100).

ИММУННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ

	H-2-области и субобласти							Кооперативный ответ
	K	I			S	G	D	
		I-A	I-B	I-C				
Комбинация клеток	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	-
	■	■	■	■	■	■	■	-
	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	+
	■	■	■	■	■	■	■	-
	■	■	■	■	■	■	■	-
	■	■	■	■	■	■	■	-
	■	■	■	■	■	■	■	-
	■	■	■	■	■	■	■	-

Рис. 79. Картирование генов, контролирующих Т-В взаимодействие.

Т- и В-клетки, полученные от мышей, которые отличаются по характеристике комплекса H-2, будут взаимодействовать и тем самым обеспечивать развитие сильного гуморального иммунного ответа только в том случае, если между кооперирующими клетками имеется идентичность по субобластям I-A и I-B. Синий цвет — есть идентичность, желтый — идентичность отсутствует [по Katz D. H., 1975].

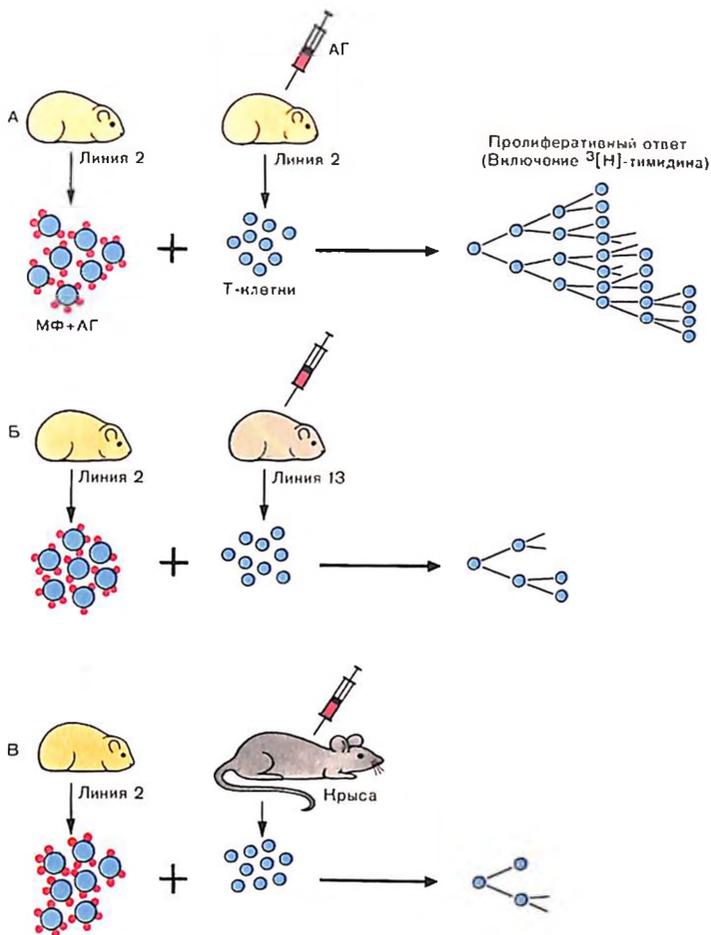
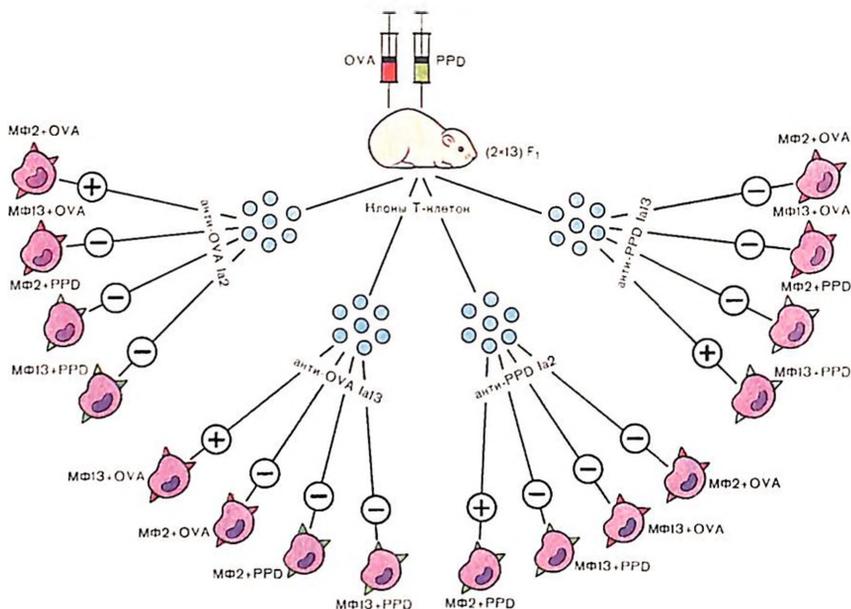


Рис. 80. Пролиферативный ответ сенсibilизированных Т-клеток, которые вступили в реакцию взаимодействия с сингенными, аллогенными или ксеногенными макрофагами, поглотившими антиген. Инбредные морские свинки линий 2 и 13 отличаются друг от друга только по I-области главной системы гистосовместимости. Макрофаги (МФ), проинкубированные с антигеном (АГ) (овальбумином, туберкулином и др.), обеспечивают интенсивную пролиферацию *in vitro* сенсibilизированных к соответствующему АГ сингенных Т-клеток (А). В то же время Т-клетки морских свинок, отличающихся от донора МФ по I-области, не в состоянии развить пролиферативный ответ (Б). Нет ответа и при ксеногенном сочетании: морская свинка — крыса (В). Высказано предположение, что Т-клетки распознают не только АГ на поверхности МФ, но и структуры клеточной поверхности, контролируемые I-областью (по данным А. S. Rosenthal и Е. Shevach, 1973).



94

Рис. 81. Способность клонов Т-клеток специфически реагировать с антигеном и продуктом I-области главной системы гистосовместимости у морских свинок.

Гибридов морских свинок (2×13)F₁ иммунизировали двумя антигенами (АГ): туберкулином (PPD) и овальбумином (OVA). От примированных животных выделено 4 клона антигенреактивных Т-клеток, каждый из которых способен реагировать только на один из АГ, ассоциированный с макрофагами одной из родительских линий (2 или 13). Результат реакции оценивали по интенсивности пролиферации клонированных Т-клеток, взаимодействующих *in vitro* с МФ определенной линии. Поскольку две линии морских свинок отличаются друг от друга только по I-области главной системы гистосовместимости, сделан вывод, что отдельный клон Т-клеток имеет антигенраспознающие рецепторы, направленные на комплекс АГ с продуктом I-области — Ia-белком конкретной линии (по данным W. Paul и соавт., 1977).

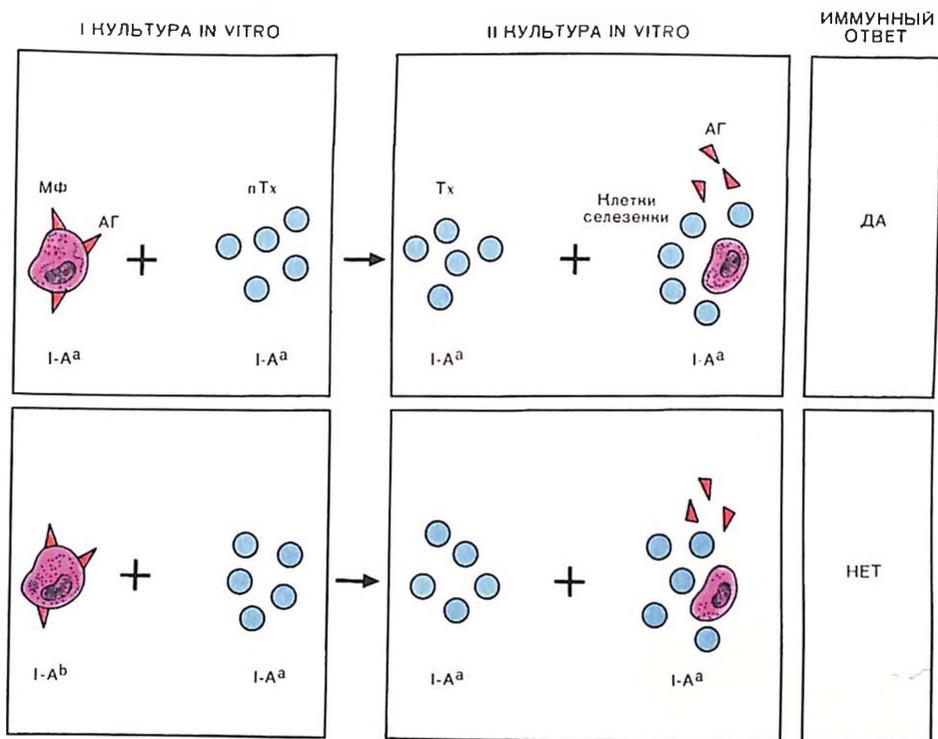


Рис. 82. Участие локуса I-A главной системы гистосовместимости в индукции Т-хелперов.

Поглотившие антиген (АГ) макрофаги (МФ), относящиеся к определенному гаплотипу по локусу I-A (например, I-A^a или I-A^b), помещались в культуру *in vitro* вместе с Т-лимфоцитами. После определенного времени совместного культивирования Т-лимфоциты переносили во вторичную культуру, куда добавляли интактные клетки селезенки и гомологичный АГ. В тех случаях, когда Т-лимфоциты получали от культуры, в которой взаимодействующие клетки были идентичны по локусу I-A, констатировано выраженное развитие антителогенеза. В то же время Т-лимфоциты от культур, содержащих неидентичные по локусу I-A клетки, оказывались не способными обеспечить хелперный эффект во вторичной культуре. Таким образом созревание Т-хелперов (Тх) из предшественников Тх (пТх) происходит только в условиях идентичности по локусу I-A между взаимодействующими клетками. Возможно продукты локуса I-A (Ia) совместно с АГ на поверхности МФ вносят свой вклад в селекцию и созревание специфических клонов Тх (по данным Р. Erb и М. Feldman, 1975).

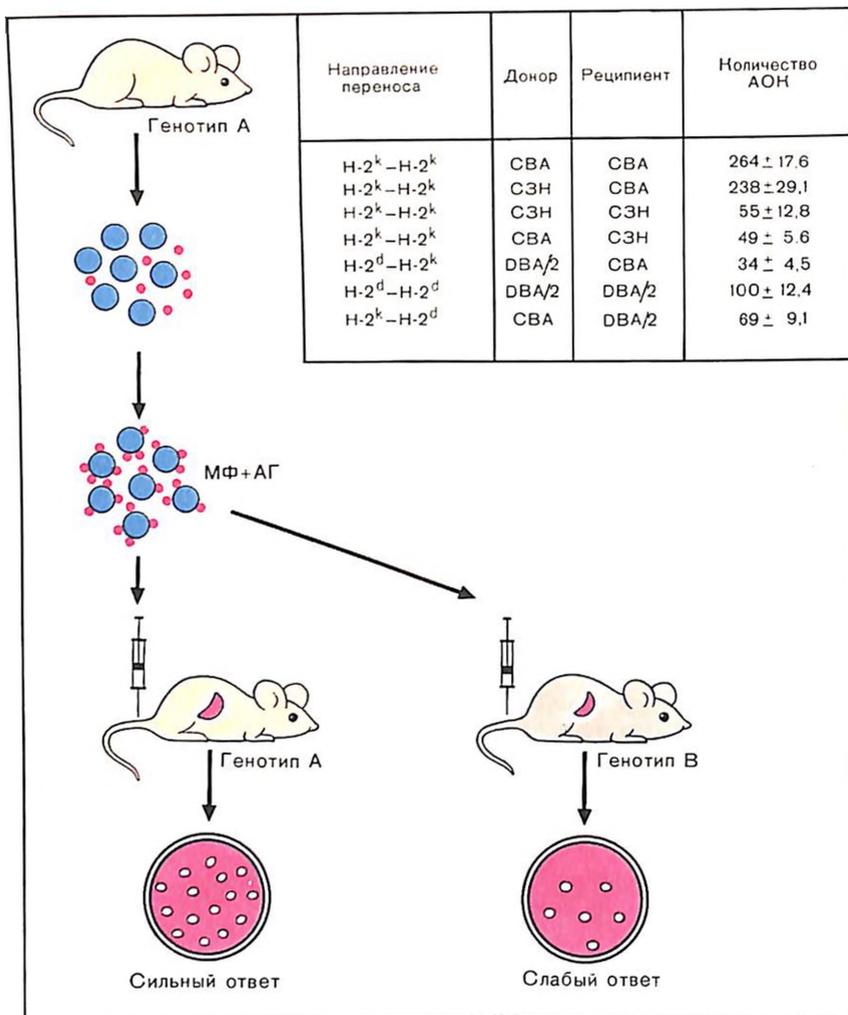
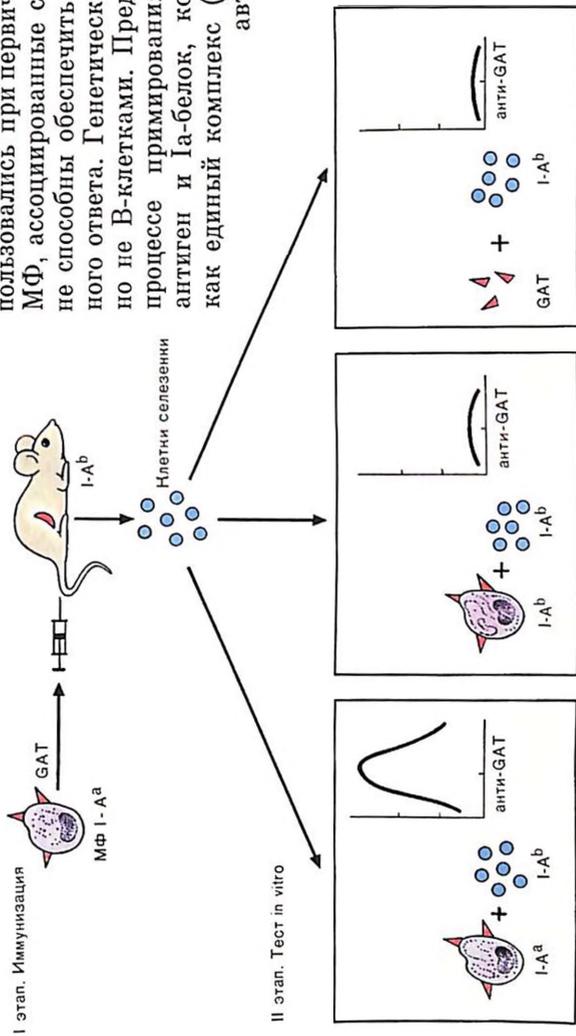


Рис. 83. Индукция иммунного ответа с помощью сингенных и аллогенных макрофагов.

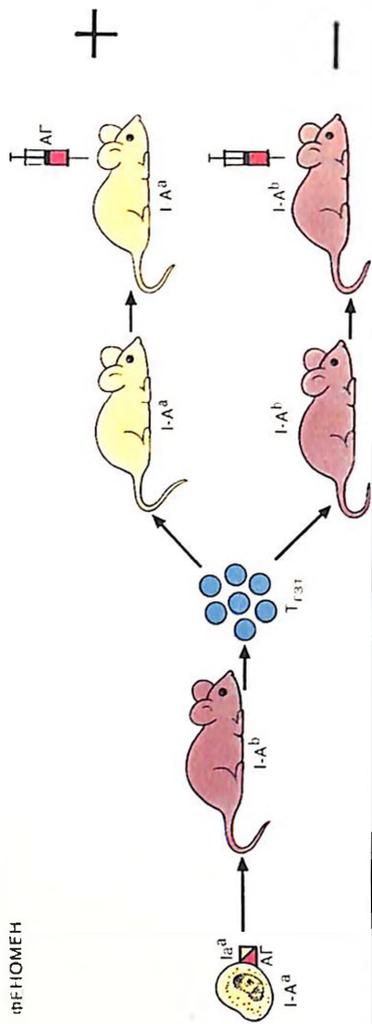
От мышей инбредной линии определенного генотипа (генотипа А) получали макрофаги (МФ). Эти клетки инкубировали с антигеном (АГ) — эритроцитами барана. МФ, захватившие и переработавшие АГ (МФ+АГ), вводили сингенным или аллогенным по отношению к донору МФ реципиентам. Через 5 дней после инъекции МФ определяли количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке реципиента. Установлено, что совместимость по комплексу H-2 обеспечивает оптимальное развитие ответа по типу иммунного ответа реципиента. В то же время различия по данной системе приводят к выраженному подавлению иммунного процесса. Эти факты указывают на необходимость генетической идентичности между взаимодействующими клетками, вступающими в процессе антителогенеза (по данным В. Г. Галактионова и Т. В. Анфаловой, 1974).

Рис. 84. Участие локуса I-A в примировании T-клеток и их взаимодействии с макрофагами при вторичном ответе *in vitro*.

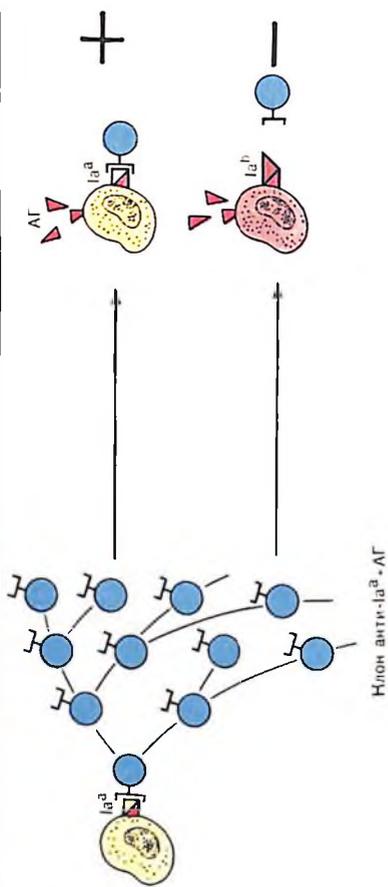
При иммунизации мышей с определенной характеристикой по локусу I-A (I-A^b) макрофагами от донора с иным I-A-локусом, поглотившими антигены (АГ; в конкретных опытах использовали полиглутаминовую кислоту-полиаланин-политирозин — GAT), иммунный ответ (анти-GAT) будет развиваться в культуре *in vitro* только в том случае, если в систему взаимодействия вносили МФ того генотипа, которые использовались при первичной иммунизации. Сингенные МФ, ассоциированные с тем же АГ, и свободный АГ не способны обеспечить развитие вторичного иммунного ответа. Генетические ограничения связаны с T-, но не B-клетками. Предполагают, что T-хелперы в процессе примирования одновременно распознают антиген и Ia-белок, контролируемый локусом I-A, как единый комплекс (по данным С. W. Piets и соавт., 1976).



ФЕНОМЕН



МЕХАНИЗМ

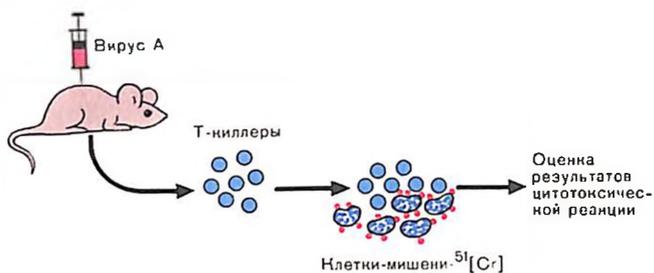


Нуклео анти-I-A^a-АГ

Рис. 85. Участие локуса I-A главной системы гистосовместимости в индукции и реализации гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) при адоптивном переносе примированных лимфоцитов.

Макрофаги (МФ) с определенной характеристикой по локусу I-A (например, I-A^a) обрабатывали антигеном (АГ) и вводили мышам, имеющим иной локус I-A, отличный от локуса донора МФ (например, I-A^b). Выделенные после примирования мышей с локусом I-A^b лимфоциты (эффекторы ГЗТ — T_{гзт}) вводили мышам, имеющим локус I-A, общий либо с донором МФ (I-A^a), либо с донором T_{гзт} (I-A^b). При разрешающем введении АГ реакция развивается только в том случае, если соблюдается генетическая идентичность между донором МФ и реципиентом в адоптивной системе переноса (донор МФ — I-A^a и реципиент — I-A^a, но не I-A^b). Ограничения при адоптивном переносе касаются только локуса I-A и не связаны с другими локусами главной системы гистосовместимости.

Предполагаемый механизм включает следующие этапы. При введении МФ с локусом I-A^a, поглотивших АГ, в организм мышей с локусом I-A^b формируется соответствующий клон T_{гзт}. Лимфоциты клона имеют антигенраспознающие рецепторы, направленные против комплекса АГ с продуктом локуса I-A^a (Ia^a-белком), который формируется на поверхности МФ после усвоения АГ. Такой клон не способен отвечать на комплекс того же АГ с продуктом аллельного локуса I-A^b (Ia^b-белком). При адоптивном переносе T_{гзт} в интактный организм последний оказывается сенсibilизированным к комплексу Ia^a + АГ. Введение сенсibilизированным животным того же АГ приводит к формированию на поверхности МФ этого животного комплексного антигена, в специфичность которого включена Ia-детерминанта. У мышей с локусом I-A^a комплекс представлен Ia^a + АГ, у мышей с локусом I-A^b — соответственно Ia^b + АГ и т. д. Имеющиеся в организме мышей адоптивно перенесенные клоны анти-Ia^a + АГ будут развивать реакцию ГЗТ только в случае идентичности по локусу I-A между донором МФ и реципиентом (по данным J. F. A. P. Miller и соавт., 1976).



Т-киллеры	Клетки-ингибиторы	Клетки-мишени	Результат реакции:	
			лизис	+ лизиса нет -
1 K ^a		K ^a		—
2 K ^a		K ^a Вирус В		—
3 K ^a		K ^a Вирус А		+
4 K ^a		K ^b		—
5 K ^b		K ^a		—
6 K ^a	K ^a	K ^a		+
7 K ^a	K ^a	K ^a		—
8 (K ^a ×K ^b) F ₁	K ^a	K ^b		+
9 (K ^a ×K ^b) F ₁	K ^b	K ^a		+

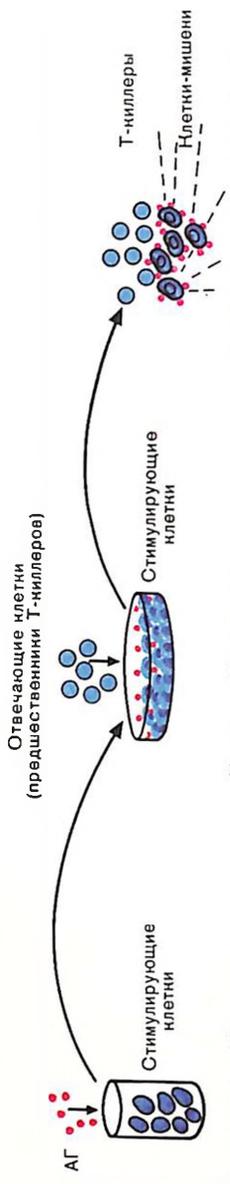
Рис. 86. Генетические ограничения при взаимодействии Т-киллеров с клетками-мишенями, зараженными вирусом.

Мышей с определенной характеристикой по локусу H-2K или H-2D (K или D) иммунизировали одним из вирусов (условно вирусом А). От примированных животных получали Т-клетки, которые использовали в цитотоксическом тесте с клетками-мишенями,

зараженными вирусом и относящимися по характеристике локуса K (или D) либо к донору Т-клеток, либо к его аллельному варианту. Цитотоксическую реакцию оценивали по интенсивности выделения ⁵¹[Cr] из клеток-мишеней.

Примированные Т-киллеры гаплотипа K^a не дают реакции с генетически идентичными, интактными клетками-мишенями (1). Нет реакции и при заражении клеток-мишеней вирусом, отличающимся от вируса, использованного для сенсibilизации (2). Цитотоксическая реакция положительная, если генетически идентичные Т-киллерам клетки-мишени заражают гомологичным вирусом (3). В то же время при использовании клеток-мишеней, отличающихся по локусу K от Т-киллеров, цитотоксическая реакция отсутствует даже при наличии гомологичного вируса у клеток-мишеней (K^a против K^b или K^b против K^a — 4,5). В тесте ингибирования цитотоксической реакции, когда в систему вводят немеченые клетки определенного гаплотипа, интактные или зараженные вирусом, получены следующие результаты. Интактные клетки-ингибиторы, имеющие гаплотип, общий с гаплотипом Т-киллеров и клеток-мишеней, не способны подавить цитотоксической реакции (6). Реакция подавлена, если в качестве ингибитора использованы зараженные гомологичным вирусом клетки, генетически идентичные как клеткам-мишеням, так и Т-киллерам (7). При использовании антигенреактивных Т-киллеров от примированных гибридов (K^a × K^b)F₁ лизис клеток-мишеней, относящихся к гаплотипу одного из родителей, не подавляется, если в систему вводят клетки-ингибиторы второго родительского гаплотипа (8,9). Аналогичные отношения выявлены для локуса D. В то же время генетические ограничения не проявляются по локусам I-области главной системы гистосовместимости.

Для объяснения представленных данных выдвинуто две гипотезы: гипотеза «измененного своего» и гипотеза «двойного распознавания». Первая из них строится на представлении о том, что при заражении клеток вирусом вирусный антиген образует комплекс с продуктом локуса K (или D). В результате в процессе примирования происходит селекция клонов Т-киллеров, распознающих этот «новый» комплексный антиген. Гипотеза «двойного распознавания» предусматривает наличие двух антигенраспознающих рецепторов — к вирусному антигену и к собственным продуктам главной системы гистосовместимости (K или D) (по данным R. M. Zinkernagel и соавт., 1976).



