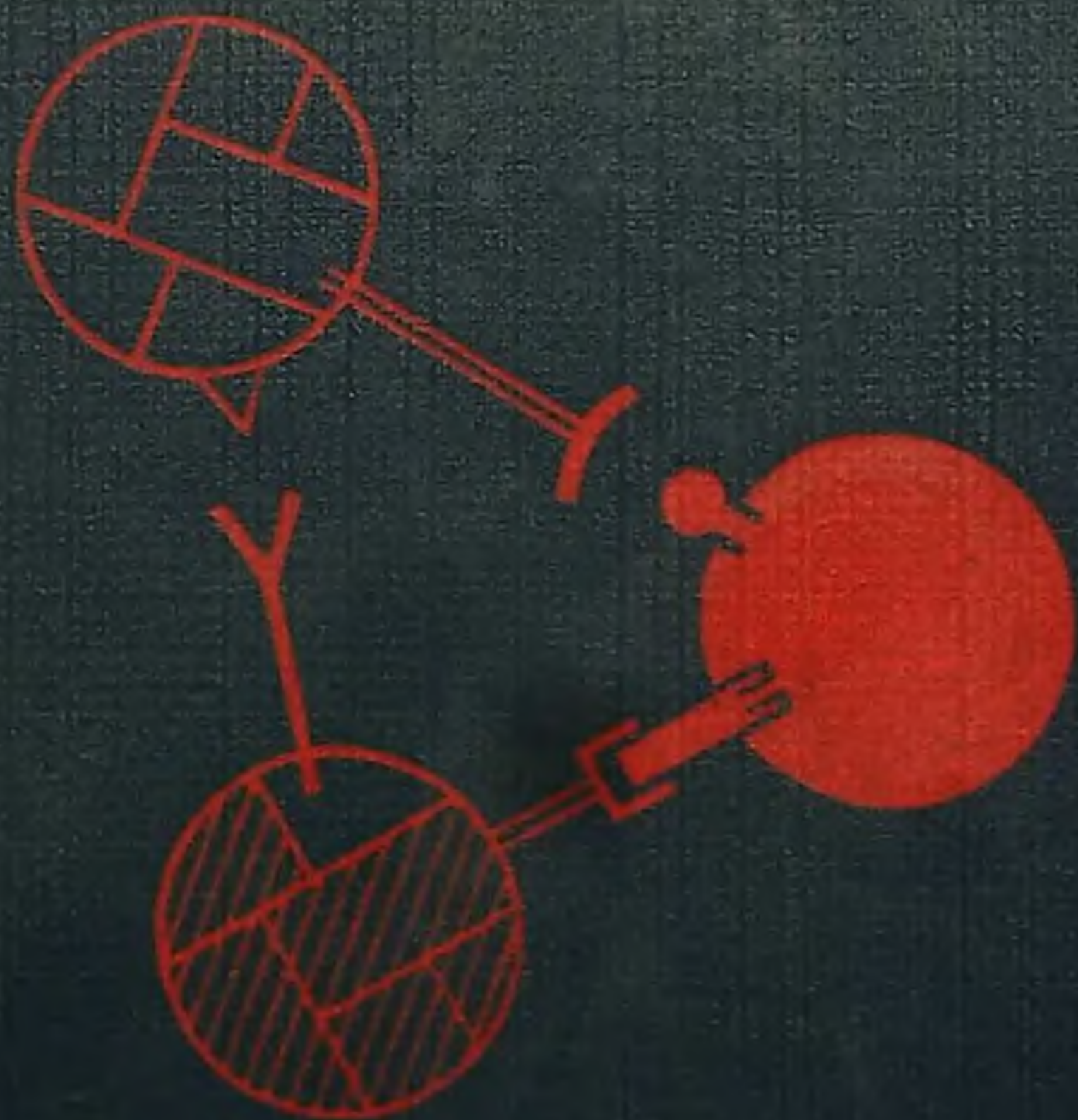


БД 014

Б. 225

Б.Д.Брондз

Т-лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании



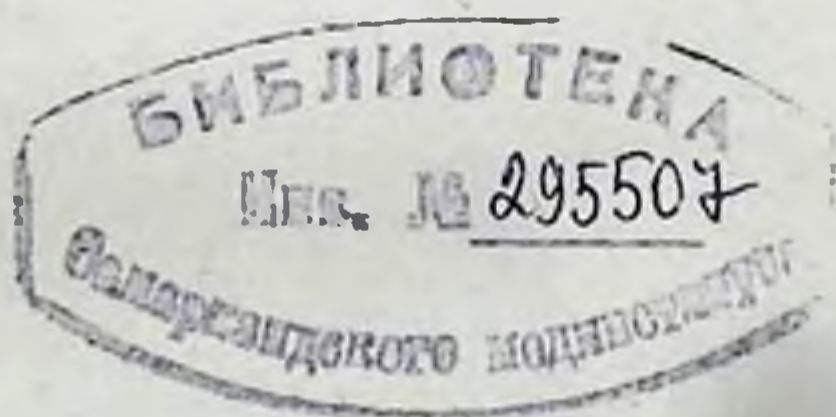
•Наука•

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ БЕЛКА

Б.Д.Брондз

Т-лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании

Ответственный редактор
доктор биологических наук
А. В. ЗЕЛЕНИН



МОСКВА «НАУКА»
1987

Брондз Б. Д. Т-лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании.— М.: Наука, 1987.