Постановка цитотоксической реакции

Индукция Т-киллеров

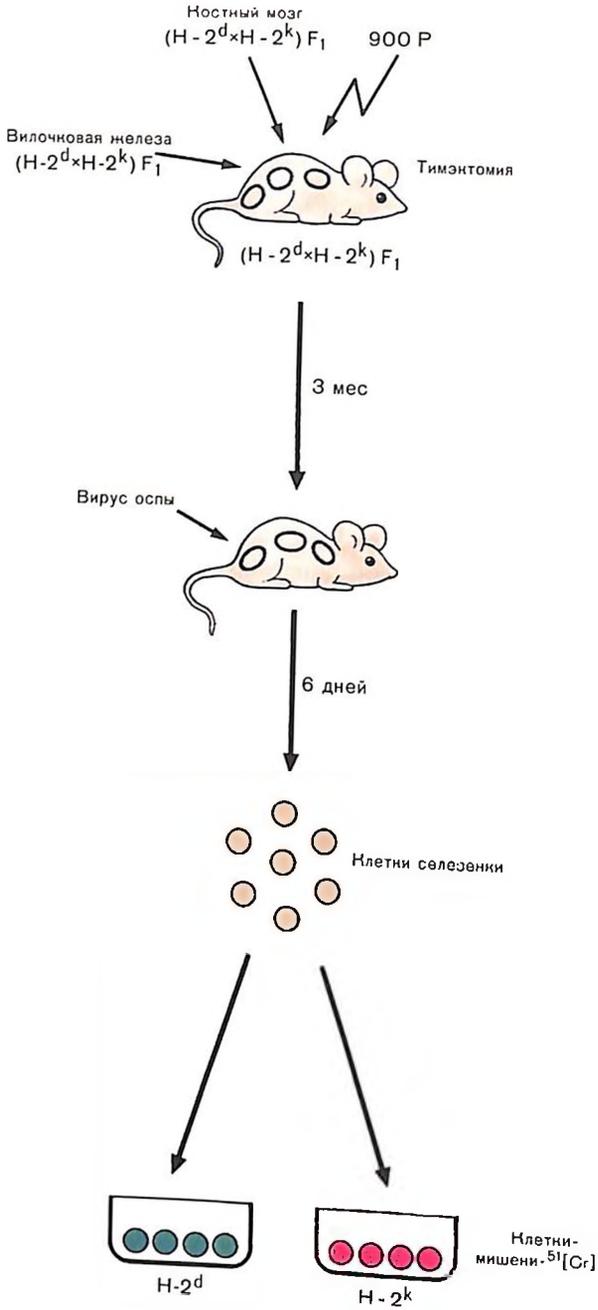
Конъюгация с АГ

Стимулирующие клетки	Т-киллеры (отвечающие клетки)	Клетки-мишени	Результат реакции: лизис - + лизиса нет - -
1 			 +
2 			 -
3 			 +
4 			 -

Рис. 87. Генетические ограничения при взаимодействии Т-киллеров с клетками-мишенями, конъюгированными с гаптеном.

Клетки с определенной характеристикой по локусу H-2K (K) конъюгировали с простыми химическими соединениями — гаптенами (например, с TNP — тринитрофенилом). Такие клетки выступали в качестве стимулирующих, антигенпредставляющих клеток в культуре *in vitro*, куда вносили интактные Т-клетки, идентичные или отличающиеся по локусу K от стимулирующих клеток. После 4—5 сут совместного культивирования Т-клетки собирали и тестировали в цитотоксической реакции с клетками-мишенями, конъюгированными с гомологичным гаптеном. При генетической идентичности по локусу K между стимулирующими и отвечающими клетками, а также клетками-мишенями развивается выраженная цитотоксическая реакция (1). Цитотоксический ответ Т-киллеров отсутствует, если между стимулирующими клетками и клетками-мишенями имеются различия по локусу K (2,4). В то же время генетическая идентичность по локусу K между этими клетками обеспечивает развитие полноценной цитотоксической реакции, хотя локус K Т-киллеров представлен в аллельном варианте (K^a против K^b — 3). Аналогичные отношения выявлены для локуса D. Генетические ограничения по локусам I-области отсутствуют. Так же как и в случае генетических ограничений при цитотоксической реакции клеток-мишеней, зараженных вирусом (см. рис. 86), предполагается наличие одного из двух механизмов распознавания гаптена на клетках-мишенях: распознавания «измененного своего» или двойного распознавания — гаптена и продукта локуса K (или D) (по данным D. C. Shreffler, 1976).

A



Цитотоксическая реакция

Б

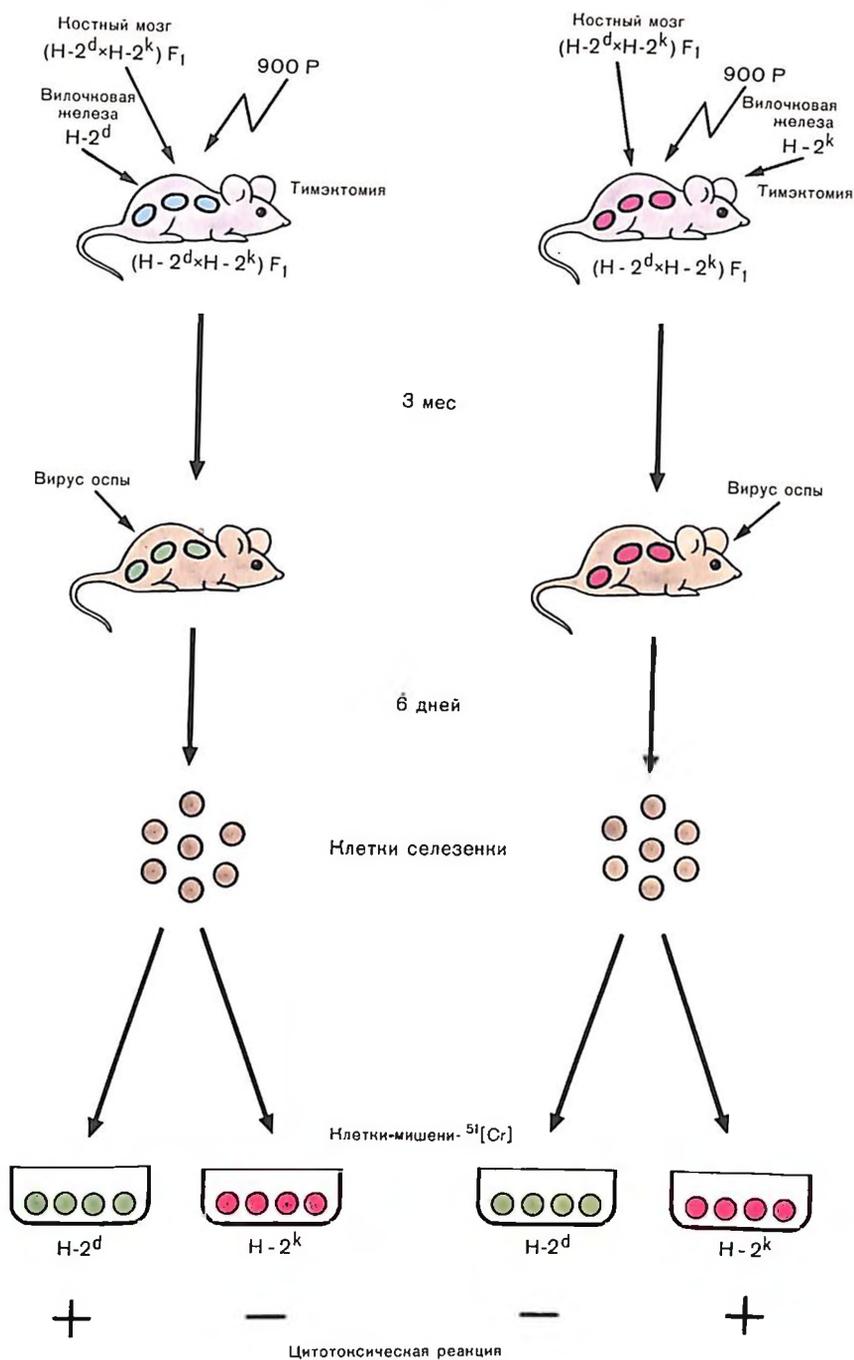


Рис. 88. Роль вилочковой железы в формировании рецепторов, распознающих «собственные» антигены.

Вопрос о том, какая гипотеза («измененного своего» или «двойного распознавания») наиболее точно соответствует событиям, происходящим при генетическом ограничении действия Т-киллеров на клетки-мишени, модифицированные вирусом или гаптенем, решался в экспериментах, которые представлены на данном рисунке.

А. Мышей-гибридов ($H-2^d \times H-2^k$) F_1 облучали летальной дозой и тимэктомировали. Таким животным трансплантировали эпителиальную строму сингенной вилочковой железы и сингенный костный мозг. Через 3 мес животных заражали вирусом оспы и еще через 6 дней из селезенки выделяли клетки, цитотоксическую активность которых проверяли на клетках-мишенях одного из родительских гаплотипов ($H-2^d$ или $H-2^k$). И в первом, и во втором случае эффекторные Т-клетки гибридов развивали цитотоксическую реакцию.

Б. Ситуация менялась, если вместо гибридной вилочковой железы трансплантировали вилочковую железу родителей, с гаплотипом $H-2^d$ или $H-2^k$. В тех случаях, когда Т-прекурсоры гибридного костного мозга колонизировали вилочковую железу родительского гаплотипа, формировались эффекторы цитотоксической реакции, способные разрушать клетки-мишени только того гаплотипа, к которому относилась вилочковая железа.

Эти данные свидетельствуют в пользу гипотезы «двойного распознавания». На первом этапе, продолжавшемся 3 мес, Т-прекурсоры гибрида проходят «обучение» в вилочковой железе, приобретаемая способность распознавать тот антиген гистосовместимости, которым обладала вилочковая железа родителей. В условиях разбираемого опыта Т-прекурсоры гибрида, колонизируя вилочковую железу родителя $H-2^d$, становятся обладателями рецепторов анти- $H-2^d$ или при колонизации железы с гаплотипом $H-2^k$ — рецепторов анти- $H-2^k$. После заражения вирусом у клеток, примированных к антигенам $H-2$, индуцируется антивирусная активность. Однако природа рецепторов к «своему» (к антигенам $H-2$) остается непознанной. Возможно, что вилочковая железа родителя «отбирает» те Т-прекурсоры из общей популяции клеток гибридного костного мозга, которые а priori лучше экспрессируют антигены гистосовместимости, свойственные родительской вилочковой железе. Если этот последний процесс действительно происходит, то двойное распознавание будет складываться из распознавания вируса и взаимодействия продуктов $H-2$ (К или D), представленных как на клетках мишенях, так и Т-киллерах, по принципу взаимной комплементарности, т. е. взаимодействия «своего» со «своим» (по данным R. Zinkernagel и P. Doherty, 1979).

НЕИММУННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ

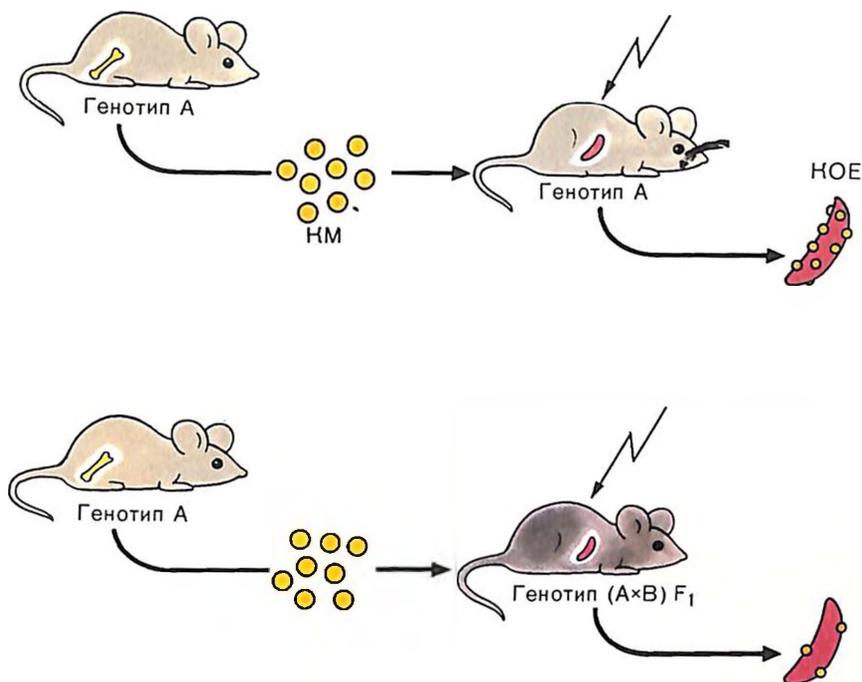


Рис. 89. Аллогенная ингибция колониеобразующей способности клеток костного мозга.

Аллогенная ингибция — феномен подавления роста и жизнеспособности клеток или тканей родителей в гибриде первого поколения. Комбинация родитель — гибрид как донор — реципиент обуславливает отсутствие явно выявляемого иммунного компонента в подавлении трансплантированных тканей или клеток, так как антигены родителей полностью представлены у гибрида первого поколения. Предполагается, что в основе аллогенного подавления лежат генетически обусловленные различия в поверхностных структурах, контролируемых генами главной системы гистосовместимости, между трансплантируемым материалом и клетками микроокружения. При такой интерпретации феномена его следует рассматривать как одну из форм межклеточного взаимодействия. Явление аллогенной ингибции наблюдается при трансплантации раковых клеток, клеток костного мозга, предшественников антителопродукторов, кожных лоскутов.

На рис. 89 в качестве примера показана схема опыта, в котором выявляется аллогенная ингибция колониеобразования стволовыми элементами клеток костного мозга (КМ). Клетки КМ одного из родителей (генотип А), введенные в сингенный облученный организм, формируют определенное (в зависимости от дозы) число колоний на строме селезенки. Это число указывает на количество стволовых кроветворных элементов (колониеобразующих единиц — КОЕ), которые осели на строме селезенки и дали рост колониям. Введение клеток КМ того же генотипа А гибридному реципиенту (А×В)F₁ приводит к резкому подавлению колониеобразования. Установлено, что в эффекте аллогенной ингибции у мышей доминирующее значение имеет К-конец комплекса Н-2. Совместимость по генам К-конца между клетками КМ и реципиентом обеспечивает формирование того же количества колоний, которое наблюдается и в полностью сингенных условиях (по данным V. E. Hellström, 1963).

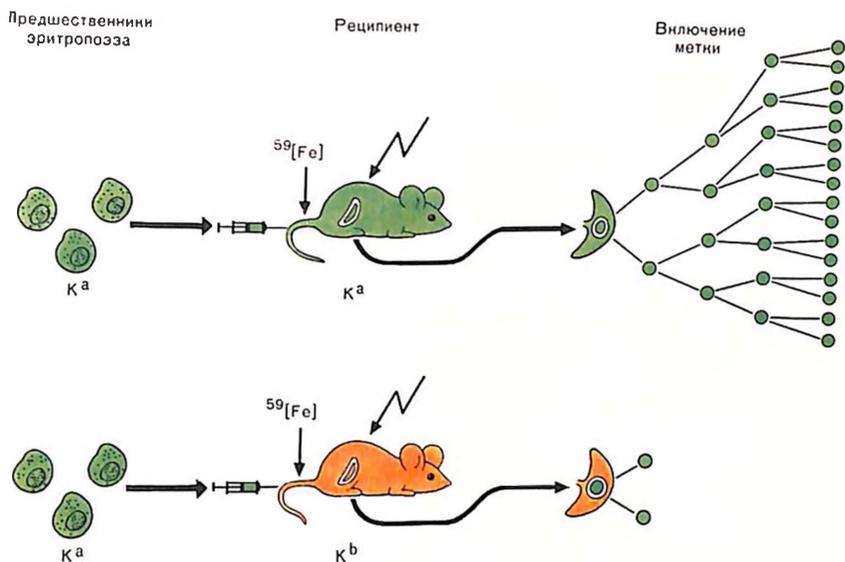


Рис. 90. Генетический контроль хоминг-эффекта при миграции клеток.

Хоминг-эффект — явление преимущественного заселения отдельных органов и тканей клетками определенной стадии и направления дифференцировки. Предполагают, что селективная задержка клеток в том или ином органе зависит от специфики поверхностных структур этих клеток. На рис. 90 приведен один из примеров хоминг-эффекта. Введение в облученный организм сингенных предшественников эритропоэза, входящих в состав клеток костного мозга (КМ), приводит к накоплению этих предшественников в селезенке с последующей дифференцировкой до зрелой стадии (определяли по включению ^{59}Fe в размножающиеся клетки). В то же время костномозговые предшественники эритропоэза, генетически отличающиеся от таковых реципиента, не имеют выраженной тропности к селезенке (включение метки очень незначительное). Установлено, что хоминг-эффект зависит от локусов K (или D) главной системы гистосовместимости. Локусы I-области не влияют на представленную форму клеточного взаимодействия — кооперации предшественников эритропоэза со стромальными клетками селезенки (по данным E. Lengerova, 1971).

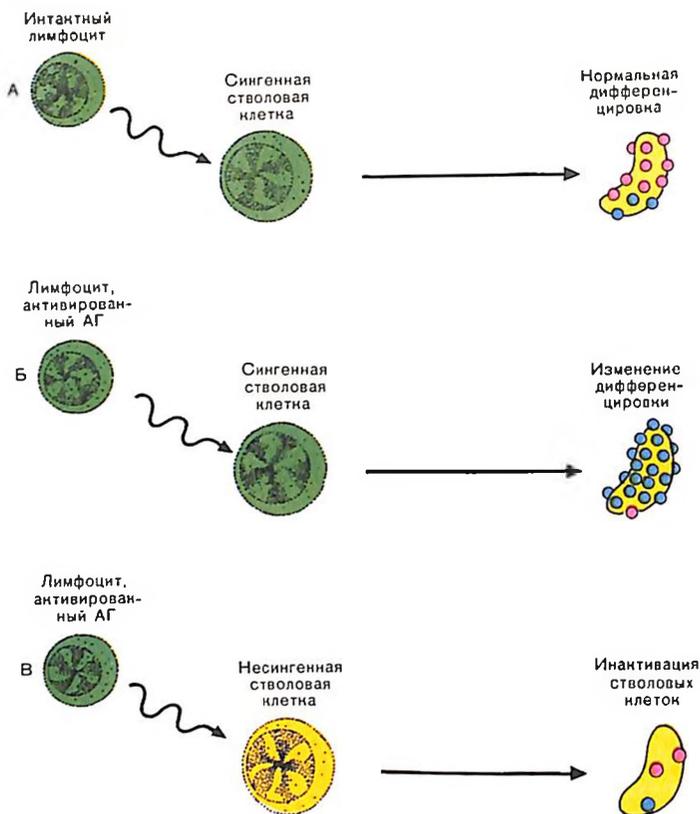


Рис. 91. Инактивация несингенных стволовых клеток лимфоцитами.

А — в условиях нормы взаимодействие генетически идентичных сингенных лимфоцитов со стволовой клеткой приводит к нормальной дифференцировке (отношение эритроидных колоний к миелоидным равно 3 : 1); Б — при взаимодействии стволовой клеткой с сингенными активированными антигеном лимфоцитами происходит изменение дифференцировки в сторону миелопоэза (отношение эритроидных колоний к миелоидным равно 1 : 20); В — при взаимодействии стволовой клеткой с генетически отличающимися (несингенными) лимфоцитами наблюдается резкое подавление колониеобразования. Гены, контролирующие инактивацию несингенных стволовых элементов, локализованы как в комплексе H-2, так и в других, не-H-2-системах у мышей. Причем гены не-H-2-системы оказывают больший подавляющий эффект, чем гены комплекса H-2. Эффектором инактивации колониеобразующих единиц являются главным образом Т-лимфоциты [Петров Р. В., Сеславина Л. С., 1967; Головистиков И. Н. и др., 1970; Петров Р. В., Манько В. М., 1972].

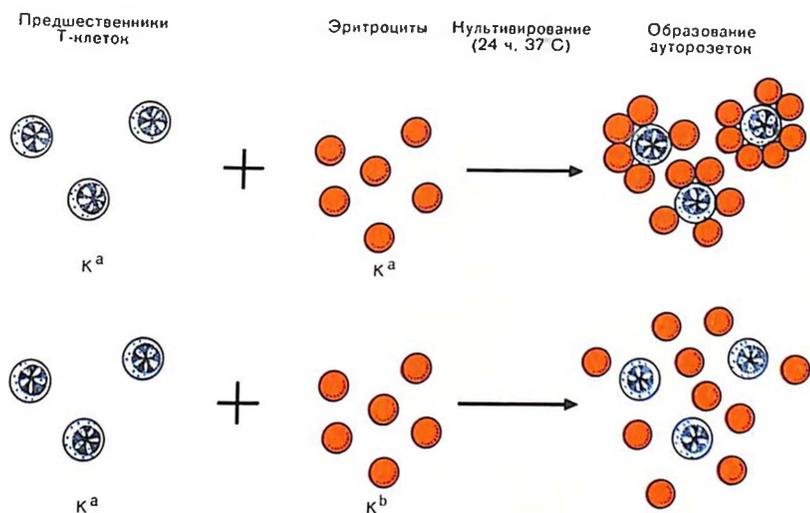


Рис. 92. Участие локуса H-2K(K) главной системы гистосовместимости в реакции образования эритроцитарных ауторозеток.

Лимфоциты мышей (и других животных) способны образовывать розетки с собственными эритроцитами. Наиболее эффективно в реакции ауторозеткообразования вступают незрелые Т-клетки. Формирование ауторозеток наблюдается не только в аутологичной или сингенной системе, но и в аллогенной системе при условии идентичности по локусу K (или D) основной системы гистосовместимости. Различия по одному из этих локусов являются причиной отсутствия или очень слабой выраженности реакции (по данным J. Dausset и L. Contu, 1980).

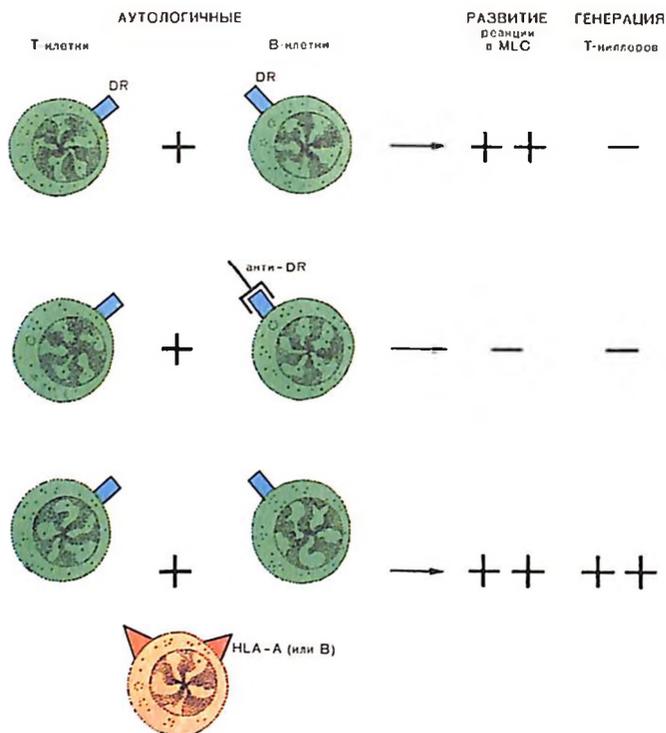


Рис. 93. Участие локуса HLA-DR в развитии аутологичной реакции в смешанной культуре лимфоцитов.

Т- и В-клетки, выделенные от одного и того же индивидуума, способны пролиферировать в смешанной культуре лимфоцитов (MLC) — развивать реакцию ауто-MLC, по интенсивности практически не отличающейся от реакции в аллогенной системе. Для развития реакции ауто-MLC необходима идентичность по локусу HLA-DR в большей степени, чем по локусу HLA-A или HLA-B. Особенность данной реакции заключается в том, что пролиферация в ауто-MLC не приводит к формированию Т-киллеров (в отличие от реакции в аллогенной MLC). Тот факт, что в реакции ауто-MLC участвуют в основном продукты локуса DR, подтверждается результатами экспериментов с антисывороткой к этим продуктам. Блокирование DR-детерминант специфической анти-DR-сывороткой отменяет реакцию. Если в систему внести убитые клетки, имеющие аллельные антигены HLA-A (или HLA-B), не только развивается реакция в MLC, но и генерируются Т-киллеры к антигенам внесенных клеток. Эти факты подтверждают гипотезу двойного распознавания в MLC: распознавание своих собственных структур (DR) и чужеродных (HLA-A, B) (по данным J. Dausset и L. Contu, 1980).

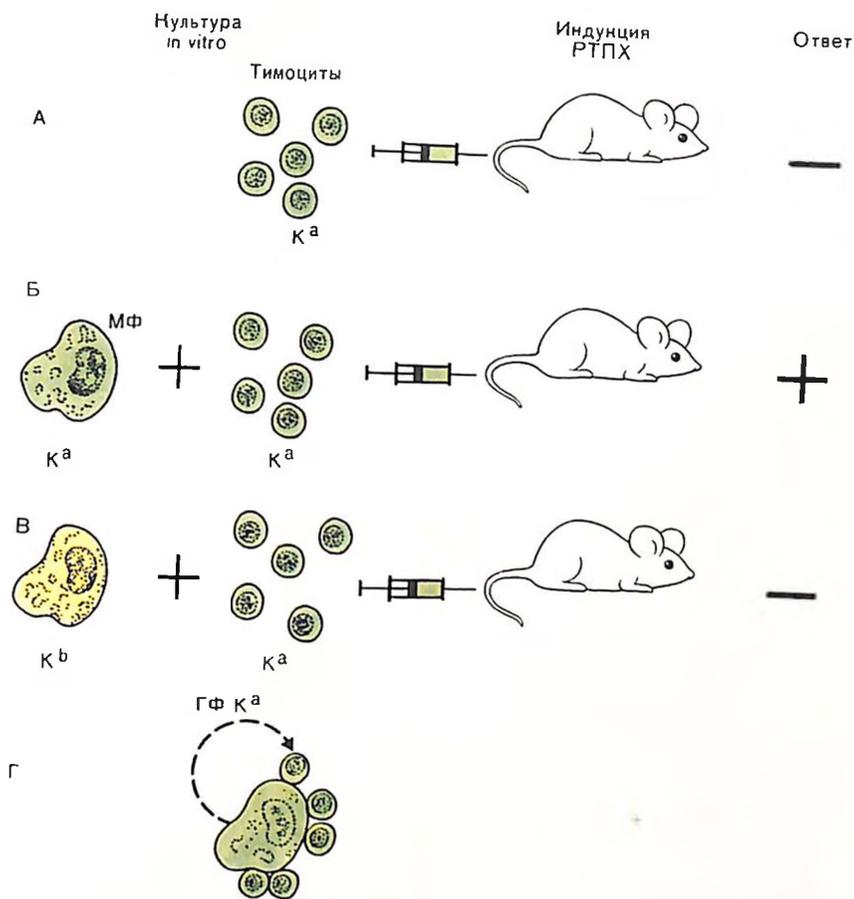
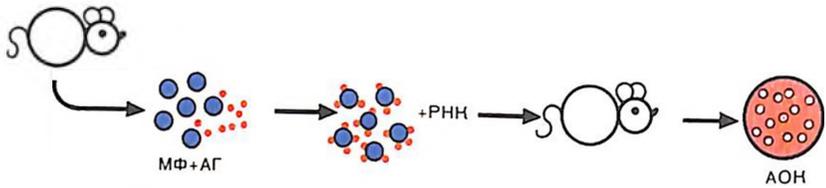


Рис. 94. Участие локуса H-2K (K) главной системы гистосовместимости в индукции Т-эффекторов реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

А — кортикальные тимоциты (T_1 -субпопуляция вилочковой железы) не способны индуцировать РТПХ; Б — кратковременная (2—18-часовая) инкубация T_1 -тимоцитов с сингенными макрофагами (МФ) приводит к индукции Т-эффекторов РТПХ, что проявляется в развитии соответствующей реакции у реципиента; В — при генетических различиях только по локусу H-2K (K) индукция Т-эффекторов РТПХ не наблюдается; Г — для проявления феномена необходим прямой физический контакт между T_1 -тимоцитами и МФ, в результате которого секретируется H-2K-специфический гуморальный фактор (ГФ) (молекулярная масса около 60 000), участвующий в индукции Т-эффекторов РТПХ (по данным Т. В. Анстевой и соавт., 1983; В. Г. Галактионова и соавт., 1983).

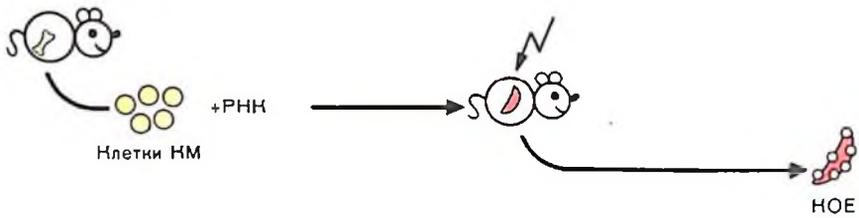
ПРЕОДОЛЕНИЕ НЕСИНГЕННЫХ ОТНОШЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ РНК
 ДЛЯ АНТИГЕНОВ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ



Донор макрофагов	Донор РНК	Реципиент	Образование АОН
 A		 A	++
 B		 A	<u>+</u>
 B	 A	 A	++
 B	 B	 A	<u>+</u>
 B	 C	 A	<u>+</u>
 B	 A Ультразвук	 A	<u>+</u>
 B	 A РНКаза	 A	<u>+</u>

Рис. 95. Преодоление генетической несовместимости при макрофагальной индукции антителообразования с помощью РНК «линейной специфичности».

Макрофаги (МФ), выделенные от мышей, инкубировали с эритроцитами барана, использованными в качестве антигена, а затем с РНК, которую экстрагировали из селезенки мышей определенного генотипа. Такие МФ вводили интактным реципиентам, у которых на 5-е сутки после инъекции определяли количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке. При сингенном переносе, когда доноры МФ и реципиент относятся к одному и тому же генотипу (1), развивается выраженный иммунный ответ. При аллогенном переносе (донор МФ и реципиент относятся к разным генотипам) эффект накопления АОК значительно снижен (2). Инкубация МФ с препаратом РНК, выделенной от мышей, относящихся к линии реципиента, восстанавливает индукционные способности несингенных МФ (3). В то же время РНК донора МФ (генотип В) или линии мышей, «не участвовавшей» в системе переноса (генотип С), не способны восстанавливать эффективность макрофагальной индукции иммунного ответа (4 и 5). РНК линии реципиента, обработанная ультразвуком или РНКазой (6 и 7), также не обладает восстановительной активностью. Эти факты позволяют говорить о «линейной специфичности» действия РНК, т. е. ситуации, когда в явлении восстановления индукционных способностей МФ активна только нативная РНК линии реципиента (по данным В. Г. Галактионова и соавт., 1974; В. Г. Галактионова и Л. Д. Горбачевой, 1980).



Донор клеток НМ	Характеристика и генотип донора РНК	Реципиент	Число НОЕ
1 (A×B) F ₁		(A×B) F ₁	
2 A		(A×B) F ₁	
3 A	тот. РНК B	(A×B) F ₁	
4 A	тот. РНК (A×B) F ₁	(A×B) F ₁	
5 A	тот. РНК A	(A×B) F ₁	
6 A	тот. РНК C	(A×B) F ₁	
7 A	цит. РНК (A×B) F ₁	(A×B) F ₁	
8 A	пре-рРНК (A×B) F ₁	(A×B) F ₁	
9 A	пре-мРНК (A×B) F ₁	(A×B) F ₁	

Рис. 96. Отмена аллогенной ингибции колониеобразующей способности клеток костного мозга с помощью пре-мРНК «линейной специфичности».

Клетки костного мозга (КМ) определенного генотипа, введенные в летально облученный сингенный организм, формируют колонии — клоны одной стволовой кроветворной клетки. На опустошенной строме селезенки число колоний соответствует числу колониеобразующих единиц (КОЕ), т. е. числу стволовых кроветворных клеток (схема опыта по трансплантации клеток КМ — в верхней части рисунка). Число КОЕ, способных формировать колонии, будет резко снижено при трансплантации КМ родительского генотипа гибриду первого поколения (2, см. рис. 89). Инкубация клеток КМ одного из родителей с тотальным препаратом РНК (тот. РНК), выделенным из селезенки второго родителя, или РНК гибрида приводит к восстановлению колониеобразующей способности этих клеток в гибридном реципиенте (3 и 4). В то же время РНК донора клеток КМ или линии мышей, «не участвовавших» в системе переноса, подобной активностью не обладает (5 и 6). Из всех проанализированных классов РНК гибридного реципиента (цитоплазматическая РНК — цит. РНК, предшественник рибосомной РНК ядрышка — пре-рРНК и предшественник матричной РНК ядра — пре-мРНК) наибольшей активностью в восстановлении колониеобразования обладает класс пре-мРНК ядра (7, 8 и 9). Эти факты также, как и данные (рис. 95), позволяют говорить о «линейной специфичности» действия РНК при доминирующей активности класса пре-мРНК ядра (по данным В. Г. Галактионова и соавт., 1978).

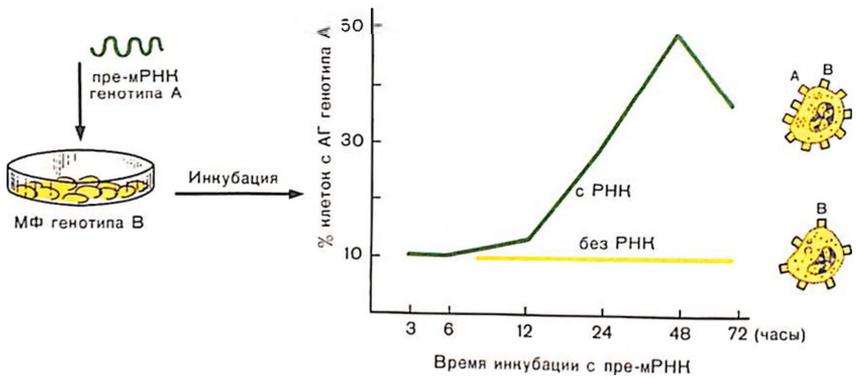


Рис. 97. Экспрессия антигенов гистосовместимости донора РНК на культивируемых макрофагах.

Из макрофагов (МФ) мышей определенного генотипа (генотипа В) готовили монослой в культуре *in vitro*, к которому добавляли пре-мРНК ядра, выделенную от мышей иного генотипа (генотипа А). После совместного культивирования МФ с пре-мРНК определяли количество клеток в культуре, имеющих антигены (АГ) донора пре-мРНК (анализ в цитотоксическом тесте с антисывороткой к антигенам донора пре-мРНК). Значимое количество клеток (30—50%) с АГ донора пре-мРНК выявляется через 24—72 ч культивирования. Специфичность экспрессии антигенов комплекса Н-2, соответствующих антигенам донора пре-мРНК, доказана в контрольных экспериментах (с антисыворотками к АГ гистосовместимости генотипа, «не участвовавшего» в данной экспериментальной системе, с антисыворотками, абсорбированными соответствующими АГ, и т. д.). Рибосомальная РНК ядрышка не способна обеспечить экспрессию АГ донора РНК. Ингибитор белкового синтеза, циклогексимид, препятствует возникновению соответствующих АГ на клеточной поверхности (по данным В. Г. Галактионова и соавт., 1978).

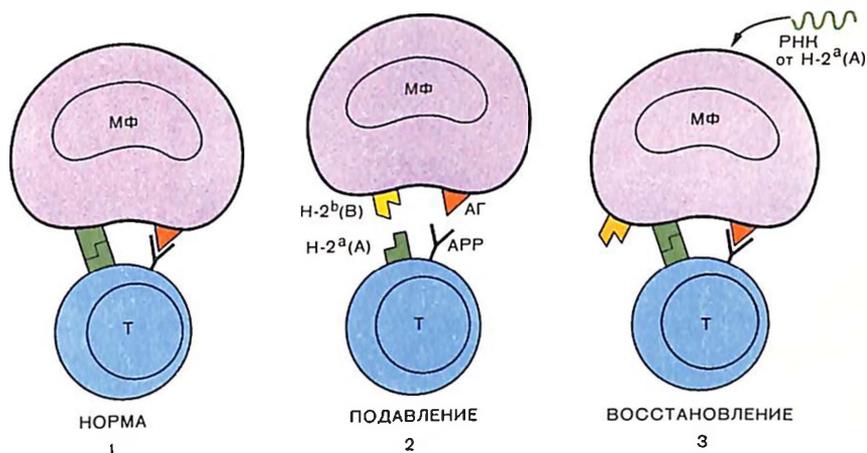
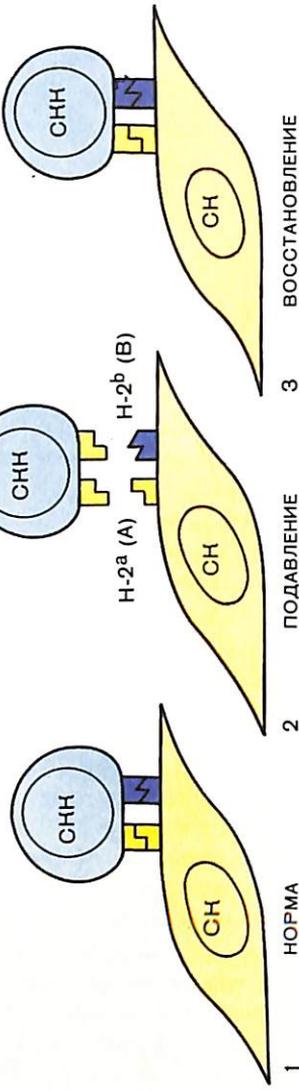


Рис. 98. Участие продуктов главной системы гистосовместимости в индукции иммунного ответа с помощью макрофагов, перерабатывающих антиген (гипотетическая схема).

Данные о «линейной специфичности» действия РНК для антигенов (АГ) гистосовместимости при индукции иммунного ответа с помощью несингенных макрофагов (МФ) (см. рис. 95) и экспрессии под влиянием пре-мРНК АГ комплекса H-2 на культивируемых клетках (см. рис. 97) позволяют выдвинуть предположение о форме участия продуктов комплекса H-2 в клеточном взаимодействии. Гипотеза строится на представлении о взаимной комплементарности гомологичных продуктов комплекса H-2. 1 — в условиях нормы МФ, представляющий АГ, взаимодействует со специфическим клоном Т-клеток посредством антигенраспознающего рецептора (АРР). Это взаимодействие необходимо, но недостаточно для созревания Т-клеток, участвующих в антителопродукции; 2 — при генетических различиях между донором МФ и реципиентом эффективное клеточное взаимодействие не происходит из-за структурных различий между продуктами комплекса H-2. Следствием этого является подавление процесса индукции и развития иммунного процесса; 3 — эффект индукции восстанавливается после обработки несингенных МФ РНК, выделенной от линии реципиента. Механизм восстановления — синтез и экспрессия на клеточной поверхности антигенов донора РНК (по данным В. Г. Галактионова и соавт., 1974; В. Г. Галактионова и Л. Д. Горбачевой, 1980).

Рис. 99. Участие продуктов главной системы гистосовместимости в восстановлении колониеобразующей способности клеток костного мозга в несингенном организме (гипотетическая схема).



В основе построения схемы лежат те же принципы, что и в схеме, представленной на рис. 98. 1 — стволовые кроветворные клетки (СКК), введенные в сингенный облученный организм, образуют определенное число колоний. Начало роста колоний зависит от эффективности взаимодействия стволового кроветворного элемента (КОЕ) со стромальными клетками (СК) селезенки. Среди компонентов клеточных структур, обеспечивающих полноценное взаимодействие, представлены продукты главной системы гистосовместимости. На рис. 99 отобразено взаимодействие СКК гибрида (Н-2^a × Н-2^b) F₁ со СК гомологичного гибридного реципиента; 2 — при введении СКК гомозиготного родителя (например, Н-2^a/Н-2^a) гибриду первого поколения (Н-2^a × Н-2^b) F₁ наблюдается рез-

кое снижение числа колоний, что связано с различиями в клеточных поверхностных структурах, контролируемых комплексом Н-2; 3 — отмена аллогенной ингибции СКК наблюдается при предварительной инкубации СКК гомозиготного родителя (Н-2^a/Н-2^a) с РНК от второго родителя (Н-2^b/Н-2^b) или гибрида (Н-2^a × Н-2^b) F₁. В эффекте отмены ингибции наиболее активна пре-мРНК ядра. Механизм восстановления тот же, что и в предыдущем случае (см. рис. 98) — синтез и экспрессия антигенов донора РНК. Это приводит к появлению на поверхности СКК «недостающих» продуктов комплекса Н-2, «восстановлению сингенности» между взаимодействующими клетками (по данным В. Г. Галактионова и соавт., 1974; В. Г. Галактионова и Л. Д. Горбачевой, 1980).

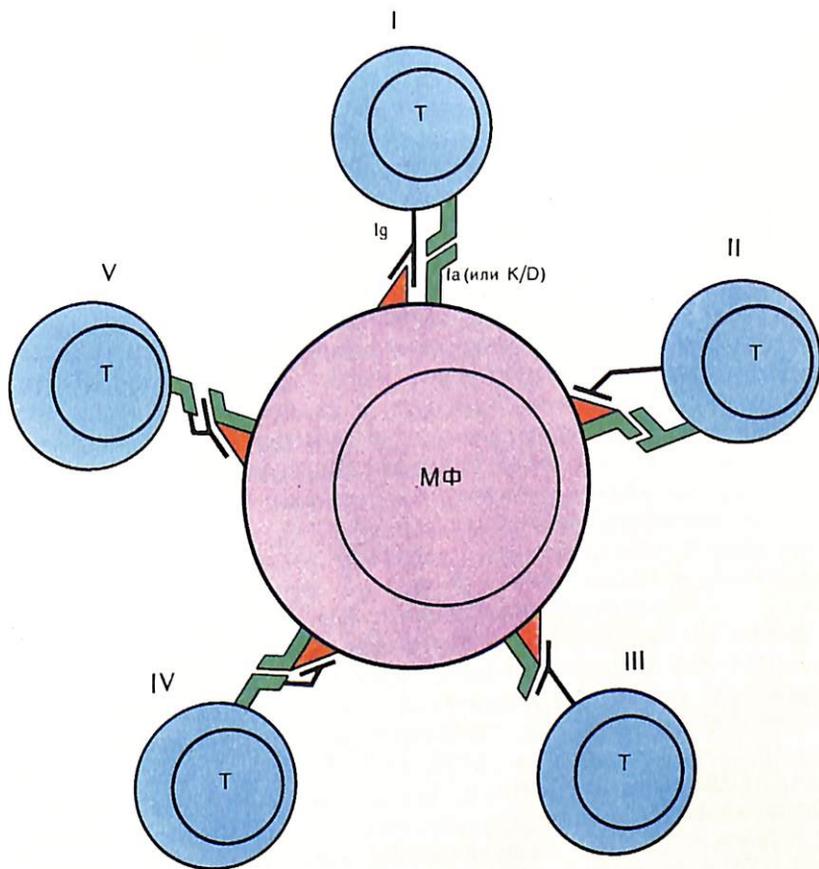


Рис. 100. Гипотезы о структурной организации антигенраспознающих рецепторов Т-клеток.

Стремление понять природу антигенраспознающих рецепторов (АРР) Т-клеток стимулировало изучение эффектов несингенного межклеточного взаимодействия в иммунной системе. Трактовка фактов, представленных выше, суммирована на рис. 100. Существуют два предположения, которые пытаются объяснить явления генетической рестрикции при иммунном взаимодействии. Первое основано на том, что АРР Т-клеток распознают не собственно антиген (АГ) на поверхности макрофага (МФ) или на клетке-мишени, а его комплекс с продуктами I-A или H-2K/H-2D локусами главной системы гистосовместимости (ГСК). На этом предположении стро-

ится гипотеза «измененного своего» (III и V). Второе предположение постулирует наличие двойного распознавания при взаимодействии Т-клетки с поглотившим антиген макрофагом или клеткой-мишенью (I, II и IV). АРР Т-клеток распознают нативный АГ — первый акт распознавания. Второй акт состоит в распознавании продуктов ГСГ. Причем в этом случае продукты данной системы распознаются либо за счет соответствующих акцепторов Т-клеток (II), либо за счет взаимной комплементарности между теми же структурами клеточной поверхности, контролируемые генами ГСГ (I и IV). Накопленные факты пока не позволяют отдать предпочтение ни одной из этих гипотез.

Вариант I. Антиген на поверхности МФ находится в свободной, не связанной с Ia-белком, форме. Распознавание АГ, ассоциированного с МФ, осуществляется иммуноглобулиновыми рецепторами так же, как это происходит у В-клеток. Реальное существование таких рецепторов было показано J. J. Marchalonis (1974). Распознавание АГ иммуноглобулиновыми рецепторами Т-клеток является необходимым, но недостаточным условием для функциональной активации тимусзависимых лимфоцитов. Дополнительным фактором для успешной кооперации служат клеточные структуры, контролируемые ГСГ, которые взаимодействуют между собой по принципу взаимной комплементарности. О реальном существовании подобного механизма свидетельствуют данные по генетике неиммунного взаимодействия (см. рис. 89—94), а также полученные нами факты о преодолении сниженной функциональной активности клеток в несингенном организме с помощью РНК для антигенов гистосовместимости (см. рис. 95—97).

Вариант II. Высказано предположение о наличии у Т-клеток акцепторов для своих собственных антигенов гистосовместимости — рецепторов к «своему» [Venacerraf B., Gemain R. N., 1978]. Биологически оправданное существование подобных акцепторов оспаривается [Галактионов В. Г., 1975, 1980; Dausset J., Contu L., 1980]. Вопрос останется открытым до тех пор, пока не будет установлена молекулярная природа предполагаемого акцептора. Вариант II постулирует двойное распознавание: распознавание АГ посредством АРР и распознавание собственных структур ГСГ акцепторами (рецепторами) к «своему». Экспериментальные данные, приведенные на рис. 81 и 84—87, не противоречат высказанным предположениям, хотя и не имеют какого-либо прямого подтверждения.

Вариант III. Специфичность антигенраспознающего иммуноглобулинового рецептора направлена на комплекс антигена с Ia-белком (или K/D белками в случае взаимодействия Т-киллера с клеткой-мишенью). Возможность подобной формы взаимодействия следует из опытов, в которых в результате сенсibilизации реципиента антигеном, ассоциированным с несингенным МФ, образуются примированные Т-лимфоциты. Последние способны взаимодействовать *in vitro* только с МФ, использованными для иммунизации, но не с сингенными МФ (см. рис. 84). С этих же позиций поддаются объяснению результаты опытов, представленных на рис. 81 и 85, а

также опытов по изучению цитотоксичности Т-киллеров к клеткам-мишеням с разной характеристикой по антигенам ГСГ (см. рис. 86 и 87).

Варианты IV и V. Имеются данные о том, что в состав АРР Т-клеток входят V_H -домен иммуноглобулина и Ia-белок [Binz H., Wigzell H., 1977]. Если эти факты не окажутся ошибкой эксперимента, то характер взаимодействия между Т-клеткой и МФ с учетом генетической рестрикции можно представить так, как это отображено вариантом IV. V_H -домен с антигенраспознающей функцией взаимодействует с АГ. При этом Ia-белки взаимодействуют по принципу взаимной комплементарности. Данная форма взаимодействия согласуется с представлениями о двойном распознавании. В основе варианта V лежит то же представление об организации АРР Т-клеток. Однако специфичность этих АРР направлена не на нативный АГ, а на комплекс с продуктом ГСГ. Вариант V соответствует гипотезе «измененного своего».

Значительное число показанных на рис. 100 вариантов гипотезы отражает лишь несовершенство наших знаний об истинном характере организации АРР Т-клеток и механизма распознавания антигена.

В последнее время выделен и охарактеризован антигенраспознающий рецептор Т-клеток. Это — гликопротеид, состоящий из 2 субъединиц α и β с относительной молекулярной массой 41 и 49, соответственно. Каждая субъединица содержит 2 домена; имеется высокая гомология с Ig (Reinherg E. L. с соавт., 1985).

Глава 7. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ИММУННОГО ОТВЕТА

Генетическая детерминация силы иммунного ответа установлена давно, первые работы по этой проблеме появились уже в начале нынешнего столетия. Однако только в 60-е годы начались планомерные исследования по выявлению конкретных генов иммунного ответа (I γ -генов) и определению механизма их действия. В настоящее время доказано, что сила иммунного ответа на антигены узкой специфичности контролируется одним аутосомным геном, наследуемым по доминантному типу (см. рис. 101 и табл. 17). Установлена сцепленность I γ -генов с главной системой гистосовместимости (см. рис. 102 и табл. 17) и определено место локализации I γ -генов в данном генетическом комплексе (см. рис. 103 и табл. 18).

В зависимости от специфической организации антигена и генетической характеристики главной системы гистосовместимости I γ -генный контроль может реализовываться через активность одного из клеточных типов, принимающих участие в развитии иммунного ответа: Т-клеток (см. рис. 104), В-клеток (см. рис. 105) или макрофагов (см. рис. 106). Особый интерес представляют данные по комплементации I γ -генов (см. рис. 107). Именно эти данные наиболее прямо демонстрируют природу фенотипического продукта I γ -генов и являются прекрасным примером конкретных молекулярных механизмов генетической комплементации.

Таблица 17. Отношения между Iг-генами и Iа-специфичностями у морских свинок линий 2 и 13, а также гибридов (2×13) F₁ и гибридов возвратного скрещивания [Benacerraf B., Germain R. N., 1978]

Антигены и специфичность	Линия		(2×13)F ₁	(2×13)F ₁ ×13		(2×13)F ₁ ×2	
	2	13		50%	50%	50%	50%
Антигены:							
DNP-PLL	+	—	+	+	—		
GL	+	—	+	+	—		
GA	+	—	+	+	—		
GT	—	+	+			+	—
BSA 0,1 mg	+	—	+	+	—		
DNP-BSA	+	—	+	+	—		
DNP-GPA	—	+	+			+	
Iа-специфичности:							
линии 2	+		+	+	—		
линии 13		+	+			+	—

Примечание. У гибридных морских свинок линии 2 и 13, отличающихся друг от друга только по I-области комплекса H-2, выявлена оппозитная реактивность на представленные в табл. 17 антигены. Характер наследования силы иммунного ответа у гибридов (2×13)F₁ и гибридов возвратного скрещивания свидетельствует о том, что генетический контроль иммунного ответа осуществляется одним аутосомным, доминантным геном (у морских свинок он получил название «PLL-ген»). Установлена сцепленность PLL-гена с генами, контролирующими специфичность Iа-антигенов. DNP — 2,4-динитрофенил; PLL — поли-L-лизин; GL — поли-L-глутаминовая кислота, поли-L-лизин; GA — поли-L-глутаминовая кислота, поли-L-аланин; GT — поли-L-глутаминовая кислота, поли-L-тирозин; BSA — бычий сывороточный альбумин; GPA — поли-L-глутаминовая кислота, поли-L-пролин, поли-L-аланин.

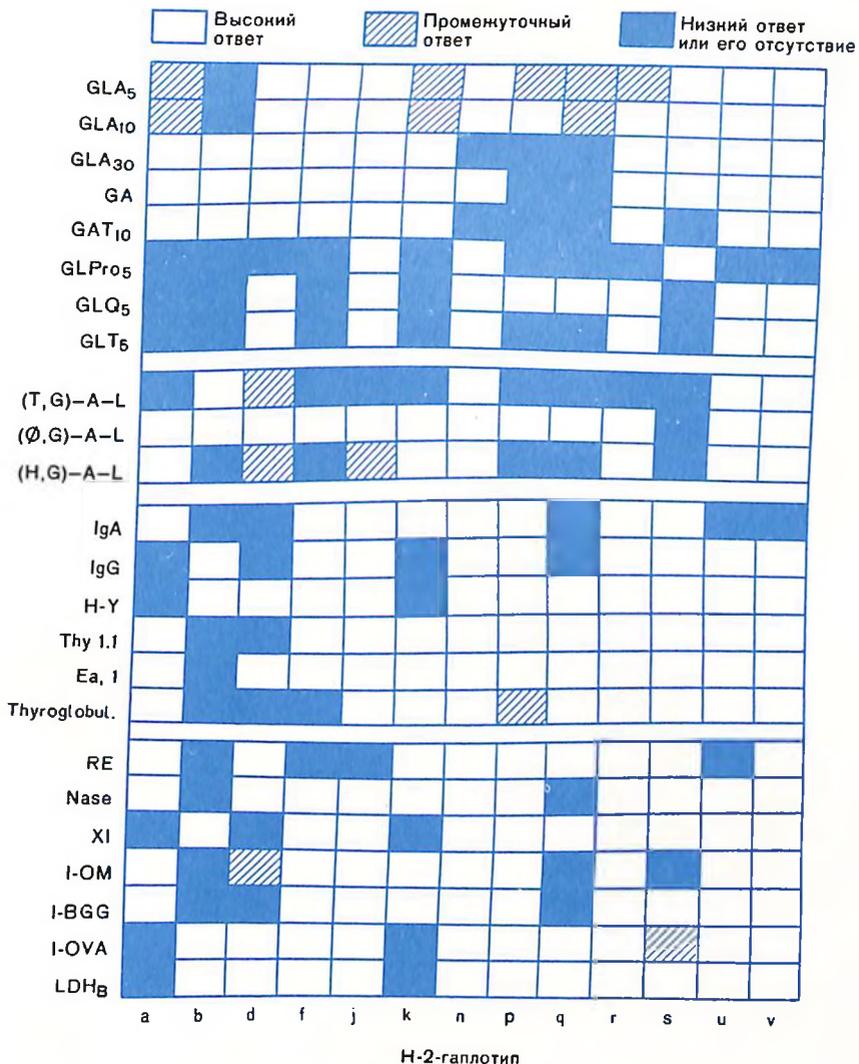


Рис. 102. Иммунный ответ мышей с разными H-2-гаплотипами на тимусзависимые антигены трех групп.