Монография посвящена физиологии лимфоидных клеток тимусного происхождения (Т-лимфоцитов). Она включает достижения последних лет в раскрытии механизмов распознавания чужеродных антигенов, регуляции и реализации множества иммунологических функций разнообразными субклассами Т-лимфоцитов человека и инбредных линий животных. Изучение указанных проблем стало возможным благодаря развитию современной иммунобиотехнологии. Проведен анализ структуры молекул (и генов) главного комплекса гистосовместимости, природы и клинических следствий их ассоциации с чужеродными белками. Изложены этапы и закономерности созревания Т-лимфоцитов внутри и вне тимуса, индивидуальность свойств Т-субклассов, маркеры их мембраны, структурная организация и разнообразие репертуара их рецепторов, особенности распознаваемых ими детерминант в молекуле белка, природа лимфокинов и их взаимодействие с рецепторами мембраны на ранних этапах распознавания антигена. Принципиально новые концепции автора перспективны для направленного усиления и подавления каждого из тонких вариантов иммунного ответа в отдельности.

Рассчитана на иммунологов, молекулярных биологов, генетиков, трансплантологов, мембранологов, цитологов, онкологов, онковирусологов, генных инженеров, гематологов, а также на клиницистов.

Ил. 38. Табл. 47. Библиогр. на 68 с.

Рецензенты:

О. В. РОХЛИН, О. И. ЕПИФАНОВА

ВВЕДЕНИЕ

Содержание и смысл настоящей монографии не имеют прямого отношения к прежней классической иммунологии, объектами исследования которой являются структура и синтез иммуноглобулинов, функции антигенсвязывающих рецепторов В-лимфоцитов, закономерности их дифференцировки и взаимодействия с другими клетками и, наконец, множество прикладных аспектов использования антител в медицине. В действительности антитела — это конечный результат иммунологического процесса, а короткоживущие плазматические клетки, синтезирующие антитела, — лишь один из конечных этапов многоходовой клеточной дифференцировки. Между проникновением антигена в лимфоидную систему и образованием антител происходит множество сложных событий, которые еще 20 лет назад представляли собой «черный ящик», обозначенный как «инкубационный период».

Хотя способность отличать свое от несвоего — ключевая функция иммунитета, ее экспериментальное изучение стало возможным лишь в 60-х годах в связи с возникновением методов, которые позволили количественно и объективно с помощью воспроизводимых радиоизотопных тестов *in vitro* оценивать функциональную активность каждой из субпопуляций лимфоцитов в отдельности. Выяснилось, что распознавание чужеродного антигена и образование антител — это два процесса, которые полностью разобщены и во времени, и в пространстве: за первый процесс ответственны клетки тимусного происхождения — Т-лимфоциты, которые не синтезируют иммуноглобулинов, созревают в тимусе независимо от дифференцировки В-клеток, образующих антитела, и, как правило, не нуждаются в иммуноглобулинах для выполнения своей функции. Изучение разнообразия субклассов Т-лимфоцитов, тонкой регуляции их взаимодействия и механизмов реализации их функций привело к возникновению новой науки — физиологии лимфоидных клеток, полностью отличающейся от иммунологии В-клеток по проблемам, методам и характеру «Т-клеточного мышления».

В основной области этой науки — Т-клеточном распознавании — сделаны фундаментальные открытия в отношении того, что, кем и как распознается. Существенное достижение этой области — установление факта, что объектом распознавания для основных субпопуляций Т-клеток — помощников, активирующих иммунный ответ (индукторов, амплифайеров, хелперов Т-В), и эффекторных Т-лимфоцитов — является не сама молекула чужеродного белка, а ее комплекс с собственной молекулой бел-

ка — продуктом главного комплекса гистосовместимости (МНС)¹ того организма, куда проник данный антиген. Это означает, что чем бы ни производилась иммунизация — вирусами или микроорганизмами, химическими реагентами (гаптенами), аутоантигенами, специфическими опухолевыми антигенами, чужеродными эритроцитами или растворимыми белковыми антигенами, — во всех случаях они ассоциируются на поверхности клетки с определенными продуктами МНС. Такие клетки, презентрующие антиген (КПА), собственные продукты МНС которых контактируют или располагаются на плазматической мембране рядом с данным антигеном (или его фрагментом), активируют Т-лимфоциты того же организма, а также служат мишенью для возникающих затем эффекторных Т-лимфоцитов. Таким образом, именно молекулы МНС определяют возможность индукции иммунного ответа и генетическую рестрикцию его реализации.