Выявление Ig-генов определило необходимость установить место локализации этих генов в геноме животных. В опытах с конгенными, отличающимися только по гаплотипу комплекса H-2 линиями мышей, обнаружена сцепленность Ig-генов с комплексом H-2. Установлена индивидуальная, свойственная только определенной линии мышей с тем или иным гаплотипом комплекса H-2 мозаичность иммунной реактивности к широкому набору антигенов узкой специфичности.

Синтетические полипептиды: GLA₅ — линейный сополимер глутаминовой кислоты, лизина и аланина, составляющего 5% от всех

аминокислотных остатков; GLA₁₀ — то же с 10% аланина; GLA₃₀ — то же с 30% аланина; GA — линейный полимер глутаминовой кислоты и аланина; GAT₁₀ — линейный сополимер глутаминовой кислоты, аланина и тирозина, составляющего 10% от всех аминокислотных остатков; GLP₅ — линейный сополимер глутаминовой кислоты, лизина и пролина, составляющего 5% от всех аминокислотных остатков; (T, G)-A-L — разветвленный, многоцепевой сополимер тирозина, глутаминовой кислоты, аланина и лизина; (∅, G)-A-L — то же, но тирозин заменен фенилаланином; (H, G)-A-L — то же, но тирозин заменен гистидином.

Аллантигены мышей: IgA, IgG — иммуноглобулины с аллотипом, отличным от аллотипа подопытных мышей; H-Y — половой антиген самцов; Thy1.1 — аллоантиген Т-клеток; Ea.1 — антиген эритроцитов диких мышей; Thyroglob. — тироглобулин с аллотипом, отличным от аллотипа подопытных мышей.

Инородные белковые антигены: RE — лектин; Nase — рибонуклеаза; XI — белок сыворотки крови; I-OM — овомуконд; I-BGG — бычий γ-глобулин; I-OVA — овальбумин; LDH_B — лактатдегидрогеназа.

	H-2-гаплотип		H-2-области			Ответ на (H, G)-A-L
	K	I	S	D		
a	pink	pink	pink	pink	pink	высокий
q	green	green	green	green	green	низкий
y ^l	green	pink	pink	pink	pink	высокий
<hr/>						
a	pink	pink	pink	pink	pink	высокий
b	blue	blue	blue	blue	blue	низкий
h ⁴	pink	pink	blue	blue	blue	высокий

Рис. 103. Принцип определения локализации I γ -генов в главном комплексе гистосовместимости.

Факт сцепления I γ -генов с главным комплексом гистосовместимости требовал установления конкретного места локализации этих генов. Линия мышей с гаплотипом H-2^a хорошо отвечает на антиген (АГ), в то время как конгенная линия мышей с гаплотипом H-2^q дает низкий ответ. Рекомбинант H-2^{y^l} между двумя этими линиями, который имеет только одну общую с H-2^q область K, развивает сильный анти-(H, G)-A-L-ответ. Из этого следует, что K-область не участвует в генетическом контроле иммунного ответа на данный антиген. Во втором случае H-2^a — сильный продуцент антител, H-2^b — слабый. Рекомбинант H-2^{h⁴} между H-2^a и H-2^b, гаплотип которого включает области K и A от H-2^a, а все остальные — от H-2^b, характеризуется сильной продукцией антител. Поскольку K-область не участвует в контроле сильного иммунного ответа, следует заключить, что I γ -гены для (H, G)-A-L локализованы в I-A-субобласти. Цвет — условное обозначение определенного гаплотипа конгенных линий мышей. Смешанный цвет гаплотипа рекомбинантных линий указывает, какие области исходных линий составили рекомбинантный гаплотип [по Klein J., 1978].

Т а б л и ц а 18. Локализация генов иммунного ответа (Iг-генов) в комплексе H-2 у мышей [Klein J., 1975]

Комплекс		H-2						
Концы		K			D			
Области	K	I					S	D
Субобласти		I-A	I-B	I-J	I-E	I-C		
Iг-гены		Iг-(T, G)-A-L		Iг-Nase		Iг-GLT		
		Iг-IgA		Iг-LDH _B				
		Iг-RE						
		Iг-OA						
		Iг-OM						
		Iг-BGG						

П р и м е ч а н и е. Обозначение антигенов то же, что и на рис. 102.

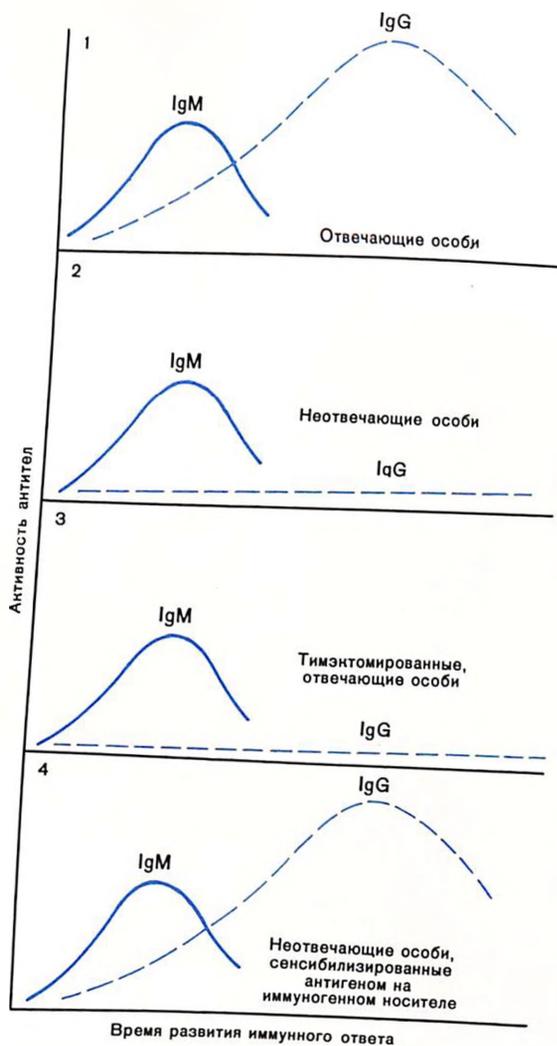


Рис. 104. Генетический контроль иммунного ответа на уровне Т-клеток.

1 — отвечающие на определенный антиген (АГ) линии мышей формируют как IgM-, так и IgG-ответ; 2 — не отвечающие на данный АГ линии мышей способны только к накоплению IgM-антител, IgG ответ не развивается; 3 — тимэктомированные, отвечающие линии мышей развивают только IgM-ответ, как и неотвечающие интактные животные; 4 — неотвечающие линии мышей способны к формированию полноценного ответа, если они сенсibilизируются АГ, конъюгированным с носителем, т. е. если создаются условия для включения в ответ Т-клеток [по Bier O. G. et al., 1981].

са H-2. В результате антигенной стимуляции на этапе распознавания происходят избыточный синтез и секреция антигенраспознающего Рц (антигенспецифического фактора), который взаимодействует с Ац В-клеток и выполняет, таким образом, функцию второго сигнала для данного типа клеток.

2. У низкоотвечающего генотипа Рц Т-клеток и Ац В-клеток не обладают свойством взаимной комплементарности. В этих условиях антигенспецифический фактор не в состоянии выполнить функцию второго сигнала для В-клеток. В результате иммунный ответ не развивается или развивается крайне слабо.

3. Антигенспецифический фактор Т-клеток низкоотвечающих генотипов способен сорбироваться на В-клетках высокоотвечающих генотипов, что и приводит к полноценному развитию иммунного ответа.

4. Антигенспецифический фактор Т-клеток мышей высокоотвечающих линий не в состоянии взаимодействовать с Ац В-клеток низкоотвечающих животных из-за отсутствия взаимной комплементарности между Рц и Ац. В этих условиях, так же как и в ситуации 2 (см. выше), второй сигнал для В-клеток отсутствует и иммунный ответ не развивается.

Таким образом, одним из типов клеток, в которых экспрессируется продукт I γ -гена (т. е. Ац), является В-лимфоцит. У высокоотвечающих линий структура Ац такова, что она обеспечивает комплементарное взаимодействие с антигенспецифическим фактором (Рц) Т-клеток. У низкоотвечающих животных эта комплементарность нарушена. Схема построена только на основании данных о разных возможностях организма мышей различных линий отвечать на (T, G)-A-L-антиген, о наличии антигенспецифического, имеющего Ia-специфичность фактора Т-клеток, а также на данных о разных потенциях к сорбции антигенспецифического фактора на В-клетках высоко- и низкоотвечающих линий мышей. Как молекулярная природа Ац, так и действительное наличие гена для этого Ац не доказаны (по данным E. Mozes, 1974; A. J. Munro и M. T. Taussig, 1975).

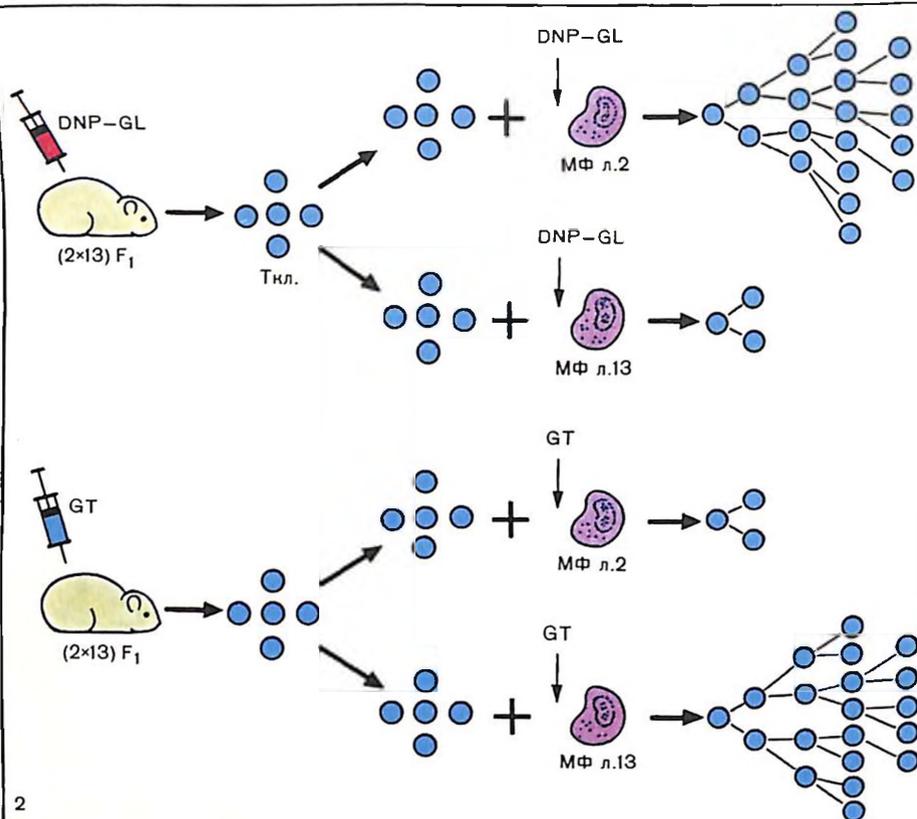
Ответ на антигены: DNP-GL GT

Линия 2

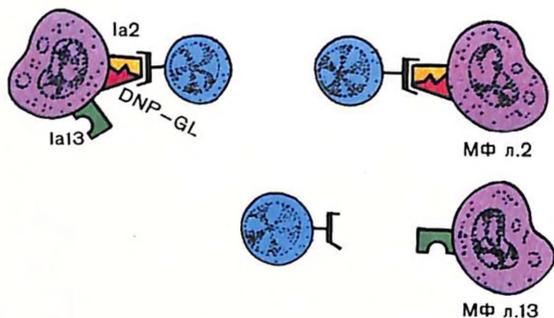
Линия 2	-	-
Линия 13	+	+

Линия 13

1



2



3

Рис. 106. Генетический контроль иммунного ответа на уровне макрофагов (представления антигена в иммуногенной форме Т-клеткам).

1. Морские свинки линий 2 и 13 отличаются друг от друга только по I-области главной системы гистосовместимости. Особи линии 2 хорошо отвечают на антиген (АГ) DNP-GL (конъюгат динитрофенил — полиглутаминовая кислота, полилизин); линия 13 ареактивна к этому АГ. Напротив, особи линии 2 не отвечают на АГ GT (полиглутаминовая кислота, полилизин), линия 13 развивает высокий иммунный ответ.
2. Гибриды $(2 \times 13)F_1$ развивают полноценный ответ на каждый из этих АГ, так как наследование силы иммунного ответа доминантно. Тип клеток, на которых возможна экспрессия Ig-генов, определяли в системе взаимодействия макрофагов (МФ) родителей с Т-клетками гибридов $(2 \times 13)F_1$, сенсибилизированных соответствующим АГ. Результат взаимодействия оценивали по интенсивности пролиферации Т-клеток (включению $^3[H]$ -тимидина). Если бы генетический контроль осуществлялся на уровне Т-клеток, то наблюдали бы реакцию пролиферации этих клеток независимо от того, от какой линии морских свинок взяты МФ, представляющие АГ. Однако ответ Т-клеток регистрировали только в случае ассоциации АГ с МФ от особей высокореактивной линии (МФ л. 2 — АГ DNP-GL или МФ л. 13 — АГ GT). В условиях, когда АГ для Т-клеток был представлен МФ от особой ареактивной линии, пролиферация не наблюдалась (МФ л. 13 — АГ DNP-GL или МФ л. 2 — АГ GT).
3. Возможный механизм генетического контроля ответа на данные АГ у морских свинок включает следующие моменты. Ia-продукт, контролируемый I-областью особей высокореактивной линии, представляет АГ в иммуногенной форме на поверхности МФ, образуя с антигеном комплементарную связь. Т-клетки способны распознавать только комплекс АГ с Ia-специфичностью. В тех случаях, когда Ia-белок не образует комплекс с АГ (Ia л. 13 — АГ DNP-GL), Т-клетки не вступают в процесс антигенного распознавания и иммунный ответ не развивается. Представленные данные указывают на то, что фенотипическим продуктом Ig-генов, вероятно, являются Ia-белки, контролируемые I-областью и имеющие Ia-специфичность. Возможность образования комплекса АГ с Ia-специфичностью установлена в опытах P. Erb и M. Feldman (1976) (по данным E. M. Shevach, 1976).

Линия	I-область					Ответ на GL \emptyset
	A $_{\alpha}$	A $_{\beta}$	E $_{\beta}$	J	E $_{\alpha}$	
B10	b	b	b	b	0	-
B10.A	k	k	k	k	7	-
(B10 \times B10.A) F $_1$	b/k	b/k	b/k	b/k	0/7	+

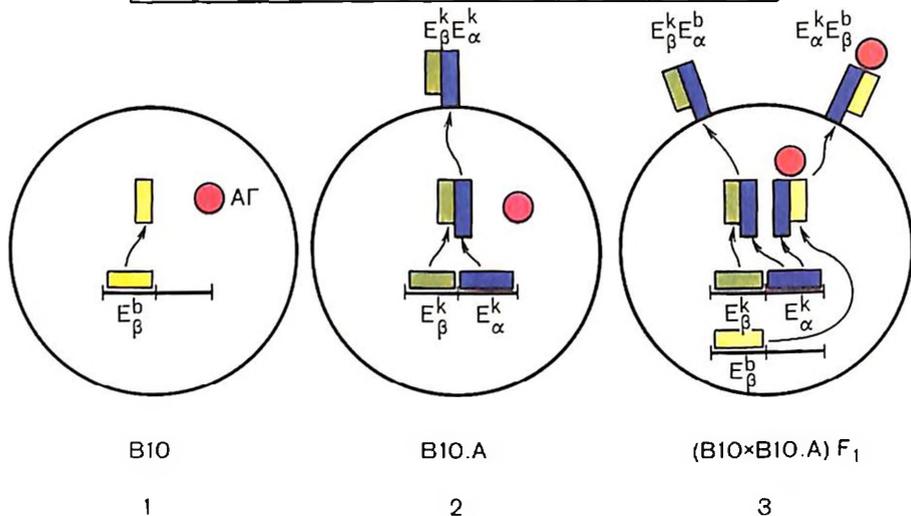


Рис. 107. Комплементация I γ -генов.

Подтверждением экспрессии I γ -генов в макрофагах (МФ) и предположения о том, что фенотипическим продуктом этих генов являются Ia-белки (A $_{\beta}$ A $_{\alpha}$ и E $_{\beta}$ E $_{\alpha}$), служат данные о молекулярном механизме комплементации генов при иммунном ответе и GL \emptyset (полиглутаминовая кислота, полилизин, полифенилаланин). В экспериментах на мышах рекомбинантных линий установлено, что ответ на GL \emptyset контролируется двумя генами. В качестве примера приведем данные, полученные в опытах на двух конгенных линиях мышей B10(H-2 b) и B10.A(H-2 k) и их гибридах (B10 \times B10.A)F $_1$. Особи этих линий реагируют к GL \emptyset . В то же время гибриды F $_1$ развивают сильный иммунный ответ. Генетический контроль реализуется в этой системе на уровне активности МФ, т. е. на уровне представления антигена (АГ) в иммуногенной форме в комплексе с E $_{\beta}$ E $_{\alpha}$ -белком, синтез которого контролируется соответствующими локусами I-области основной системы гистосовместимости. Для E $_{\alpha}$ -цепи имеется только два аллельных варианта: аллель (+), определяющий синтез соответствующей цепи, и аллель (-), не способный контролировать синтез данной цепи. Продукт аллеля (+) представлен только одной серологической специфичностью Ia. 7. E $_{\beta}$ -цепь представ-

лена несколькими аллельными вариантами. Нулевой аллель для этого полипептида отсутствует. Совместная «работа» локусов E_β и E_α приводит к формированию соответствующего $E_\beta E_\alpha$ -белка, который экспрессируется на клеточной поверхности. Расшифровка механизма экспрессии единого $E_\beta E_\alpha$ -белка делает понятным молекулярный механизм комплементации генов для $GL\emptyset$.

1. Неотвечающая линия ($H-2^b$) не экспрессирует $E_\beta E_\alpha$, так как имеет нулевой аллель E_α , хотя продукт локуса E_β представлен в цитоплазме. 2. Линия B10.A ($H-2^k$) обладает аллелем E_α , и на макрофаге $E_\beta E_\alpha$ -белок представлен. Однако линия ареактивна из-за того, что $E_\beta^k E_\alpha^k$ -белок не может обеспечить иммуногенность $GL\emptyset$ -антигена, т. е. образовать комплекс с этим антигеном на поверхности макрофага. 3. Макрофаги гибрида ($B10 \times B10.A$) F_1 имеют на поверхностной мембране два E-белка: $E_\beta^k E_\alpha^k$, контролируемый гаплотипом от родительской линии B10.A, и «гибридный» белок $E_\beta^k E_\alpha^b$, формирующийся за счет «работы» локуса E_β^k гаплотипа мышей B10.A и локуса E_α^b от второго родителя B10. Таким образом, недостаток продукта нулевого локуса E_α^b компенсируется продуктом работающего аллельного локуса E_α^k от партнера по скрещиванию. «Гибридный» белок $E_\beta^k E_\alpha^b$ может представить $GL\emptyset$ -антиген в иммуногенной форме и обеспечить, таким образом, развитие полноценного ответа. Собственно, сам факт генной комплементации состоит в совместной работе двух генов от реактивных животных — локуса E_β^b и локуса E_α^k (по данным Р. Р. Jones и соавт., 1979; D. B. Murphy и соавт., 1980).

Глава 8. ЭМБРИОГЕНЕЗ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ

Около 20 лет назад считалось, что эмбрион иммунологически некомпетентен. Разработка современных методов исследования и расширение числа видов экспериментальных животных изменили эту точку зрения. Первым лимфоидным образованием в эмбриогенезе является вилочковая железа. К моменту рождения ее формирование как функционально полноценного органа иммунитета завершается (см. рис. 108). Наибольшая активность этого органа как источника периферических Т-клеток наблюдается в первый период постнатального развития. С возрастом происходит инволюция вилочковой железы, сопровождающаяся характерными морфологическими изменениями: уменьшение абсолютной массы, истощение коркового слоя, замена паренхиматозных клеток органа на жировую ткань (см. рис. 109). Раннее становление иммунологической компетенции эмбрионов демонстрируют опыты с зародышами овец (см. рис. 110), а также данные о формировании Т- и В-систем иммунитета в эмбриогенезе человека (см. рис. 111).

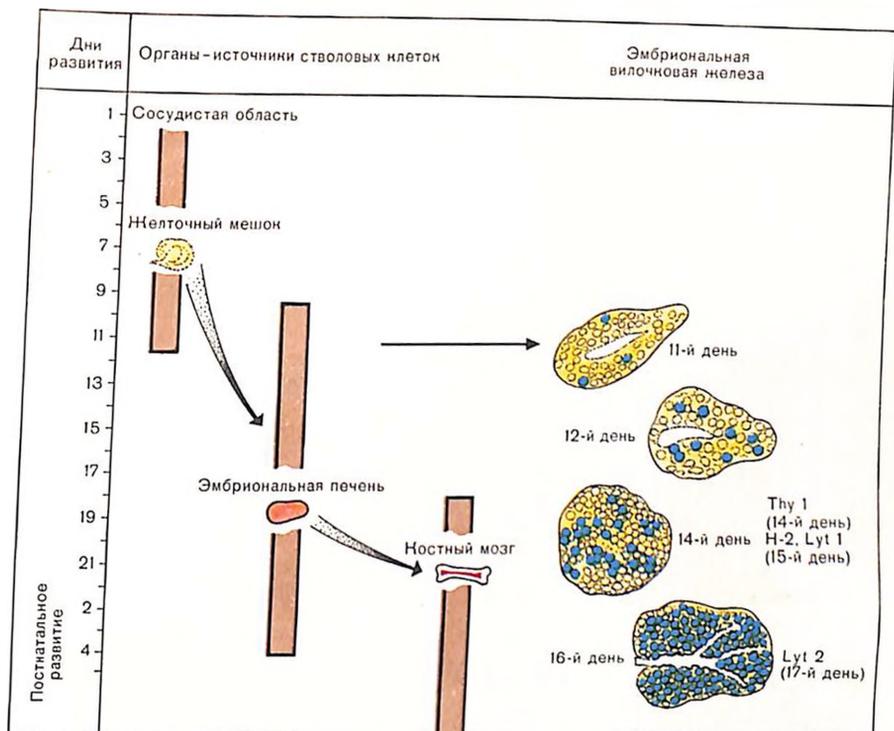


Рис. 108. Эмбриональное развитие вилочковой железы у мышей.
 Вилочковая железа — наиболее ранний лимфоидный орган, возникающий в процессе зародышевого развития у млекопитающих и птиц. У мышей он формируется из эндодермы III и IV глоточных карманов и до 10-го дня представляет собой незначительную плотную массу эпителиальных клеток. К 11-му дню в зачатке органа обнаруживаются первые крупные лимфоидные клетки с выраженной базофилией цитоплазмы. Они мигрируют сюда из желточного мешка, а позднее — из эмбриональной печени. Источником предшественников тимоцитов в постнатальный период являются клетки костного мозга. По мере эмбрионального развития в вилочковой железе наблюдается прогрессивное увеличение количества лимфоцитов за счет как продолжающейся их миграции из эмбриональной печени, так и активной пролиферации клеток *in situ*. К моменту рождения орган представляет собой полностью сформированную железу. Столбики указывают на продолжительность времени функционирования органа как источника стволовых кроветворных клеток и предшественников тимоцитов.

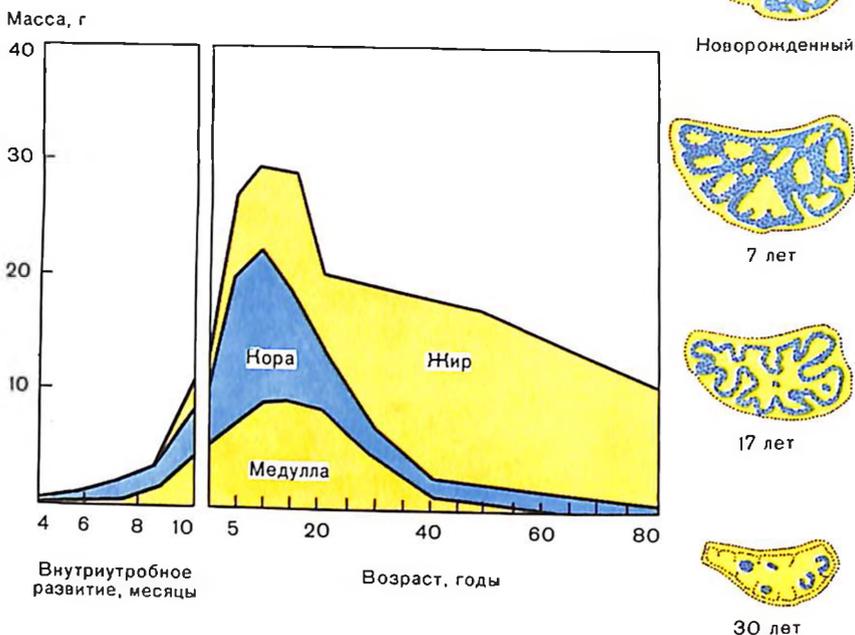


Рис. 109. Инволюция вилочковой железы с возрастом у человека. С возрастом как абсолютная масса органа, так и его клеточный состав меняются. У новорожденных отношение коркового слоя к медуллярному смещено в сторону коры. В этот период вилочковая железа находится в наиболее активной фазе как источник периферических Т-клеток. К 15—20 годам относительные размеры коры снижаются, а медуллярной зоны — увеличиваются. После 15—17 лет масса органа резко уменьшается и снижается количество лимфоцитов как в коре, так и в медуллярной зоне. Паренхима замещается жировой тканью. Характерно, что в возрастной инволюции вилочковой железы никогда не наступает момент полного отсутствия лимфоцитов, даже в старости.

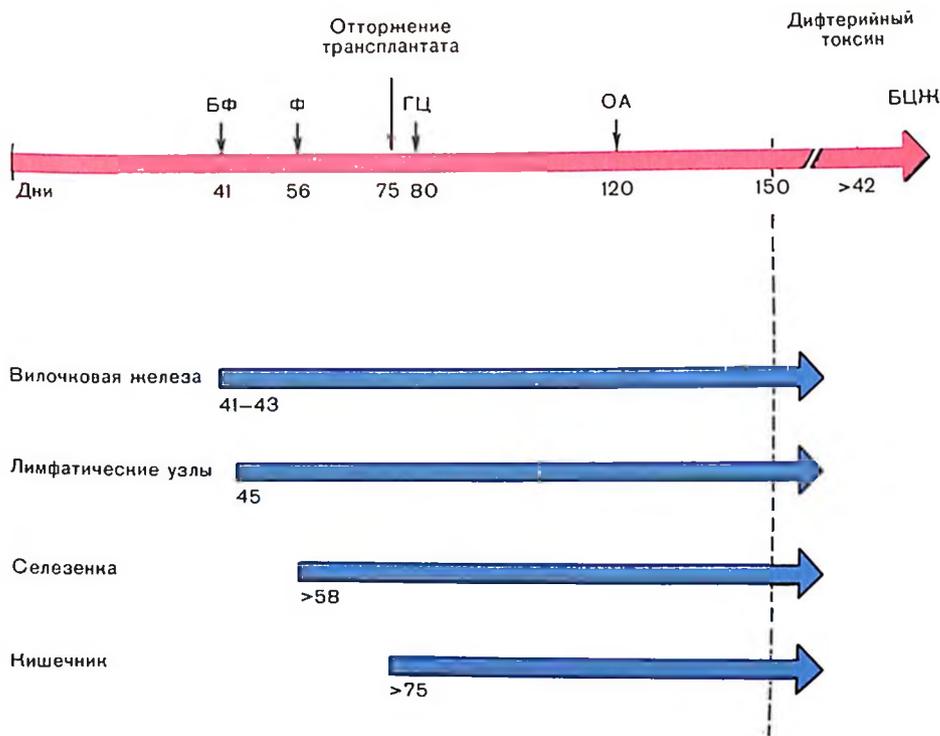


Рис. 110. Формирование гуморального иммунного ответа и развитие лимфоидной системы в эмбриогенезе овец.

У овец способность отвечать на антигенный стимул возникает в эмбриогенезе достаточно рано. Уже на 41-й день внутриутробного развития (при общей продолжительности беременности 150 дней) плод отвечает на бактериофаг $\text{OX} = 174$ (БФ). В дальнейшем способность к гуморальному ответу увеличивается и характеризуется определенной этапностью событий: на 56-й день плод отвечает на ферритин (Ф), через 80 дней — на гемоцианин (ГЦ), через 120 дней — на овальбумин (ОА). Параллельно идет формирование лимфоидной ткани. Первые лимфоциты в вилочковой железе появляются на 41–43-й, в лимфатических узлах — на 45-й день, в селезенке — после 58-го и в лимфоидной ткани кишечника — после 75-го дня развития. У 75-дневного эмбриона наблюдается способность к развитию комплексной клеточной реакции при отторжении аллогенного трансплантата [Silverstein A. M., Prendergast R. A., 1971].

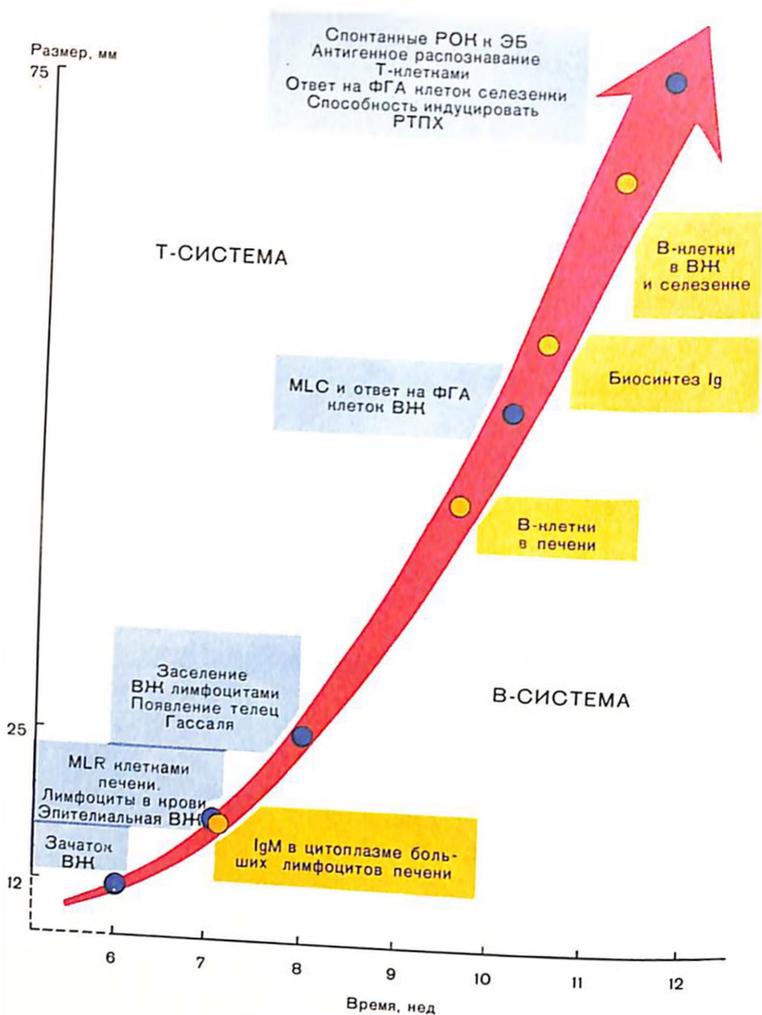


Рис. 111. Этапы становления Т- и В-систем иммунитета у эмбрионов человека в зависимости от сроков развития и величины плода. Уже на самых ранних этапах развития (6 нед), когда размер зачаточковой железы не превышает 12 мм, наблюдается закладка виллимфоцитов и представляет собой лишь ретикулоэпителиальную структуру. Большие лимфоциты в органе появляются позднее — через 8 нед внутриутробного развития. У 7-недельного эмбриона имеются лимфоциты в печени, которые способны к реакции в MLC, а в цитоплазме лимфобластов обнаруживается IgM. В дальнейшем идет постепенное функциональное совершенствование Т- и В-систем иммунитета.

В современной иммунологии большой интерес вызывают проблемы эволюционного становления иммунных механизмов защиты. Подобный интерес не случаен. Ясно, что сравнительно-исторический подход к явлениям иммунитета позволит более объективно оценить эффекторные функции различных систем специфической защиты и уточнить их дифференциальное участие в реакциях организма на чужеродный материал. Особое внимание исследователей сконцентрировано на изучении происхождения процесса антигенного распознавания. Изучение данного явления только у млекопитающих не в состоянии дать полный ответ в силу сложности и функционального разнообразия тех клеточных систем, которые вступают в реакцию на антиген у высших позвоночных. И, наконец, анализ эволюционного становления специфического иммунитета имеет еще один аспект, который пока не привлек должного внимания. Он касается оценки роли иммунологического надзора как фактора, обеспечившего прогрессивное эволюционное развитие животных по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток [Галактионов В. Г., 1972, 1982].

В настоящее время проведены достаточно обширные исследования иммунной защиты у представителей самых различных типов животных [Hildemann W. H., 1974; Cooper E. L., 1976] (см. рис. 112). При анализе становления различных форм иммунитета в филогенезе изучались такие его проявления, как фагоцитоз, аллогенная ингибция, клеточный и гуморальный тип защиты (см. рис. 121). Фагоцитоз — поглощение и уничтожение чужеродного материала — неспецифическая реакция иммунитета, она свойственна абсолютно всем типам животных. Аллогенная ингибция (неспецифическая реакция распознавания чужеродности) характерна для всех многоклеточных (см. рис. 113). У некоторых видов губок и кишечнополостных начинает проявляться новая форма защиты — специфический клеточный иммунитет, осуществляемый иммунокомпетентными клетками. Данная форма защиты прогрессивно развивалась в филогенетическом ряду (см. рис. 114, 115). Тип позвоночных характеризуется наличием гуморального иммунитета — способности синтезировать специфические к определенному антигену иммуноглобулины. На основании данных о структурной организации иммуноглобулинов мож-

но предположить, что гены для легких (L) и тяжелых (H) цепей возникли в результате тандемной дупликации исходного гена-предшественника (см. рис. 116).

Наиболее нерешенной является проблема возникновения первичного гена для иммуноглобулинов, т. е. определения того филогенетического уровня, на котором функция этого гена начала проявляться. Нами выдвинуто предположение о возникновении данного гена на уровне одноклеточных [Галактионов В. Г., 1980, 1982] (см. рис. 117 и табл. 19). Вопрос об эволюционном происхождении различных субпопуляций Т- и В-систем у млекопитающих кажется достаточно ясным, поскольку в филогенетическом ряду прослеживается единая линия гистогенетических превращений (см. рис. 118). Суммарные данные об эволюции клеток и органов лимфо-миелоидного комплекса и об эволюции иммунитета позволяют установить связь между совершенствованием системы иммунитета и филогенетическим уровнем, на котором появляются иммунокомпетентные клетки и органы (см. рис. 119).

Исходя из представлений, что одно из определяющих назначений иммунитета — это борьба с мутационными изменениями клеток тела [Burnet M. F., 1971], можно думать, что иммунитет играл свою стабилизирующую роль не только в процессе индивидуального развития, но и в процессе исторического преобразования форм. Мутационное поражение клеток тела свойственно всем животным независимо от уровня их организации. При этом мутационный риск есть производное количества соматических клеток, которыми обладает данное животное (см. рис. 120). Из этого следует, что прогрессивная эволюция по линии увеличения количества соматических клеток была бы невозможна без эволюционного прогресса системы контроля за мутационными поражениями клеток. Функцию контроля взяла на себя иммунная система. Сопоставление данных по уровню организации в мире животных с данными об эволюционном становлении различных форм иммунитета позволяет прийти к подобному выводу (см. рис. 121).

Все многообразие мира животных распадается на два подцарства: одноклеточных и многоклеточных. Одноклеточные (тип простейшие) возникли, очевидно, на грани двух геологических эр — катархея и архея (около 3 млрд. лет назад). В подцарстве многоклеточных одним из наиболее древних и низкоорганизованных типов являются губки. Тело губок включает слабодифференцированные клеточные скопления. Губки относятся к первичным многоклеточным, так как клеточные скопления этого типа не образуют тканей. Линия развития настоящих многоклеточных начинается с типа кишечнополостных (кораллы, медузы, гидры). Возникновение настоящих многоклеточных относят к концу архейской эры (2 млрд. лет назад). Именно с уровня кишечнополостных сходно дифференцированные клетки объединяются в ткани. У данного типа их две: экто- и эндодермальный слой. Более высокоорганизованные типы характеризуются тканями и органами, формирующимися из трех зародышевых листков: экто-, мезо- и эндодермы. Все трехслойные многоклеточные делятся на более примитивных животных, у которых отсутствует полость тела (тип плоские черви, немертны, круглые черви и др.), и высокоорганизованных — с полостью тела. Последние образуют две самостоятельные филогенетические ветви — первично- и вторичноротых животных. Отличительным признаком первичноротых является то, что в процессе зародышевого развития ротовое отверстие формируется на месте первичного рта (бластопора), анальное же отверстие располагается на конце тела как самостоятельное образование. У вторичноротых ротовое отверстие формируется независимо от бластопора. Бластопор, как правило, преобразуется в анус. Возникновение первичноротых относят к протерозою (1900 — 570 млн. лет назад). Для кембрия (570 — 490 млн. лет назад), наиболее раннего периода палеозоя, характерно наличие предков всех современных типов. Исключение составляют хордовые, которые появляются несколько позднее — в начале ордовика (490 — 400 млн. лет назад).

Сопоставление данных об иммунных реакциях у современных видов животных с геологической летописью ископаемых позволяет высказать предположения о времени возникновения тех или иных форм иммунитета. На рис. 112 представлены филогенетические отношения в мире животных с указанием тех типов, у представителей которых анализировались те или иные формы иммунитета. Изучавшиеся типы отмечены красными кружками.

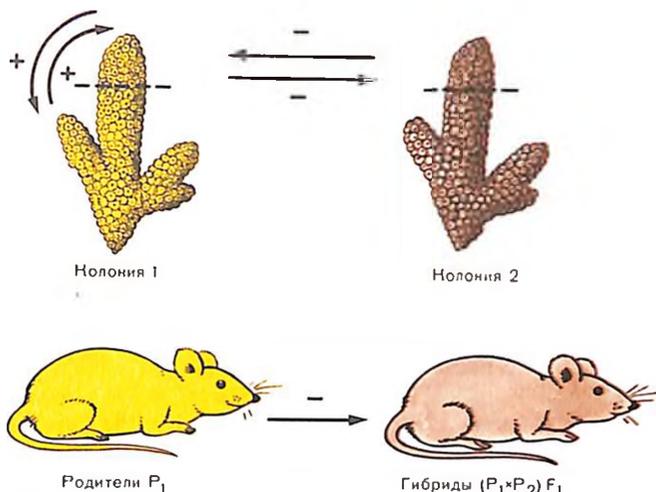


Рис. 113. Неиммунное распознавание чужеродности у колониальных форм кишечнополостных.

С появлением многоклеточных (около 2 млрд. лет назад) возникает определенная форма реакции на чужеродность — неиммунное распознавание чужеродности, действующее по принципу аллогенной ингибиции. Смысл такой формы защиты — уничтожение мутационно измененных соматических клеток, неизбежно возникающих у многоклеточных животных. Неиммунное тканевое отторжение описано у пресноводной губки *Ephydatia fluviatilis* и у морских губок *Axinella mexicana* и *Syamon argon*, а также некоторых видов кишечнополостных, относящихся к классам Anthozoa (коралловые полипы) и Hydrozoa (гидронды). На рис. 113 показана схема опытов, позволивших выявить несовместимость между двумя колониями кораллов *Acropora* sp. Пересадка между отдельными ветвями внутри колонии (аутотрансплантация) приводит к полному срастанию трансплантатов. В то же время пересадка между различными колониями, отличающимися генетически (аллотрансплантация), не обеспечивает слияние мягких тканей и объединение трансплантата с колонией хозяина в единый организм. Иммунологическая память или какие-либо иные проявления специфической иммунной реакции не выявлены. Данный случай аналогичен аллогенной ингибиции, описанной для млекопитающих (мыши). Феномен аллогенной ингибиции обнаружен при пересадке клеток или тканей (костный мозг, предшественники антителопродуцентов, кожный лоскут, лимфоидные и нелимфоидные раковые клетки) гомозиготных родителей в гибрид первого поколения по схеме: $P_1 \rightarrow (P_1 \times P_2) F_1$. Комбинация родитель — гибрид как донор — реципиент обуславливает невозможность развития иммунологического конфликта, поскольку антигены родителей полностью представлены у гибрида. Очевидно, реакция неиммунного распознавания, действующая по типу аллогенной ингибиции, обусловлена структурными генетически детерминированными различиями клеточных поверхностей и происходит у всех многоклеточных.

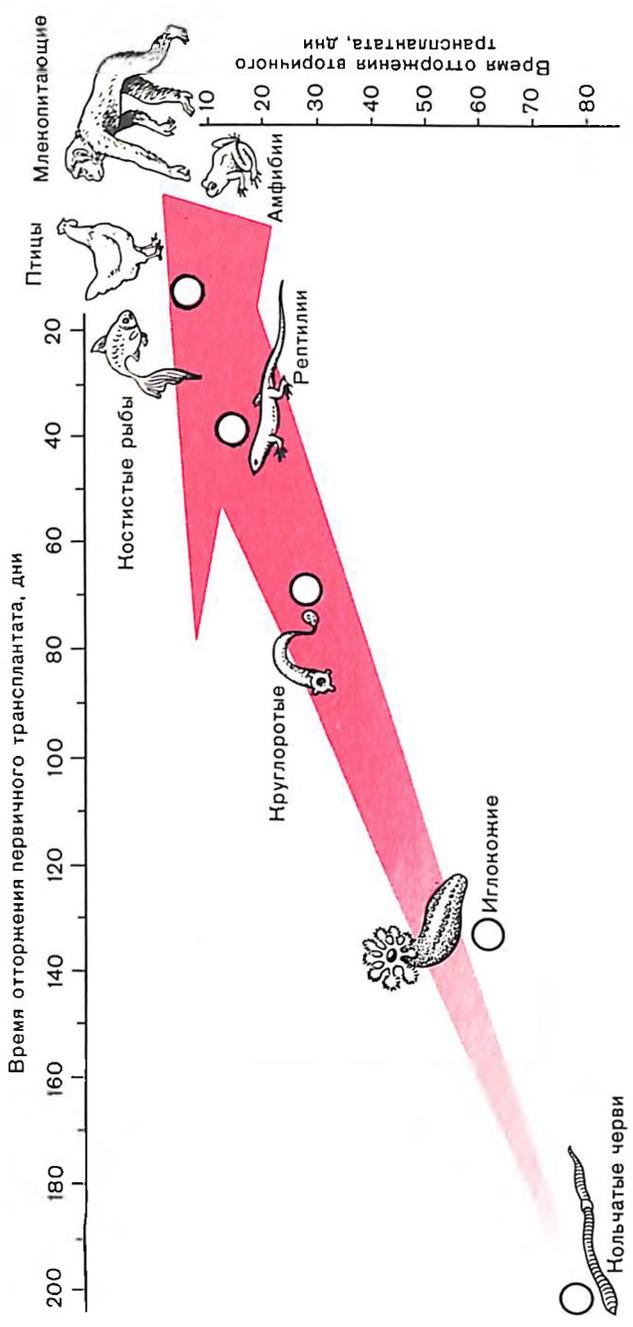


Рис. 114. Усиление во времени трансплантационного отторжения у различных типов животных.

Возникновение специфического трансплантационного иммунитета — следующий за фагоцитозом и аллогенной ингибицией этап в эволюции иммунных форм защиты. Первые признаки аллотрансплантационной реакции с появлением иммунологической памяти наблюдаются у некоторых видов губок (*Callispongia diffusa*) и кишечнополостных (*Montipora verrucosa*). У представителей ветви первичноротых реакции трансплантационного иммунитета с формированием иммунологической памяти описаны для немуртин и кольчатых червей. В ветви вторичноротых реакция трансплантационной аллонесовместимости выявлена у иглокожих, оболочников, позвоночных (классы: круглоротые, костные и хрящевые рыбы, амфибии, рептилии, млекопитающие). Из рис. 114 видно, что по мере филогенетического совершенствования усиливается реакция отторжения как первичного, так и вторичного трансплантата. Однако подобная связь не абсолютна и отражает лишь общую тенденцию в совершенствовании аллотрансплантационных реакций. Так, представители класса рептилий менее реактивны к аллонесовместимой ткани по сравнению с филогенетически менее организованными животными (рыбы, амфибии). Более подробно эффективность аллотрансплантационных реакций у различных групп позвоночных животных отражена на рис. 115.

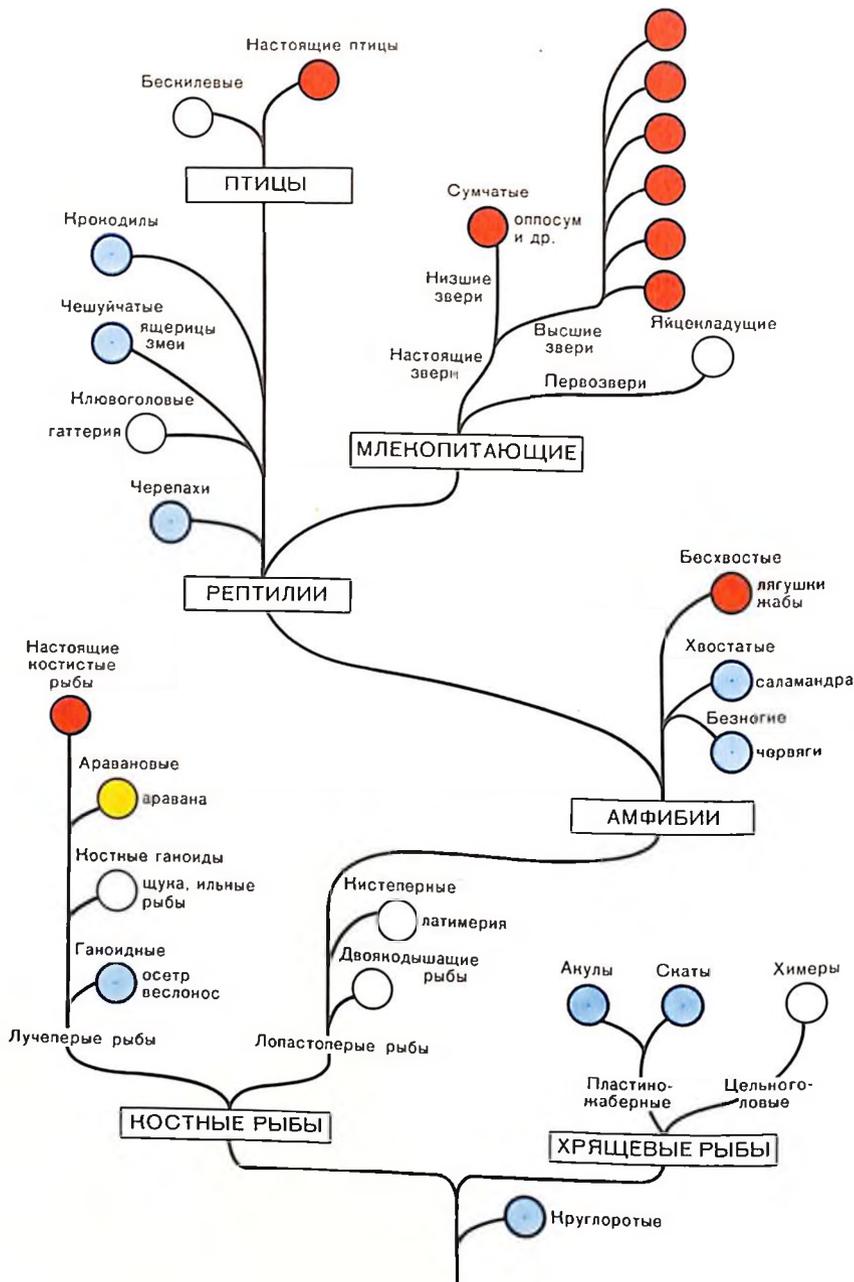


Рис. 115. Интенсивность отторжения первичного аллотранспланта у представителей различных классов позвоночных.

Наиболее полная информация о выраженности аллотрансплантационной реактивности получена у позвоночных животных. У всех

изученных видов птиц и млекопитающих трансплантат отторгается в острой форме со средним временем выживания около 14 дней (красные кружки). В классе рептилий первичная реакция трансплантационного отторжения развивается слабо, по хроническому типу; среднее время выживания трансплантата — более 30 дней (синие кружки). Среди амфибий острой формой отторжения характеризуется наиболее развитая эволюционная группа бесхвостых амфибий. Хвостатые и безногие амфибии отторгают трансплантат в хронической форме. В классе костных рыб острой формой отторжения характеризуется группа настоящих костистых рыб, за исключением аравановых, которые отторгают трансплантат в подострой форме со средним временем выживания около 20 дней. Хрящевые рыбы и круглоротые отторгают трансплантат по хроническому типу. Незакрашенные кружки — отсутствие данных для соответствующих таксонов [по Cooper E. L., 1976].

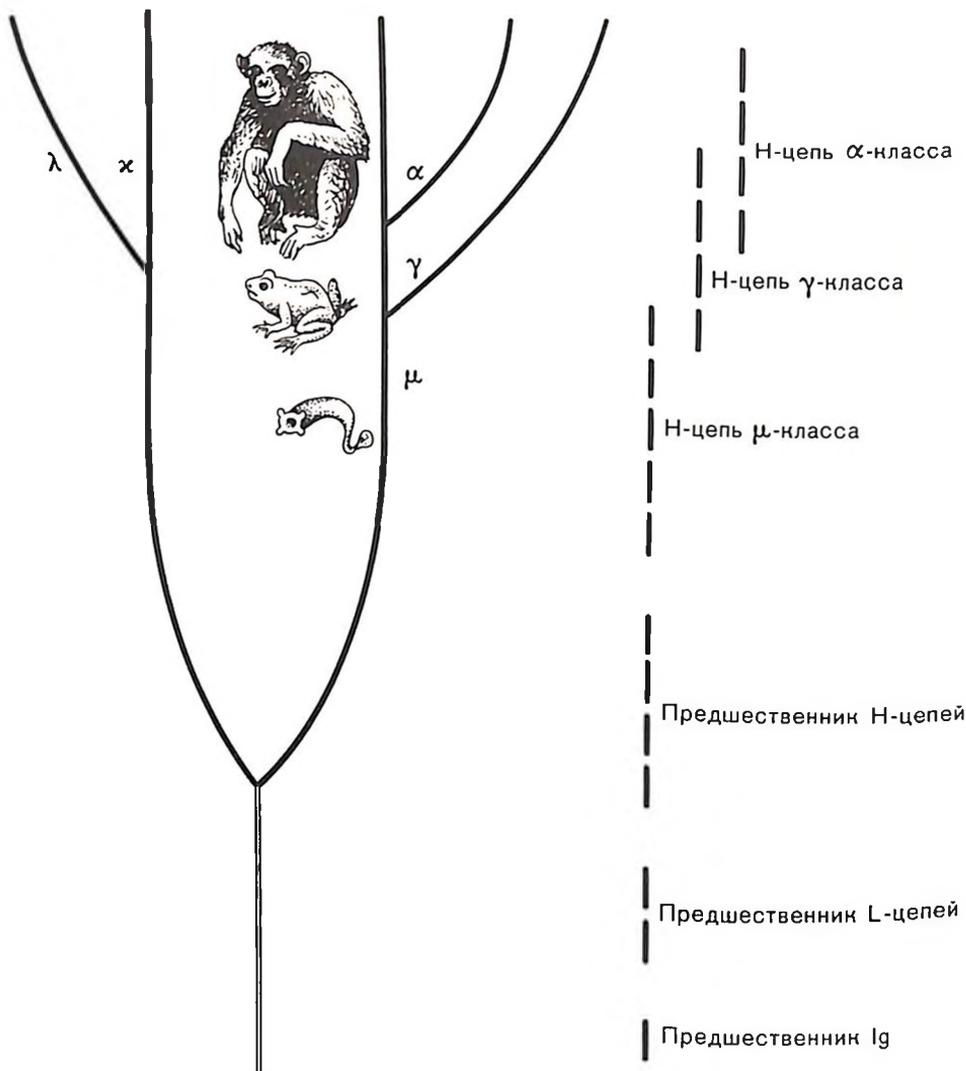


Рис. 116. Эволюция иммуноглобулинов.

Способность к синтезу иммуноглобулинов (Ig) — высшее достижение эволюционного развития иммунитета. Свойством синтезировать Ig в ответ на антиген обладают только позвоночные животные, начиная с круглоротых. Представители типа круглоротых, хрящевых и костных рыб синтезируют лишь один класс иммуноглобулинов — IgM. Амфибии способны к синтезу двух классов — IgM и IgG, млекопитающие производят новые классы — IgA, IgD и IgE. Исходя из известных данных о структурной организации легких (L) и тяжелых (H) цепей Ig, объединяющих в единой молекуле гомологичные участки (домены), было высказано

зано предположение, что гены, контролирующие H- и L-цепи, произошли в результате тандемной дупликации исходного гена-предшественника. Этот ген контролировал полипептид с молекулярной массой 10 000—12 000. Возможно, он сохранился у современных форм и контролирует синтез β_2 -микроглобулина млекопитающих (человек, мыши). Тандемная дупликация гена-предшественника сначала привела к формированию локуса для L-цепей, а затем для предковых H-цепей. В результате дальнейшей самостоятельной эволюции возникла способность к синтезу как различных классов H-цепей, так и χ -, λ -типов L-цепей. Некоторые исследователи постулируют общность предкового гена как для антигенов гистосовместимости, так и для иммуноглобулинов. Пока остается нерешенным вопрос о том филогенетическом уровне, с которого началась эволюция Ig.

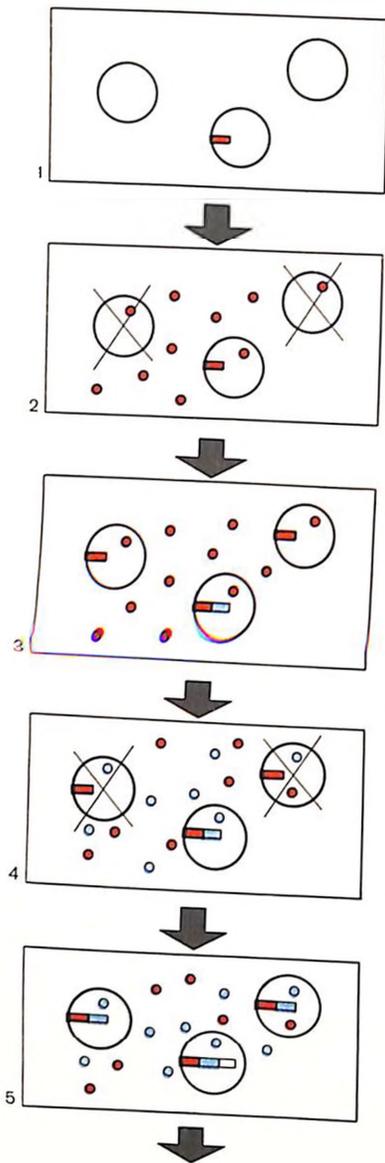


Рис. 117. Возникновение иммуноглобулиновых генов (Ig-генов).

Вопрос об эволюционном происхождении иммуноглобулинов, распознающих и нейтрализующих чужеродный материал, — один из самых сложных и нерешенных вопросов современной иммунологии. Предложены две гипотезы, пытающиеся объяснить эволюционное развитие Ig-генов. Первая строится на представлении о том, что Ig-гены произошли от генов основной системы гистосовместимости [Klein J., 1975; Hildemann W. H., 1977]. В основе второй гипотезы лежит представление о том, что Ig-система и основная система гистосовместимости эволюционировали самостоятельно и независимо друг от друга [Галактионов В. Г., 1980, 1982; Marchalonis J. J., 1975]: Ig-система — для распознавания чужеродности, основная система гистосовместимости — для физиологически нормального межклеточного взаимодействия (см. табл. 19). Самостоятельное эволюционное развитие Ig-генов ставит вопрос о том, с какого филогенетического уровня возникла необходимость в данных генах и что послужило причиной их эволюционного развития. Нами выдвинуто предположение, по которому ген-предшественник возник на уровне одноклеточных животных организмов в те геологические времена, когда зародились первые кле-

точные формы жизни (около 3 млрд. лет назад). Функция такого гена состояла в контроле синтеза полипептида, нейтрализующего токсические вещества внешней среды, которые могли проникать в клетку в качестве питания. В суммарном виде это предположение отображено на рис. 117. Схема иллюстрирует отбор архаичных клеток, имеющих преадаптацию к токсическому веществу внешней среды в виде гена, контролирующего синтез белка X.

1. Популяция клеток (отдельные кружки) находится в состоянии равновесия с внешней средой. Отдельные клетки имеют пре-

адаптацию в виде гена (красный штрих) для белка X. 2. Положительное значение такой преадаптации проявляется при появлении во внешней среде токсина (красные точки), который нейтрализуется продуктом преадаптированного гена. Преадаптированные клетки погибают. 3. Популяция клеток вновь переходит в состояние стабильности, но на качественно ином уровне: все особи популяции имеют ген для белка, нейтрализующего токсическое соединение. При этом часть клеток имеет преадаптацию на случай появления нового токсического вещества в среде обитания клеток. Эта генная преадаптация создается за счет дубликации исходного гена для белка X (синий штрих). 4. В условиях новой «агрессии» со стороны неизвестного ранее токсического вещества (синие точки) выживут только те клетки, которые имеют соответствующую генную преадаптацию. 5. И вновь устанавливается стабильность в популяции клеток, способных нейтрализовать два токсических вещества внешней среды.

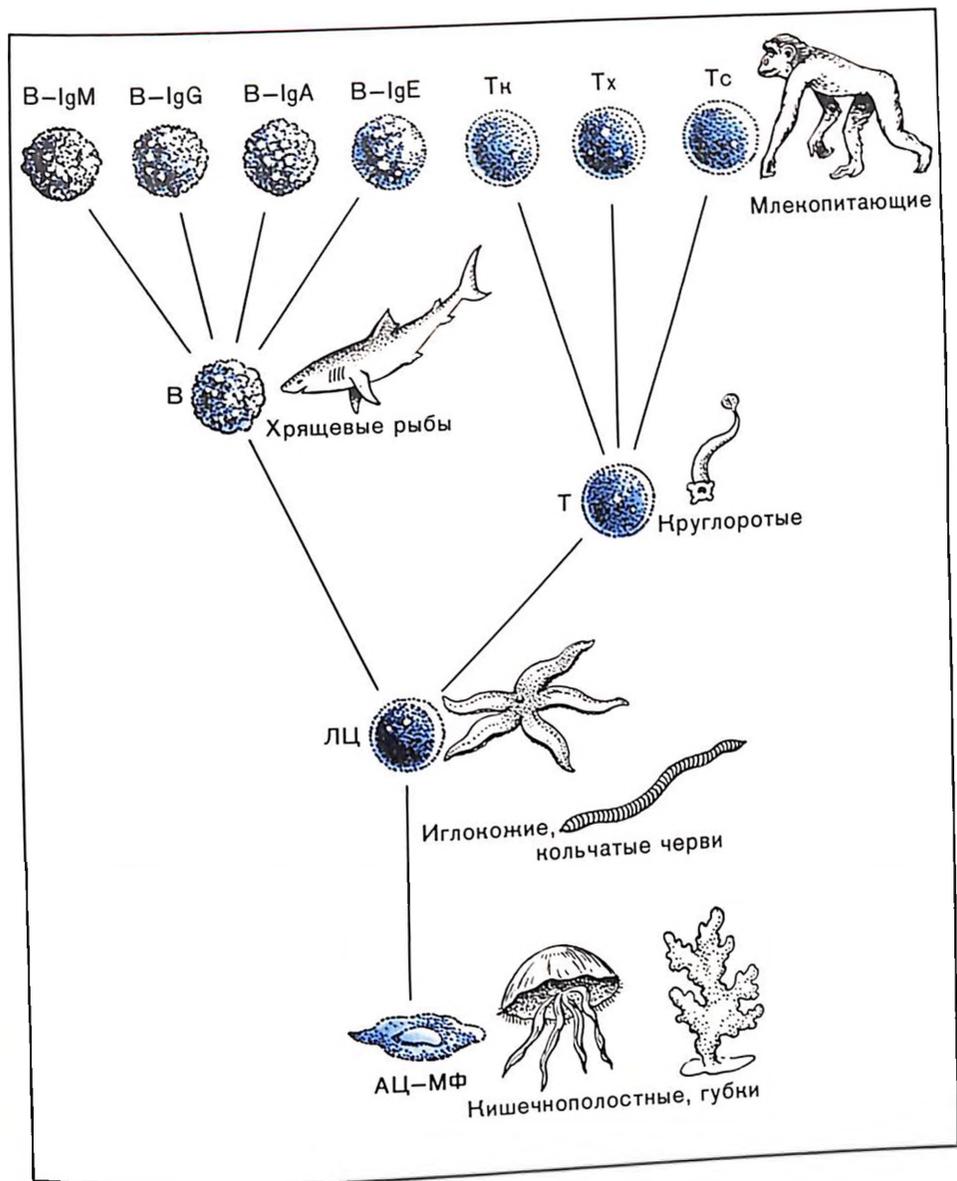
Такой путь адаптации клеточной популяции за счет дубликации исходного гена, контролирующего синтез белка X, повторялся неоднократно и стал основой создания V-генов для вариабельных участков иммуноглобулинов. На определенном этапе эволюции от V-гена могли возникнуть и C-гены для константной части иммуноглобулинов, которые эволюционировали самостоятельно и не в связи с необходимостью нейтрализовать чужеродные антигены. Представления о происхождении V-генов для иммуноглобулинов посредством дубликации исходного гена, контролирующего синтез нейтрализующего белка, не следует относить только к эволюционному развитию одноклеточных. Увеличение числа V-генов шло параллельно с прогрессивным развитием от одноклеточных к первичным многоклеточным, двухслойным многоклеточным и т. д. Однако само зарождение этого процесса связано с первичными одноклеточными существами, у которых возникла необходимость нейтрализации токсических продуктов [Галактионов В. Г., 1980].

Т а б л и ц а 19. Происхождение иммуноглобулиновых генов (Ig-генов) по данным разных авторов

Основной признак	Точка зрения		
	W. H. Hilde- mann (1977), J. Klein (1975)	J. J. Marcha- lonis (1975)	B. Г. Галак- тионова (1982)
Одновременное присутствие у высших многоклеточных двух систем антигенного распознавания: главной системы гистосовместимости и иммуноглобулиновой системы	Да	Нет	Нет
Происхождение Ig-генов от генов главной системы гистосовместимости	Да	Нет	Нет
Филогенетический уровень возникновения предкового Ig-гена	Губки, кишечнополостные	Хордовые	Одноклеточные
Причины возникновения и селективного успеха Ig-генов	Распознавание и нейтрализация веществ с антигенными свойствами	Распознавание и нейтрализация веществ с антигенными свойствами	Нейтрализация веществ с токсическими свойствами

Рис. 118. Эволюционное происхождение лимфоцитов.

У истоков становления лимфоидного клеточного комплекса, основная функция которого иммунная, находились амебоциты-макрофаги (АЦ — МФ), известные для наиболее низкоорганизованных многоклеточных: губок и кишечнополостных. Для кольчатых червей (первичноротые) и иглокожих (вторичноротые) описан новый вид клеток гемолимфы — лимфоцит (ЛЦ). У круглоротых в связи с возникновением вилочковой железы появляются истинные Т-клетки (Т), а у хрящевых рыб впервые в эволюционном ряду обнаруживается плазмоцит, формирующийся в ответ на антиген из В-клетки. У млекопитающих эти клеточные типы в результате разнонаправленной дифференцировки дают различные субпопуляции как Т-клеток (Т-хелперы — Тх, Т-киллеры — Тк, Т-супрессоры — Тс), так и В-клеток, способных к синтезу одного из классов иммуноглобулинов (В-IgM, В-IgG и т. д.). Одно из принципиальных свойств клеток лимфоидной системы состоит в их эволюционной преемственности. На каждом после-



дующем историческом этапе возникновение новой клетки не исключало родоначального предшественника. Предковые и вновь возникшие клетки начинали «работать» совместно для осуществления основной функции — уничтожения чужеродности. Формой реального проявления одновременной «работы» эволюционно совершенствующегося клеточного состава лимфоидной ткани стала клеточная кооперация — синергическое взаимодействие макрофага с T- и B-лимфоцитами [Галактионов В. Г., 1983].

<p>Губки</p> <p>Кишечно-полостные</p> <p>Нольчатые черви</p> <p>Моллюски</p> <p>Членистоногие</p> <p>Иглокожие</p> <p>Оболочники</p> <p>Круглоротые</p> <p>Хрящевые рыбы</p> <p>Ностистые рыбы</p> <p>Амфибии</p> <p>Рептилии</p> <p>Птицы</p> <p>Млекопитающие</p>	<p>Амебоциты-Макрофаги</p> <p>Лимфоциты</p> <p>Т-клетки</p> <p>В-клетки</p>	<p>Вилочковая железа</p> <p>Лимфоидная ткань кишечника</p> <p>Селезенка</p> <p>Ностный мозг</p> <p>Лимфатические узлы</p> <p>Центры разномонения</p>
<p>ТИПЫ И КЛАССЫ</p>	<p>КЛЕТНИ</p>	<p>ОРГАНЫ И ТРАНИ</p>

Рис. 119. Иммунокомпетентные клетки и органы у представителей различных типов животных.

Во всех случаях, когда удается констатировать специфическое отторжение аллотрансплантата, необходимо знать природу клеток-эффекторов, включающихся в реакцию иммунологического распознавания и разрушения чужеродной ткани. Губки и кишечнополостные, некоторые виды которых наделены способностью к иммунному распознаванию, обладают только одним типом подвижных клеток — амебоцитами. Их участие в процессах отторжения аллотрансплантата пока не известно. Кольчатые черви, моллюски, членистоногие, иглокожие, оболочники имеют морфологически хорошо выявляемый клеточный тип — лимфоциты. Лимфоциты кольчатых червей способны отвечать пролиферацией на митогены Т-клеток, трансплантационные антигены, а также обеспечивать адаптивный перенос реактивности к чужеродному трансплантату. Способность к сенсбилизации и распознаванию чужеродности известна и для лимфоцитов других типов беспозвоночных. Все беспозвоночные лишены достоверно обнаруживаемых специальных морфологических образований, ответственных за созревание клеток гемолимфы. Хорошо

различимые очаги кроветворения впервые появляются у наиболее древней группы позвоночных животных — круглоротых. У миног, помимо кроветворной ткани, локализованной в слизистой и подслизистой оболочках кишечника, где гемопоэз топографически неотделен от лимфоэза, появляется истинно лимфоидное образование — вилочковая железа. С возникновением этого органа появляется новый тип лимфоцитов — Т-клетка. На уровне хрящевых рыб синтез иммуноглобулинов осуществляется плазмитами. Обнаружение этой клеточной формы в классе хрящевых рыб позволяет говорить о том, что с данного филогенетического уровня лимфоидный клеточный комплекс обогащается еще одним типом лимфоцитов — В-клеткой. Лимфоидная ткань у эволюционно более ранних классов позвоночных, амфибий, приобретает дополнительные морфологические структуры для генерации лимфоцитов — лимфоидный костный мозг и лимфатические узлы. В классе птиц и млекопитающих регистрируются очаги размножения лимфоцитов, что свидетельствует о функциональном совершенствовании лимфоидной ткани в целом.

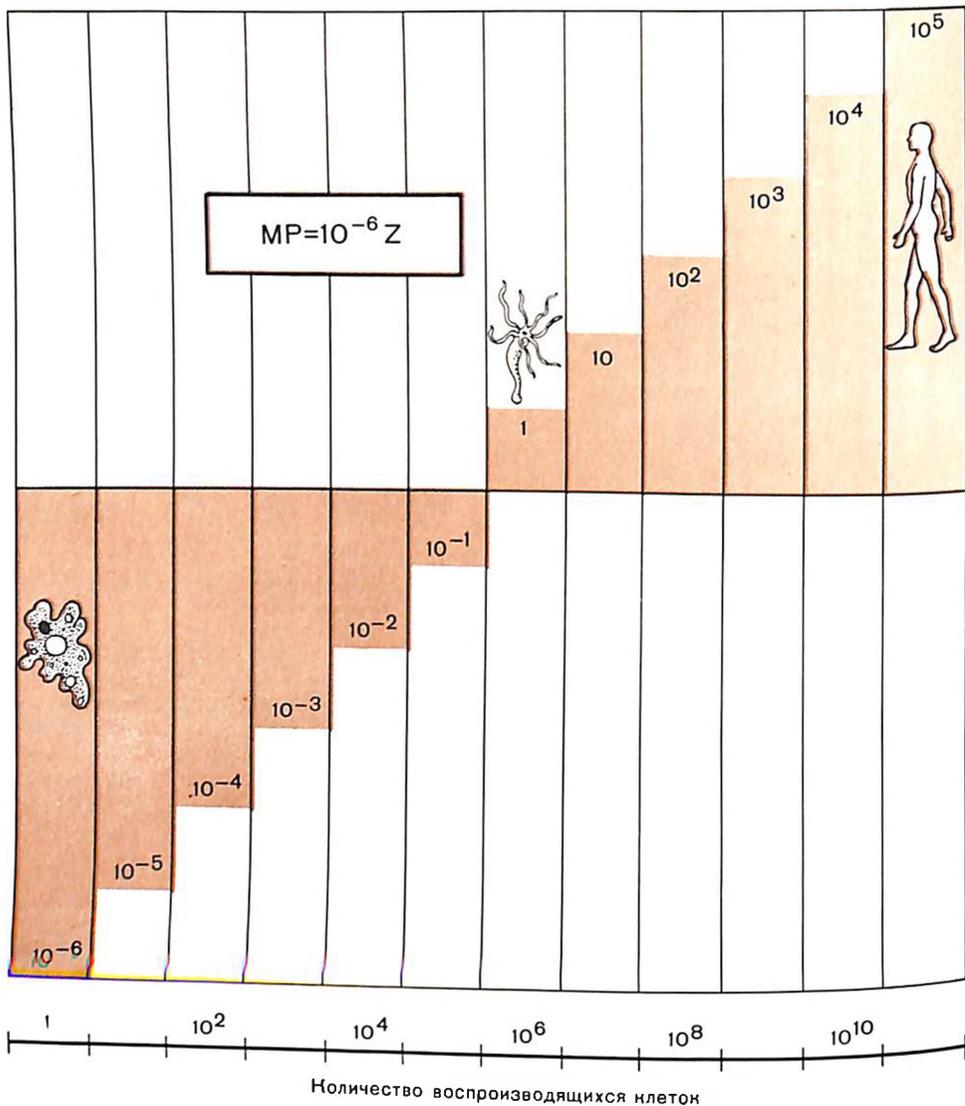


Рис. 120. Мутационный риск — «плата» за многоклеточность.

Суммируя данные по эволюции иммунитета, необходимо определить биологическое назначение исторического совершенствования иммуногенной функции. Нами сформулирован принцип, согласно которому прогрессивная эволюция по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток была бы невозможна, если бы параллельно не шел процесс эволюционного совершенствования иммунной системы защиты. Данный принцип строится на представлении о том, что по мере эволюционного накопления абсолютного количества соматических клеток тела повышался мутацион-

ный риск для многоклеточного организма. Частота мутационного поражения соматических клеток, так же как и половых, равняется приблизительно 10^{-6} , т. е. одной мутационно измененной клетке на 10^6 генерировавших клеток тела. Мутационный риск как произведение частоты мутации на абсолютное количество соматических клеток будет отрицательной величиной для организмов с количеством воспроизводящихся клеток не более 10^5 . Потребуется несколько полных смен клеточных поколений, чтобы возникло одно мутационное событие. Так, для одноклеточного организма необходимо по крайней мере 20 смен поколений для возникновения одного мутационного события. Для организмов с большим количеством воспроизводящихся клеток (10^6 — 10^{11} и более) величина мутационного риска положительная. При смене только части делящихся клеток возникнут мутантные клеточные формы. Например, для организма с 10^7 возобновляющихся клеток достаточно воспроизведения всего $1/10$ части делящейся клеточной популяции, чтобы возникла мутантная клеточная форма. Величина мутационного риска для человека равняется 10^5 . Это означает, что при полном воспроизведении всех пролиферирующих клеток (10^{11}) возникнет 10^5 мутантных форм. Обращает на себя внимание «критическая точка» — 10^6 , в которой мутационный риск становится положительной величиной. Она выглядит некоторым пределом, начиная с которого эволюция многоклеточных была бы невозможна без эффективного контроля за естественным мутационным потоком. Функцию контроля за мутационным потоком взяла на себя иммунная система [Галактионов В. Г., 1972].

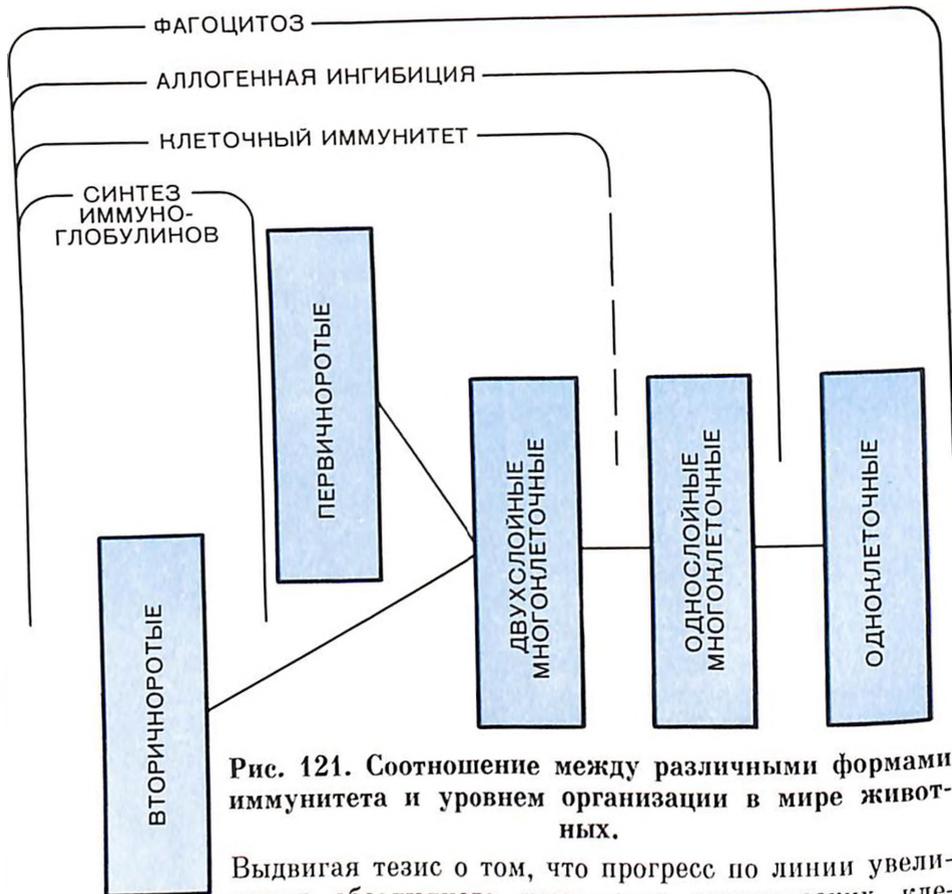


Рис. 121. Соотношение между различными формами иммунитета и уровнем организации в мире животных.

Выдвигая тезис о том, что прогресс по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток был бы невозможен без совершенствования системы контроля за мутационным потоком, необходимо установить корреляцию между возникающими в процессе эволюции формами иммунитета и все увеличивающимися размерами носителей этого иммунитета. На рис. 121 показана связь между различными филогенетическими группами, характеризующимися возрастанием сложности организации и усложнением форм иммунологической защиты. Уже на уровне предковых форм двухслойных многоклеточных (кишечнополостных), которые в период своего возникновения были крайне незначительными по размерам, появляются специфические клеточные реакции защиты. Вероятно, именно это ключевое событие обеспечило прогресс по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток, в том числе в самом типе кишечнополостных. Таким образом, на эволюцию иммунитета не следует смотреть только как на самостоятельную линию исторического развития, но, скорее, как на такой эволюционный процесс, который был необходим для прогрессивного развития по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток и который обеспечил этот прогресс [Галактионов В. Г., 1975].

ТЕОРИИ РАЗНООБРАЗИЯ АНТИТЕЛ

В самой общей форме все появившиеся со времени Р. Ehrlich гипотетические построения, касающиеся феномена иммунологической специфичности, можно разбить на две группы: инструктивные и селективные.

Инструктивные теории рассматривают антиген в качестве матрицы, на которой формируется антигенсвязывающий участок антител. Антигенная структура как бы отпечатывается на молекуле иммуноглобулина, определяя ее комплементарную специфичность (см. рис. 122). В настоящее время инструктивные теории имеют лишь исторический интерес. Они не выдержали проверки временем и вошли в противоречие с данными как иммунологии, так и молекулярной биологии. С иммунологических позиций эти теории не объясняют, во-первых, почему количество антител в молярном отношении значительно больше количества введенного антигена и, во-вторых, за счет чего формируется иммунологическая память. С позиций молекулярной биологии они противоречат основной догме биологии, гласящей, что специфичность белка строго закодирована в последовательности нуклеотидов ДНК хромосом и не может быть нарушена факторами внешнего воздействия без нарушения или полной потери функции.

Более плодотворными оказались селективные теории разнообразия антител. История развития иммунологической мысли в направлении представлений о том, что специфичность антител predetermined, а антиген выступает лишь в качестве селективного фактора, обеспечивающего усиленную продукцию соответствующих иммуноглобулинов, началась с формирования теории боковых цепей (см. рис. 123). В 1955 г. вариант селективной теории выдвинул N. Yerne (см. рис. 124). Наиболее обобщенную теорию иммунитета разработал M. F. Burnet. Он использовал представления N. Yerne о предсуществовании антител, но указывал на то, что каждое специфическое антитело синтезируется отдельным клоном клеток. Слабость клонально-селекционной теории M. F. Burnet заключается в предположении о повышенной мутабельности иммуноглобулиновых генов, обеспечивающей все многообразие антител. Подобная подверженность мутационным изменениям не известна для других белков (см. рис. 125).

По представлениям G. Hood и соавт. (1965), набор генов, необходимый для обеспечения синтеза антител самой разнообразной специфичности, не возникает вновь за счет мутационных изменений в процессе онтогенеза, а имеется в готовом виде и передается из поколения в поколение по наследству (см. рис. 126). J. A. Galley и G. M. Edelman (1973) выдвинули гипотезу рекомбинации генов для V-доменов иммуноглобулинов. Они постулировали, что по наследству передается лишь незначительное количество V-генов. Их разнообразие возникает в процессе онтогенеза за счет неравной рекомбинации между исходными V-генами (см. рис. 127).

На основании современных данных о соматической рекомбинации генетического материала, в результате которой образуется единый информационный участок для синтеза иммуноглобулинов (см. главу 2 и рис. 21—23), предложена теория комбинированного связывания. По этой теории при соматической реорганизации V-ген для тяжелой или легкой цепи иммуноглобулинов объединяется с одним из гомологичных D- и J-сегментов (мини-генов), что создает условия для дополнительного разнообразия иммуноглобулинов. Более того, место рекомбинации V-J или V-D-J не является жестко фиксированным и может затрагивать разные последовательности ДНК как собственно экзонов, так и близлежащие к экзонам последовательности интронов. Такая нестабильность при реорганизации также вносит дополнительную изменчивость в третий гипервариабельный участок V-доменов (см. рис. 127). Теория о существовании многообразия антител за счет соматической реорганизации кажется наиболее объективной. Она включает в себя представления о клональной организации лимфоидной ткани, принцип селекции клонов, передачу основного генетического материала для иммуноглобулинов по наследству и указывает на реальный источник и механизм, обеспечивающие вариабельность антител.

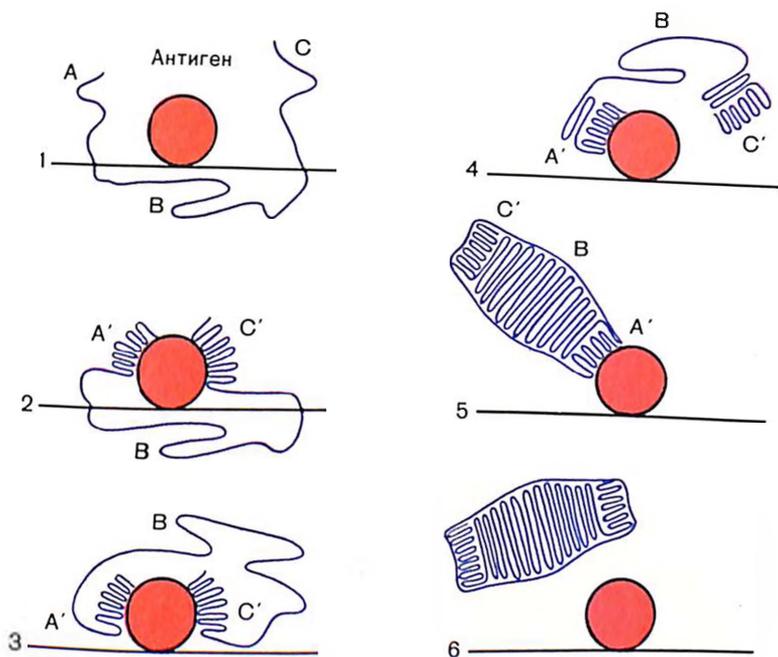


Рис. 122. Инструктивная теория.

По этой теории, все антитела имеют одну и ту же последовательность аминокислотных остатков. Различия касаются третичной структуры и возникают в процессе окончательного формирования молекулы антитела вокруг антигена. А, В, С — участки полипептидной цепи [Poling L., 1940].

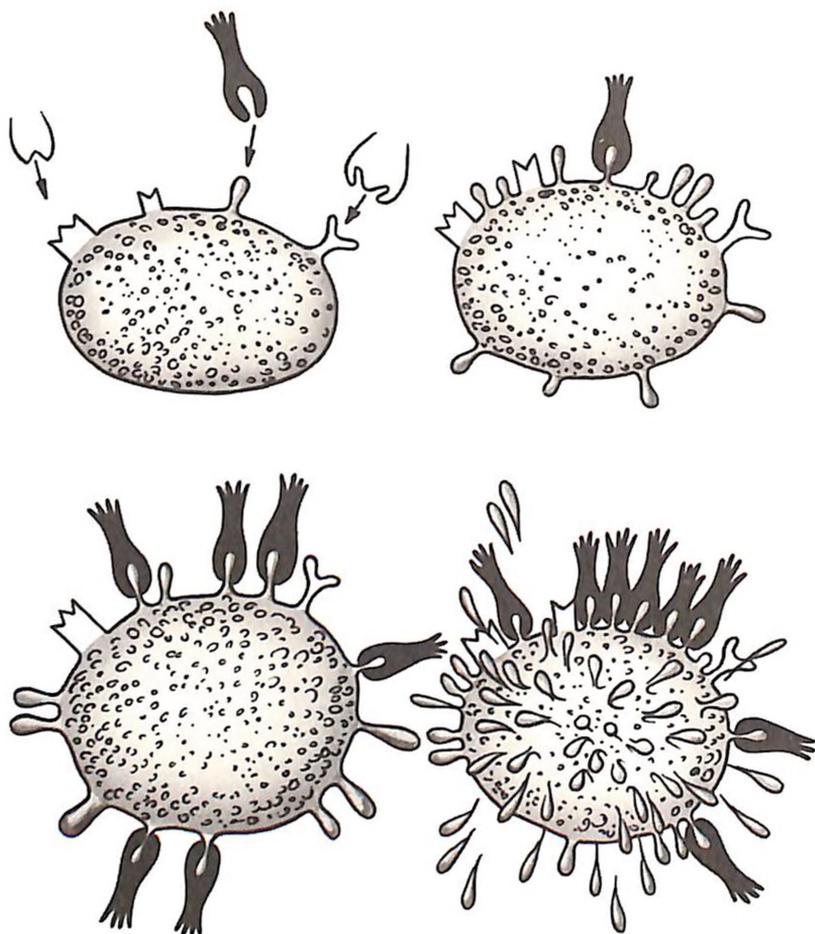
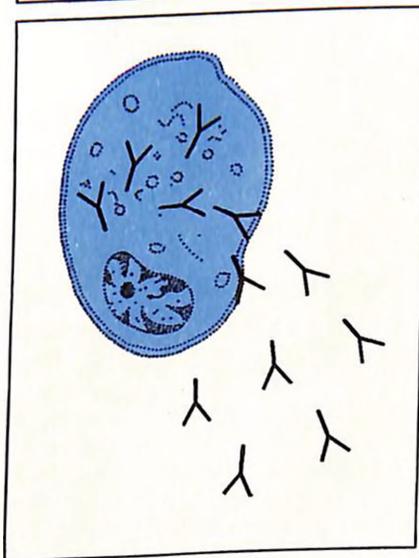
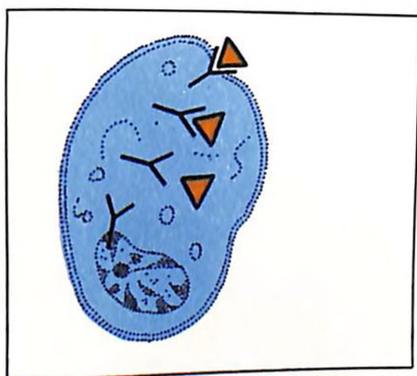
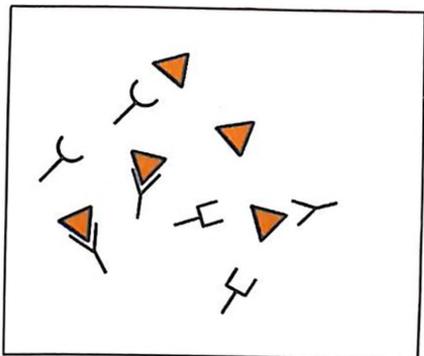


Рис. 123. Теория боковых цепей Р. Ehrlich.

Теория является первой селективной теорией иммунитета. На поверхности клетки, способной образовывать антитела, имеются комплементарные к введенному в организм антигену структуры — боковые цепи. Взаимодействие антигена с боковой цепью приводит к ее блокаде и как следствие компенсаторному повышенному синтезу и выходу в межклеточное пространство соответствующих цепей, выполняющих функцию антител [Ehrlich P., 1900].

Рис. 124. Теория естественного отбора N. Yерне.

В организме постоянно присутствуют антитела самой разнообразной специфичности. Антитело, взаимодействуя с соответствующим антигеном, поглощается фагоцитирующими мононуклеарами, что приводит к активному синтезу антител той же специфичности (по данным N. Yerne, 1955).



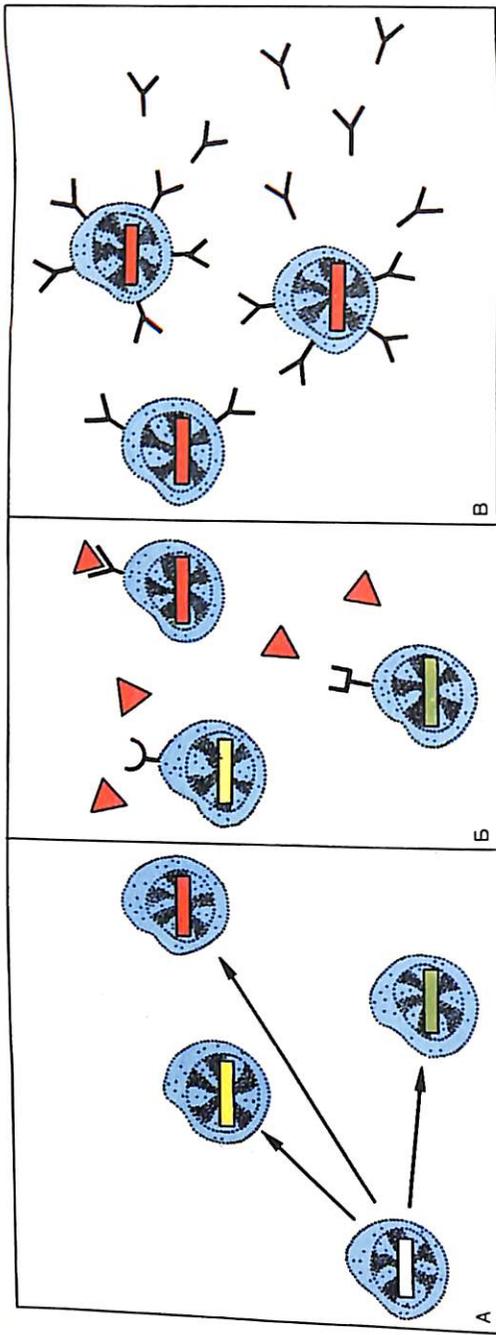


Рис. 125. Клонально-селекционная теория М. Ф. Вигнет.

При дифференцировке лимфоцитов от стволовой кроветворной клетки и при параллельном процессе мутационных изменений в генах, ответственных за синтез специфических антител, возникают клоны клеток

(А), которые способны взаимодействовать с антигеном соответствующей специфичности (В). В результате подобного взаимодействия формируется отобранный по специфичности клон, который либо секретирует антитела заданной специфичности, либо обеспечивает строго специфическую клеточную реакцию (В) (по данным М. Ф. Вигнет, 1959).

СМЕНА
ПОКОЛЕНИЙ

ФОРМИРОВАНИЕ
КЛОНОВ

ОТВЕТ КЛОНА
НА АНТИГЕН

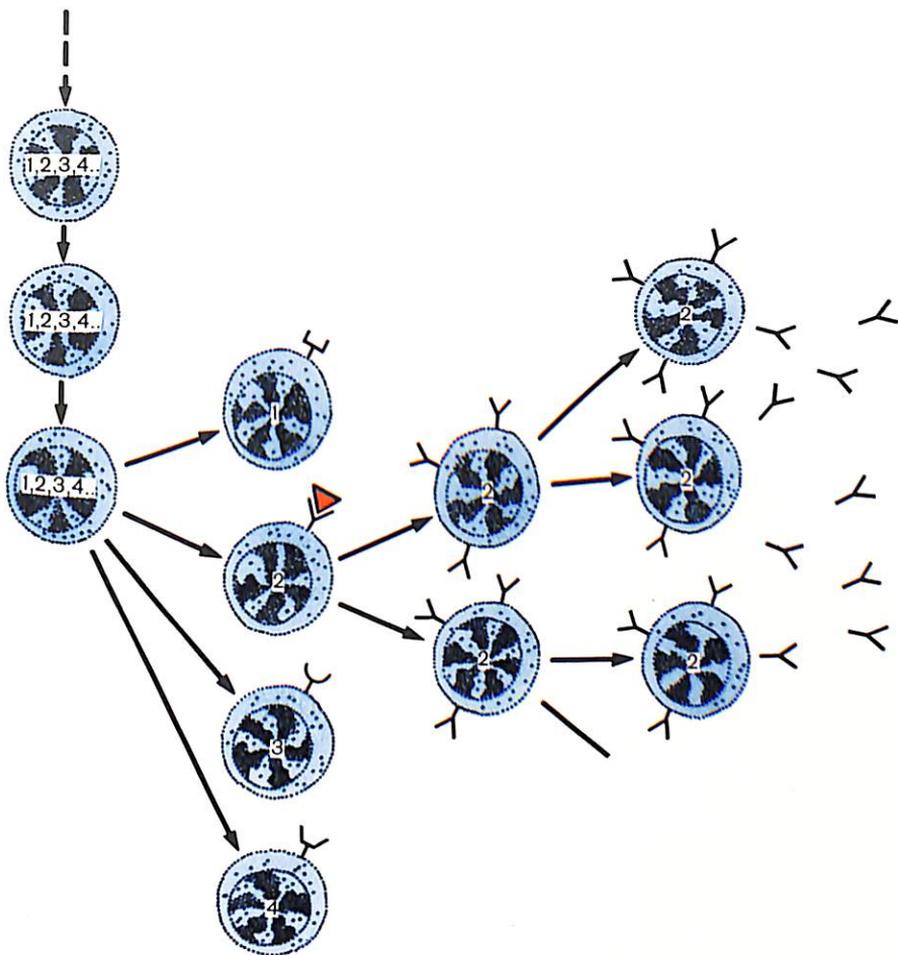
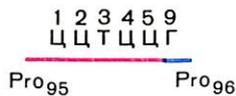
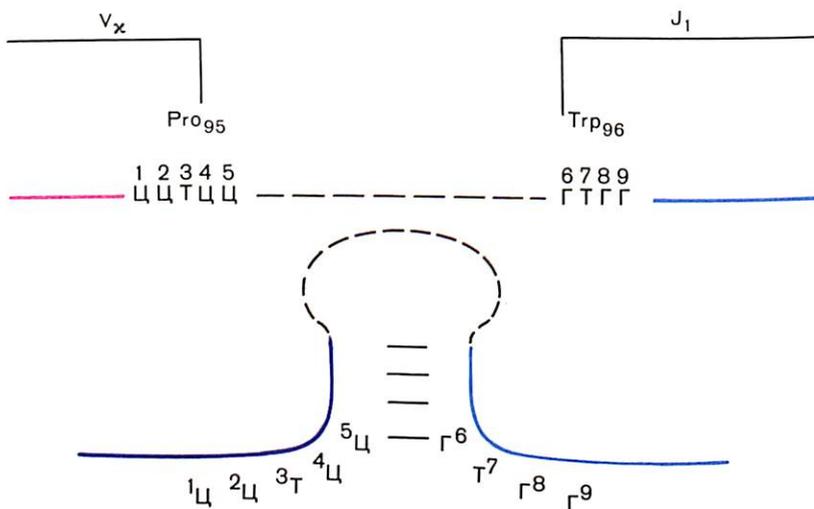
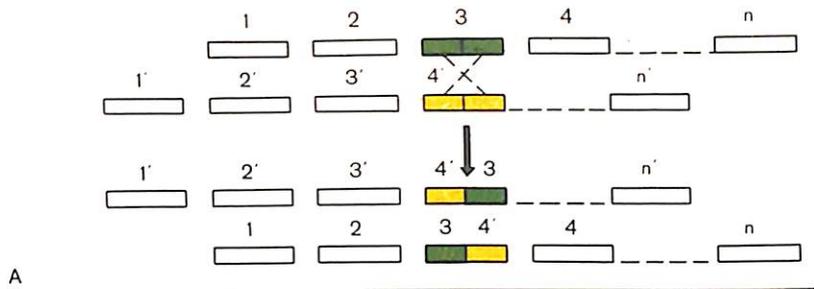


Рис. 126. Теория зародышевой линии L. Hood и соавт.

Весь набор V-генов (1, 2, 3, 4...), контролирующих переменный участок иммуноглобулинов, представлен изначально в геноме и передается от поколения к поколению без изменений. В процессе индивидуального развития образуются клоны В-клеток, способные реагировать только с одним из специфических антигенов. В результате подобного взаимодействия формируется клонированная популяция антителопродуцентов, синтезирующих антитела заданной специфичности (по данным L. Hood и соавт., 1971).



Б

Рис. 127. Теории соматической рекомбинации.

А. В процессе онтогенетического созревания иммунной системы разнообразие V-генов и соответственно клонов антителопродукторов возникает за счет неравного кроссинговера между этими генами (1, 2, 3, 4...n и 1', 2', 3', 4'...n' — гомологичные гены для V-домена на парных хромосомах). Б. Процесс реорганизации генома при соединении одного из V-генов с одним из J-сегментов для легких цепей или аналогичное соединение V-D-J для тяжелых цепей — одно из условий вариабельности V-генов. Этот дополнительный механизм вариабельности состоит в том, что место рекомбинации V-J и V-D-J не является жестко фиксированным и может затрагивать разные последовательности нуклеотидов как кодируемой части (экзона), так и не кодируемой — близлежащей к экзонам последовательности. Генная реорганизация (V-J или V-D-J) генерирует вариабельность последовательности кодонов. Результатом этого является вариация аминокислотной последовательности третьего гипервариабельного участка V-домена.

На рис. 127 в качестве примера показано соединение одного из V-генов с одним из четырех J-сегментов. В процессе созревания клона антителопродукторов происходит делеция (удаление) некодируемой части ДНК (интрона) между V- и J-сегментами. При этом один из нуклеотидов в последовательности справа от V-гена (1—5) может оказаться в единой информационной цепи с одним из нуклеотидов, примыкающих к левой части J-сегмента (6—9). Это обеспечивает формирование кодонов для разных аминокислотных остатков в положении 95 и 96, входящих в третий гипервариабельный участок V-домена. Г — гистидин, Ц — цитозин, Т — тимидин, Про — пролин, Arg — аргинин, Тгр — триптофан [по Weigert A. et al., 1978].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на значительный фактологический багаж современной иммунологии, многие принципиальные вопросы остаются в стадии разработки. Так, обращаясь к материалам главы 1, следует отметить нерешенность такой важной проблемы, как иммуногенность. Имеются вполне конкретные представления о том, что иммуногенность материала зависит от жесткости структуры антигена, его молекулярной массы, стереохимической конфигурации, иммунореактивности организма [Ляшенко В. А., Воробьев А. А., 1982; Haugowitz F., 1968]. Если в отношении требований к структурным особенностям антигена, определяющим его иммуногенность, имеется определенная ясность, то понимание процессов, через которые реализуются иммуногенные свойства, остается предметом обсуждения. Хорошо известно, что иммуногенные соединения обеспечивают развитие иммунного процесса отнюдь не у всех особей вида. По мнению F. Haugowitz (1968), иммуногенность есть антигенность плюс иммунореактивность организма. Однако, каков ведущий механизм, лежащий в основе генетически детерминированной иммунореактивности организма, предстоит еще выяснить.

Недостаточно решен также вопрос о тимусзависимости и тимуснезависимости антигенного материала. При работе с культурой клеток *in vitro* или с дефицитными по Т-клеткам животными *in vivo* получены данные о действии тимуснезависимых антигенов непосредственно на В-клетки в обход Т-клеток и макрофагов. Подобные факты заставляют задуматься над реальной ситуацией, складывающейся в нормальном организме. Действительно ли Т-клетки ареактивны к тимуснезависимым антигенам в обычных условиях или же они все-таки включаются в работу при встрече с соответствующим антигенным материалом. Дискуссионным остается вопрос и о роли макрофагов. При тщательной очистке В-клеток от фагоцитирующих мононуклеаров с помощью карбонильного железа отменяется ответ этих клеток на тимуснезависимые антигены, что ставит под сомнение автономность В-клеток [Lee K. et al., 1976].

Значительные успехи достигнуты в определении структуры функции и генетического контроля образования иммуноглобулинов. Раскрыты как общее строение иммуноглобулинов, так и специфические особенности организации их активного центра (антигенсвязывающего участка). Много сделано для понимания генетических механизмов, обеспечивающих объединение V- и C-участков в единую полипептидную цепь и переключение работы C-генов. При этом абсолютно ничего не известно о тех внутриклеточных событиях, которые приводят к отбору при рекомбинации только одного из множества самостоятельных V-генов. Случайно ли включение в работу того или иного V-гена или же клетка имеет специальные механизмы регуляции дифференциальной селекции этих генов? Вопрос о механизмах последовательного переключения C-генов для одного класса иммуноглобулинов на другой также остается открытым. Факты, свидетельствующие о смене синтеза IgM на синтез IgG под влиянием лимфокинов, секретируемых Т-хелперами, могут послужить основой для экспериментальной разработки данного вопроса.

Всестороннее изучение лимфоидной системы как места развития иммунологических реакций началось с 60-х годов, когда было продемонстрировано участие вилочковой железы в реализации большинства иммунологических событий [Miller J., Dukor P., 1965]. Исследование клеточных основ иммунной реактивности привело к формированию представлений о наличии Т- и В-систем мунитета, к доказательству деления Т- и В-клеточных популяций на функционально различные субпопуляции, к обнаружению в лимфоидной ткани двух самостоятельных областей — Т- и В-зон. Все яснее становится роль костного мозга не только как источника В-клеток, но и как регулятора иммуногенеза [Петров Р. В. и др., 1982]. Весь комплекс знаний о молекулярных, клеточных, сравнительно-эволюционных и функциональных свойствах лимфоидной системы позволяет заключить, что данная система возникла исторически и развивается онтогенетически специально для осуществления иммунной реактивности. Следует принять, что понятия «лимфоидный» и «иммунный» — суть синонимы для обозначения одной и той же системы организма [Галактионов В. Г., 1977].

Несмотря на повышенный интерес исследователей к лимфоидной системе, многие важные вопросы, связанные с ее функционированием, остаются нерешенными. Так, хорошо известно, что подавляющее число лимфоцитов, мигрирующих в вилочковую железу из костного мозга, не выходит из органа в дальнейшую цир-

куляцию и гибнет на месте. Причины столь «расточительного» использования биологического материала остаются неизвестными. Предположение F. Burnet (1971) о том, что в вилочковой железе происходит массовая гибель «запрещенных» клонов клеток, способных реагировать на свои собственные антигены, кажется достаточно умозрительным. Второй момент, заслуживающий внимания, — это оценка роли телец Гассалья вилочковой железы в жизнедеятельности этого органа. По мнению одних исследователей, данные тельца являются гистологическими «свидетелями» гибели тимоцитов *in situ*. Другие авторы склонны считать, что эти тельца как место концентрации эпителиальных клеток являются локальными источниками гормонов вилочковой железы.

Полностью доказано, что вилочковая железа является тем органом, в котором определяется направление дифференцировки тимоцитов по Т-клеточному пути. Однако вопрос о клеточных и гуморальных механизмах, включенных в эту дифференцировку, не имеет пока полного ответа. Например, роль тимокитарных макрофагов как самостоятельного источника тимокитдифференцирующих гуморальных факторов долгое время не учитывалась. Лишь в 1978 г. в лаборатории Е. Упанце было показано, что один из монокинов с молекулярной массой около 40 000 обеспечивает созревание тимоцитов до Т-клеток, реагирующих в смешанной культуре лимфоцитов. В проведенных нами исследованиях продемонстрировано участие фагоцитирующих мононуклеаров в индукции Т-эффекторов РТПХ из функционально незрелой популяции клеток вилочковой железы [Анфалова Т. В. и др., 1983; Галактионов В. Г. и др., 1984]. При этом процесс созревания тимоцитов также осуществляется при участии макрофагального фактора с молекулярной массой около 60 000. Конкретной гистологической структурой, в которой очевидно происходит комплексная регуляция дифференцировки тимоцитов, является фолликул Кларка, поскольку именно эта гистологическая единица представляет собой место встречи трех клеточных форм: тимоцитов, эпителиальных клеток и макрофагов.

В последнее время макрофаги как равноправные участники иммунологических событий привлекают особое внимание иммунологов. Связано это с разносторонними функциональными возможностями данного клеточного типа. Эффекторные и регуляторные функции макрофагов проявляются в таких феноменах, как антираковая и антиинфекционная защита, клеточная кооперация, регуляция дифференцировки тимоцитов, генетический контроль им-

мунного ответа, представление антигена в иммуногенной форме на клеточной поверхности и др. При этом прослеживается явное несоответствие между ролью этих клеток в жизнедеятельности организма и степенью их изученности. Один из существенных вопросов, требующих быстрее ответа, это вопрос о том, являются ли зрелые макрофаги гистогенетически и функционально единой популяцией или же данная клеточная совокупность включает (по аналогии с Т-лимфоцитами) несколько субпопуляций, специфическая реактивность которых строго детерминирована.

Среди наиболее важных достижений современной иммунологии следует считать открытие клеточной кооперации при развитии иммунного процесса. Именно анализ явлений взаимодействия клеток привел к обнаружению внутрипопуляционного деления Т-клеток на отдельные функционально разнокачественные субпопуляции и выявлению группы медиаторов (лимфокинов и монокинов), опосредующих межклеточные связи. Однако и в этом направлении иммунологии имеются еще многие нерешенные вопросы. В частности, пока не окончательно ясна форма клеточной кооперации. Необходим ли прямой контакт между вступившими в иммунологические отношения клетками или же взаимодействие может быть дистанционным — посредством гуморальных факторов, секретируемых этими клетками? Если контакт необходим, то следует установить, для каких типов кооперирующих клеток он обязателен и какие клетки вступают в межклеточные отношения дистанционно. Нерешенным остается вопрос и о медиаторах клеточного взаимодействия. В настоящее время в результате применения функциональных тестов описано большое число факторов кооперации. На самом деле их, очевидно, значительно меньше и в разных системах кооперации действуют, возможно, одни и те же соединения. Ответ на данный вопрос можно будет получить только после детального изучения молекулярной природы факторов взаимодействия.

Стремление понять природу антигенраспознающих рецепторов Т-клеток привело к созданию аналитических систем несингенного клеточного взаимодействия *in vitro*. Установлено, что для большинства форм иммунного реагирования между взаимодействующими клетками необходима идентичность по генам второго класса. В случае цитолиза клеток-мишеней сенсibilизированными лимфоцитами ограничения связаны с генами первого класса. Эти факты послужили основой для выдвижения двух гипотез о возможных процессах распознавания антигена Т-клетками: гипотезы

«измененного своего» и гипотезы «двойного распознавания». Пока ни одна из них не может быть подтверждена бесспорными экспериментальными данными.

Параллельно в проблеме генетики клеточного взаимодействия сформировалось самостоятельное направление, связанное с изучением кооперации клеток в физиологически нормальных (безантигенных) условиях. Процессы неиммунного взаимодействия лежат в основе дифференцировки, роста, развития и формирования функционально полноценных клеточных популяций. Для изучения генетического контроля подобного взаимодействия используют такие экспериментальные приемы, как трансплантацию стволовых кроветворных элементов в несингенный организм, реакцию ауторозеткообразования, хоминг-лимфоцитов, индукцию Т-эффекторов РТПХ в несингенной системе взаимодействия макрофагов с тимоцитами, преодоление несингенных клеточных отношений с помощью мРНК «линейной специфичности» и др. Показано, что генетическая рестрикция в перечисленных реакциях взаимодействия обусловлена в основном генами первого класса (локусами H-2K и/или H-2D у мышей). Известно также, что для реализации эффекта взаимодействия, помимо идентичности по генам этого класса, необходим прямой физический контакт между кооперирующимися клеточными единицами.

Подобная информация существенна для понимания собственно явления неиммунного взаимодействия. Однако она не дает ответа на вопрос о конкретных механизмах, обеспечивающих клеточный контакт. По этой проблеме имеется два предположения. Первое из них строится на том, что продукты локусов H-2K и H-2D имеют соответствующие акцепторы, контролируемые близкосцепленными с этими локусами генами. Процесс взаимодействия складывается из установления связи между рецептором (продуктом локуса H-2K или H-2D) и соответствующим акцептором по аналогии с реакцией взаимодействия антигена с антителом. Эта гипотеза вызывает серьезные возражения. Эволюционно главная система гистосовместимости возникла в результате мутационного процесса в локусах, составляющих данную систему. В результате одним из характерных свойств системы является ярко выраженный полиморфизм соответствующих антигенных продуктов. Если гипотеза «рецептор — акцептор» верна, то следует допустить, что каждый мутационный акт в локусе H-2K или H-2D был сопряжен со строго адекватным мутационным событием в локусе, контролирующем специфичность акцептора. Реальность подобной

ситуации маловероятна [Dausset J., Contu L., 1980]. В основе второго предположения лежит представление о возможности взаимодействия между продуктами локуса H-2K или H-2D по принципу «свой со своим», т. е. по принципу комплементарного взаимодействия идентичных молекулярных продуктов [Галактионов В. Г. и др., 1974; Галактионов В. Г., Горбачева Л. Д., 1980; Dausset J., Contu L., 1980]. Это предположение требует прямых экспериментальных доказательств. Если удастся показать возможность образования специфических комплексов между гомологичными продуктами соответствующих локусов, проблема естественным образом решится положительно.

Наиболее актуальное направление современной иммунологии связано с изучением генетического контроля иммунного ответа. Несмотря на значительные успехи в данной области, многие важные вопросы остаются нерешенными. Наиболее существенный из них — это вопрос о фенотипическом продукте Ig-генов и механизме его действия в процессе развития иммуногенеза. Другой вопрос касается определения того типа клеток, в которых происходит экспрессия продуктов этих генов. Высказывается мнение, что Ig-гены могут «работать» во всех типах иммунологически ответственных клеток. Подобная возможность не исключена, если признать наличие у Ig-генов плеiotропного эффекта. Однако некоторые исследователи склоняются к мысли о ведущем значении макрофагов в рассматриваемом явлении, подчеркивая при этом роль Ia-белков как фенотипических продуктов соответствующих генов. Функция таких белков состоит в представлении антигена в иммуногенной форме на поверхности фагоцитирующих мононуклеаров.

Большой интерес вызывает проблема эволюции иммунитета. Ясно, что сравнительно-исторический подход к явлениям иммунной реактивности позволит более объективно оценить эффекторные функции различных систем специфической защиты и уточнить их дифференциальное участие в реакциях организма на чужеродный материал. Кроме того, анализ эволюционного становления специфической защиты имеет еще один аспект, который до сих пор не привлек внимания специалистов. Он касается оценки роли иммунологического надзора как фактора, обеспечившего эволюционное развитие животных по линии увеличения абсолютного количества соматических клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анфалова Т. В., Луцан Н. И., Галактионов В. Г.* Взаимодействие макрофагов с тимоцитами при генерации Т-клеток, вступающих в реакцию трансплантат против хозяина (РТПХ).— Докл. АН СССР, 1983, т. 268, № 5, с. 1274—1276.
- Брондз Б. Д., Рохлин О. В.* Молекулярные и клеточные основы иммунологического распознавания.— М.: Наука, 1978.
- Галактионов В. Г.* Генетическое постоянство соматических клеток.— Природа, 1972, № 10, с. 77—85.
- Галактионов В. Г.* Уровни изучения специфического иммунитета.— Журн. общ. биол., 1977, № 5, с. 690—708.
- Галактионов В. Г.* Дарвинский принцип в иммунологии.— Природа, 1980, № 8, с. 28—35.
- Галактионов В. Г.* Иммунитет в эволюции многоклеточных животных.— Успехи соврем. биол., 1982, т. 93, № 1, с. 149—165.
- Галактионов В. Г.* Роль макрофагов в эволюции специфического иммунитета.— Иммунология, 1983, № 1, с. 17—26.
- Галактионов В. Г., Анфалова Т. В.* Сингенные и аллогенные отношения при макрофагальной индукции иммунного ответа у мышей разных генотипов.— Журн. общ. биол., 1974, № 3, с. 365—375.
- Галактионов В. Г., Горбачева Л. Д.* Преодоление несингенных отношений между взаимодействующими клетками лимфо-миелоидного комплекса с помощью «аллогенной» РНК.— Журн. общ. биол., 1980, № 4, с. 532—545.
- Галактионов В. Г., Анфалова Т. В., Луцан Н. И.* Клетки-мишени тимуса, находящиеся под регуляторным влиянием макрофагов при образовании эффекторов РТПХ.— Бюл. экпер. биол., 1983, № 7, с. 79—81.
- Галактионов В. Г., Анфалова Т. В., Моргунов О. И.* Анализ индуцирующей способности несингенных макрофагов, обработанных РНК донорского типа.— Докл. АН СССР, 1974, т. 215, № 5, с. 1236—1239.
- Галактионов В. Г., Алексеева Н. Ю., Бекман Э. М. и др.* Отмена аллогенной ингибции колониеобразования с помощью различных классов РНК.— Журн. микробиол., 1978, № 1, с. 75—78.
- Заварзин А. А.* Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани.— М.— Л.: Изд-во АН СССР, 1953, т. 4.
- Ляшенко В. А., Воробьев А. А.* Молекулярные основы иммуногенности антигенов.— М.: Медицина, 1982.
- Манько В. М.* Субпопуляции лимфоцитов и их взаимодействие.— Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1982, № 4, с. 389—396.
- Маянский Д. И., Каулен Д. Р.* Трансплантационная болезнь.— Новосибирск: Наука, 1978.

- Медведев Н. Н. Линейные мыши.— М.: Медицина, 1964.
- Незлин Р. С. Строение и биосинтез антител.— М.: Наука, 1972.
- Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика.— М.: Медицина, 1978.
- Петров Р. В. Формы взаимодействия генетически различающихся клеток лимфоидной ткани (трехклеточная система иммуногенеза).— Успехи соврем. биол., 1970, т. 69, № 2, с. 261—271.
- Петров Р. В., Сеславина Л. С. Инактивация «стволовых» клеток при контакте генетически несовместимых клеточных взвесей из лимфоидных тканей.— Докл. АН СССР, 1967, т. 179, № 5, с. 1170—1173.
- Петров Р. В., Хаитов Р. М., Атауллаханов Р. И. Иммуногенетика и искусственные антигены.— М.: Медицина, 1983.
- Сидорова Е. В. Молекулярные механизмы биосинтеза иммуноглобулинов.— Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1982, № 4, с. 12—20.
- Хрущев Г. К. Эволюция кроветворных органов позвоночных.— В кн.: Лимфоидная ткань в восстановительных и защитных процессах. М., 1966, с. 5—91.
- Чертков Н. Л., Воробьев А. А. Современная схема кроветворения.— Пробл. гематол., 1973, № 10, с. 3—60.
- Чертков Н. Л., Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения.— М.: Медицина, 1981.
- Bach J. F. Immunology.— New York: Wiley Med. Publ., 1982.
- Basten A., Howard J. G. Thymus independence.— Contemp. Topics Immunobiol., 1973, vol. 2, p. 265—291.
- Benacerraf B., Germain R. N. The immune response genes of the major histocompatibility complex.— Immunol. Rev., 1978, vol. 38, p. 70—119.
- Bier O. G., Dias da Silva W., Götz D., Mota J. Fundamentals of immunology.— New York; Springer, 1981.
- Binz H., Wigzell H. Antigen binding, idiotype T-lymphocyte receptors.— Contemp. Topics Immunobiol., 1975, vol. 7, p. 113—178.
- Borysenko M. Phylogeny of immunity: an overview.— Immunogenetics, 1976, vol. 3, p. 305—326.
- Boyd W. C. Fundamentals of immunology.— New York: Interscience, 1966.
- Burnet F. M. The clonal selection theory of acquired immunity.— Cambridge: Univ. Press, 1959.
- Burnet F. M. Cellular immunology.— Melbourne, Cambridge: Univ. Press, 1969.
- Burnet F. M. Immunological surveillance.— New York — London: Acad. Press, 1971.
- Cantor H., Boyse E. A. Regulation of cellular and humoral immune responses by T-cell subclasses.— Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol., 1979, vol. 41, p. 23—42.
- Charreire J., Carnaud C., Bach J. F. Studies on mouse autoreactive cells. I. Role of H-2 antigens in mouse autologous rosette formation.— Cell. Immunol., 1980, vol. 25, p. 131—152.
- Claman H. N., Chaperon E. A., Triplett R. F. Thymus-bone marrow cell combination. Synergism in antibody production.— Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 1966, vol. 122, p. 1167—1175.
- Clark S. L. The thymus in mice of strain 129/J, studied with the electron microscope.— Amer. J. Anat., 1963, vol. 112, p. 1—9.

- Cooper E. L. Comparative immunology.— New Jersey: Univ. Press, 1978.
- Dausset J., Contu L. Is the MHC a general self-recognition system playing major unifying role in an organism? — Hum. Immunol., 1980, vol. 1, p. 5—17.
- Decker J., Sercarz E. Antigen binding cells and the generation of diversity.— Amer. Zool., 1975, vol. 15, p. 189—201.
- Dreyer W. J., Bennet J. C. The molecular basis of antibody formation; a paradox.— Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1965, vol. 54, p. 864—880.
- Duprat P. Mise en évidence de réaction immunitaire dans les hanogreffes de paroi du corps chez le Lombricien *Eisenia foetida*. C. R. Acad. Sci. (Paris), 1964, vol. 259, p. 4177—4190.
- Dutton R. W., Falkoff R., Hirst J. A. Is there evidence for a nonspecific diffusible chemical mediator from the thymus-derived cell in the initiation of the immune response? — In: Progress in Immunology. New York, 1974, vol. 4, p. 355—370.
- Edelman G. M. Antibody straction and molecular immunology.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1971, vol. 9, p. 3197—3205.
- Ehrlich P. On immunity with special reference to cell life.— Proc. roy. Soc. B, 1900, vol. 66, p. 424—432.
- Eisen H. N. Immunology.— Philadelphia: Harper and Row Publ., 1980.
- Erb P., Feldman M. The role of macrophage in the generation of T helper cells. II. The genetic control of the macrophages-T cell interaction for helper cell induction with soluble antigen.— J. exp. Med., 1975, vol. 142, p. 460—471.
- Erb P., Feldman M., Hogg N. Role macrophages in the generation of the T helper cells. III. Naturally genetically-related factor derived from macrophage incubated with soluble antigens.— Europ. J. Immunol., 1976, vol. 6, p. 365—372.
- Feldman M. Antigen specific T cell factors and their role in the regulation of T-B interaction.— In: The immune system, genes, receptors and signals. New York—London, 1974, p. 23—32.
- Fougereau H., Bourgois A., Preval C. De conservation parallèle des regions V et C des immunoglobulines: implications genetigeus et fonctionnelles.— Ann. Immunol., 1974, vol. 125, C, p. 343—364.
- Fudenberg H. H., Pink J. R. L., Stites D. P., An-Chuan Wang. Basic immunogenetics.— New York—London: Oxford Univ. Press, 1972.
- Gally J. A., Edelman G. M. Somatic translocation of antibody genes.— Nature (Lond.), 1970, vol. 227, p. 341—350.
- Good R. A., Fisher D. W. Immunology.— Stamford, 1970.
- Haurowitz F. Immunochemistry and biosynthesis of antibodies.— New York—London: John Wiley and Sons, 1968.
- Hausman P. B., Stobo J. D. Specificity and function of a human autologous reactive T cell.— J. exp. Med., 1979, vol. 149, p. 1537—1551.
- Hellström K. E. Differential behaviour of transplanted mouse lymphoma lines in genetically compatible homozygous and F₁ hybrid mise.— Nature, 1963, vol. 129, p. 5, 613—616.
- Hildemann W. H. Phylogeny of immune responsiveness in invertebrates.— Life Sci., 1974, vol. 14, p. 605—623.
- Hildemann W. H. Specific immunorecognition by histocompatibility markers: the original polymorphic system of immunoreactivity characteristic of all multicellular animals.— Immunogenetics, 1977, vol. 5, p. 193—202.

- Hilschman N., Barnicol H. U., Kpatzin H. et al. Genetic determination of ~~antibody~~ body specificity.—*Naturwissenschaften*, 1978, Bd 65, S. 616—628.
- Hood L., Campbell J. H., Elgin S. C. F. The organization, expression and evolution of antibody genes and other multigene families.—*Ann. Rev. Genet.*, 1975, vol. 9, p. 305—331.
- Jerne N. K. The natural selection theory of antibody formation.—*Proc. nat. Acad. Sci. USA*, 1955, vol. 41, p. 848—866.
- Jones P. P., Murphy D. B., McDevitt H. O. Two-gene control of the expression of a murine Ia antigen.—*J. exp. Med.*, 1979, vol. 148, p. 925—939.
- Kabat E. A. Structural concepts in immunology and immunochemistry.—*New York: Holt, Rinehart & Winston*, 1976.
- Katz D. H. Interactions between T and B lymphocytes in immune responses.—*J. invest. Derm.*, 1975, vol. 65, p. 349—359.
- Klein J. Biology of mouse histocompatibility-2 complex.—*New York: Springer Verl.*, 1975.
- Klein J. H-2 mutations: their genetics and effects on immune function.—*Advanc. Immunol.*, 1978, vol. 26, p. 56—101.
- Klein J., Juretic A., Baxevanis N., Nagy Z. A. The I region of the mouse H-2 complex: a reinterpretation.—*Period. Biologorum*, 1981, vol. 83, p. 273—281.
- Landsteiner K. Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschliche Blutetes.—*Klin. Wschr.*, 1901, Bd 14, S. 1132—1137.
- Landsteiner K. The specificity of serological reaction.—*Cambridge: Harvard*, 1944.
- Lengerová A., Zelený V., Hasková M., Hilger J. Search for the physiological function of H-2 gene products.—*Europ. J. Immunol.*, 1977, vol. 7, p. 62—71.
- McKenzie J. F. C., Potter T. Murine lymphocyte surface antigens.—*Advanc. Immunol.*, 1979, vol. 29, p. 179—201.
- Marchalonis J. J. Lymphocyte surface immunoglobulins.—*Science*, 1975, vol. 190, p. 20—31.
- Marchalonis J. J. Surface immunoglobulins on the B and T lymphocyte. *Contemp. Topics. Mol. Immunol.*, 1976, vol. 15, p. 101—118.
- Meruelo D., Edidin M. The biological function of the major histocompatibility complex: hypotheses.—*Contemp. Topics Immunobiol.*, 1980, vol. 9, p. 231—253.
- Miller J. F. A. P., Vadas M. A., Whitelaw A. et al. Role of the major histocompatibility complex gene products in delayed type hypersensitivity.—*Proc. nat. Acad. Sci. USA*, 1976, vol. 73, p. 2486—2491.
- Mitchison N. A. The carrier effect in the secondary response to hapten-protein conjugates. II. Cellular cooperation.—*Europ. J. Immunol.*, 1971, vol. 1, p. 18—27.
- Mosier D. E., Coppleson N. N. A three-cell interaction required for the induction of the primary response in vitro.—*Proc. nat. Acad. Sci. USA*, 1968, vol. 61, p. 542—553.
- Mozes E. Cellular and molecular analysis of genetic control of the immune response in mice.—*In: Progress in Immunology. Amsterdam-Oxford*, 1974, vol. 5, p. 191—201.
- Munro A. J., Taussig M. T. Two genes in the major histocompatibility complex control immune response.—*Nature*, 1975, vol. 256, p. 103—106.

- Murphy D. B., Jones P. P., Loken M. R., McDevitt N. O. Interaction between I region loci influences the expression of a cell surface Ia antigens.— Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1980, vol. 77, p. 5404—5409.
- Nuttall G. H. F. Blood immunity and blood relationships.— London: Cambridge Univ. Press, 1904.
- Parrott D. V., De Souse M. Thymus-dependent and thymus-Independent population: origin, migratory patterns and life span.— Clin. exp. Immunol., 1971, vol. 8, p. 663—684.
- Parrott D. V., De Sousa M., Ecast J. Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice.— J. exp. Med., 1966, vol. 123, p. 191—204.
- Paul W., Shevach E. M., Pinckeral S. et al. Independent populations of primed F₁ guinea pig T lymphocytes respond to antigen-pulsed parental exudate cells.— J. exp. Med., 1977, vol. 151, p. 1103—1111.
- Piers C. W., Kapp J., Benacerraf B. Regulation by the H-2 gene complex of macrophage-lymphocyte cell interactions in secondary antibody response in vitro.— J. exp. Med., 1976, vol. 144, p. 371—382.
- (Poljak R.) Поляк Р. Исследование пространственной структуры иммуноглобулинов.— В кн.: Иммуноглобулины. М., 1981, с. 9—58.
- Polliak A., Lampen N., Clarkson B. D., De Harven E. et al. Identification of human B and T lymphocyte by scanning electron microscopy.— J. exp. Med., 1973, vol. 138, p. 667—679.
- Putnam F. W., Florent G., Paul C., Shinoda T., Shimizu A. Complete amino acid sequence of the mu heavy chain of a human IgM immunoglobulin.— Science, 1973, vol. 182, p. 287—291.
- Rosenthal A. S., Shevach E. Function of macrophage in antigen recognition by guinea pig lymphocytes. I. Requirement for histocompatibility.— J. exp. Med., 1973, vol. 138, p. 1194—2004.
- Ryder L. P., Svejgaard A., Dausset J. Genetics of HLA disease association.— Ann. Rev. Genet., 1981, vol. 15, p. 169—187.
- Sakano H., Maki R., Kurosawa Y., Roeder W., Tonegawa S. Two types of somatic recombination are necessary for the generation of complete immunoglobulin heavy chain genes.— Nature, 1984, vol. 286, p. 676—680.
- Sakano H., Roders J. H., Hüppi K. et al. Domains and the hinge region of an immunoglobulin heavy chain are encoded in separate DNA segments.— Nature, 1979, vol. 277, p. 627—630.
- Sela M. The antigens.— New York: Acad. Press, 1974.
- Sell S. Immunology, immunopathology and immunity.— New York — London: Harper and Row Publ., 1980.
- Shevach E. M. The function of macrophages in antigen recognition by guinea pig T lymphocytes. III. Genetic analysis of the antigens mediating macrophage-T lymphocytes interaction.— J. Immunol., 1976, vol. 116, p. 1482—1495.
- Shearer G. M., Rehn T. G., Schmitt-Verhulst A. M. Role of murine major histocompatibility complex in the specificity of in vitro T cell mediated lympholysis against chemically modified autologous lymphocytes.— Transplant. Rev., 1976, vol. 29, p. 222—247.
- Snell G. D. The genetics of transplantation.— J. nat. Cancer. Inst., 1953, vol. 14, p. 691—701.

- Snell G. D., Dausset J., Mathenson S.* Histocompatibility.— New York: Acad. Press, 1976.
- Till J. E., McCulloch E. A.* A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells.— *Radiol. Res.*, 1961, vol. 14, p. 213—222.
- Tomasi T. B. Jr.* The gamma-A globulins: first line of defence.— In: *Immunology*/Ed R. A. Good, D. W. Fisher. Stamford, 1970, p. 321—352.
- Uhr J. W., Vitetta E. S.* Immunoglobulins of the surface of lymphocytes.— *Fed. Proc.*, 1973, vol. 32, p. 35—47.
- Unanue E. R.* The regulatory role of macrophages in antigenic stimulation.— *Advanc. Immunol.*, 1972, vol. 15, p. 95—117.
- Unanue E. R., Perkins W. D., Karnovsky M. J.* Endocytosis by lymphocytes of complexes of anti-Ig with membrane bound Ig.— *J. Immunol.*, 1972, vol. 108, p. 569—588.
- Van Bekkum D. W., Noord M. J., Maat B. et al.* Attempts on identification of hemopoietic stem cell in mouse.— *Blood*, 1971, vol. 38, p. 547—558.
- Warr G. W.* Membrane immunoglobulins of vertebrate lymphocytes.— *Contemp. Topics Immunobiol.*, 1980, vol. 9, p. 131—170.
- Yoffey J. M., Courtice F. C.* Lymphatic, lymph and lymphoid tissue.— London: Univ. Press, 1970.
- Zinkernagel R. M., Doherty P. C.* MHC-restricted cytotoxic T cells: studies on the biological role of polymorphic major transplantation antigens determining T-cell restriction, specificity, function and responsiveness.— *Advanc. Immunol.*, 1979, vol. 27, p. 51--82.

GALAKTIONOV V. G. *Graphic models in immunology.*— M., Meditsina, 1986.

The book contains drawings, diagrams and tables designed to provide the easy-to-understand presentation of modern immunology essentials. The graphic material deals with a number of problems of general immunology. The author gives an account of the nature of antigenicity and immunogenicity, structure, functions and genetics of the immunoglobulins, cellular organization of the immune system, interaction of the cells, genetics of the immune response, onto- and phylogenesis of the immune reactivity, causes of antibody variety.

Readership: immunologists and biologists.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Введение	5
Часть I. Молекулярная иммунология	13
Глава 1. Антигены	13
Глава 2. Иммуноглобулины: структура, функция, генетический контроль	23
Часть II. Клеточная иммунология	44
Глава 3. Клетки и органы иммунной системы	44
Глава 4. Иммунный ответ и взаимодействие клеток	80
Глава 5. Главная система гистосовместимости	124
Глава 6. Взаимодействие генетически отличающихся клеток и проблема распознавания антигена	144
Глава 7. Генетический контроль иммунного ответа	178
Часть III. Сравнительная иммунология	192
Глава 8. Эмбриогенез иммунной реактивности	192
Глава 9. Эволюция иммунитета	197
Часть IV. Теории разнообразия антител	217
Заключение	226
Список литературы	232

CONTENTS

Preface	3
Introduction	5
Section I. Molecular immunology	13
Chapter 1. Antigens	13
Chapter 2. Immunoglobulins: structure, functions, genetic control	23
Section II. Cellular immunology	44
Chapter 3. Cells and organs of immune system	44
Chapter 4. Immune response and interaction of cells	80
Chapter 5. Major histocompatibility system	124
Chapter 6. Interaction of genetically differing cells and antigen recognition	144
Chapter 7. Genetic control of immune response	178
Section III. Comparative immunology	192
Chapter 8. Embryogeny of immune reactivity	192
Chapter 9. Evolution of immunity	197
Section IV. Theories of antibody variety	217
<i>Conclusion</i>	226
References	232

Монография

ВАДИМ ГЕЛИЕВИЧ ГАЛАКТИОНОВ

Графические модели в иммунологии

Зав. редакцией *Ю. В. Махотин*. Редактор *Е. А. Гоголина*.
Художественный редактор *О. А. Четверикова*. Художник *С. П. Кузнецова*.
Технический редактор *В. И. Табенская*. Корректор *Т. Л. Григорьева*

ИБ № 4505

Сдано в набор 09.12.85. Подписано к печати 10.11.86. Т-21508. Формат бумаги 60×90/16. Бумага офсетная № 1. Гарнитура обычн. Печать офсет. Усл. печ. л. 15,00. Усл. кр.-отт. 60,25. Уч.-изд. л. 12,54. Тираж 6500 экз. Заказ № 10430. Цена 2 р. 10 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина». 101000, Москва, Петровверигский пер., 6/8.

Ордена Трудового Красного Знамени типография издательства «Звезда». 614600, г. Пермь, ГСП-131, ул. Дружбы, 34.