В связи с этим центральная проблема, проходящая красной нитью по всем разделам данной монографии, — природа генетической рестрикции иммунологического распознавания, включающая: генетическую основу, молекулярную структуру и функциональные свойства продуктов МНС; условия и последствия возникновения генетической рестрикции Т-клеток в онтогенезе и в ходе их антигензависимой дифференцировки; варианты генетической рестрикции и их возможные механизмы; роль генетической рестрикции во взаимодействии различных Т-субклассов, регуляции их активности и реализации их функций; молекулярные основы ассоциации антигена с продуктами МНС; идентификацию рецепторов Т-лимфоцитов, распознающих эти комплексы, их биологические особенности, разнообразие вариантов и возможную молекулярную структуру.

При рассмотрении всех этих проблем автор придерживается принципа: внутри данного «внешнего» феномена, как правило, существуют варианты (иногда в большом количестве), различающиеся индивидуальностью механизмов, каждый из которых требует экспериментального анализа. Установление существенных различий между этими вариантами является необходимым условием для понимания общей закономерности, если она действительно существует в данном случае. Разнообразие свойств и механизмов характеризует любой иммунологический феномен — толерантность, факторы роста и дифференцировки Т- и В-клеток, природу антигенсвязывающих рецепторов Т-клеток и многие другие. Поскольку, однако, генетическая рестрикция иммунологического распознавания основана на системе продуктов МНС, в первую очередь трансплантационных антигенов, классическая трансплантационная иммунология заложила фундаментальную основу изучения Т-клеточного распознавания.

¹ Major Histocompatibility Complex.

ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ И УЧАСТИЕ ЕГО ПРОДУКТОВ В РАСПОЗНАВАНИИ АНТИГЕНОВ

I.1. Основные свойства продуктов МНС и их биологическая роль

I.1.1. Особенности кодируемых МНС аллоантигенов

Трансплантация органов и тканей, возникшая как медицинская проблема, оказалась в центре внимания иммунологов в 50-х годах, а за последние годы превратилась в одну из центральных проблем биологии. Связь трансплантационной иммунологии с медициной еще более укрепилась благодаря возникновению совершенно новых аспектов, значительно более фундаментальных, чем пересадка органов.

Как известно, центральным феноменом при трансплантации является неизбежное отторжение фрагмента ткани (например, трансплантата кожи), который после пересадки от одной особи к другой вначале полностью приживается, а затем гибнет. Интерес к механизмам этого процесса в разные годы развития трансплантационной иммунологии был обусловлен разными причинами. В 1936—1938 гг. Питер Горер обнаружил существование генетического локуса, названного «локус Н-2» (Н от слова *Histocompatibility*), который контролирует быстрое отторжение опухоли, пересаженной внутри вида — между мышами двух инбредных линий, установил закономерности наследования этого локуса и получил данные о существовании его продукта — «антигена Н-2», выявляемого после аллотрансплантации с помощью аллоантител. Лишь 18 лет спустя (1954—1956 гг.) П. Горер и сотр. разработали уникальные и высокочувствительные серологические методы (декстрановая гемагглютинация и лимфоцитотоксическая реакция) выявления аллоантигенов Н-2 на поверхности эритроцитов и лимфоцитов мышей. В 1952—1958 гг. Дж. Снеллом выведены конгенно-резистентные линии мышей, идентичные по генетической основе и различающиеся только одним из Н-локусов, локализованных в различных хромосомах. Это позволило не только подтвердить открытие П. Горера, но и четко сформулировать основные законы трансплантации (в том числе кодоминантное наследование локусов Н-2 у гибридов F_1) и установить, что из множества Н-локусов (более 40) только

МНС [комплекс H-2 в XVII хромосоме мыши и HLA (human lymphocyte antigen) в VI хромосоме человека] контролирует быстрое (до 14-го дня) отторжение трансплантата. Мощный поток исследований 50-х и начала 60-х годов (Биллингхем, Брент, Медавар, Гашек, Эймос, Митчисон, Калисс, Гоуанс и многие другие) показал, что продукты МНС индуцируют иммунологическую толерантность к аллотрансплантату у новорожденных и образование специфических лимфоцитов, вызывающих отторжение трансплантата у взрослых животных, тогда как антитела, специфичные к тому же продукту МНС, напротив, способствуют приживлению солидного трансплантата (опухоли или кожи). Последующее изучение пространственной и химической структуры антигенов H-2 и HLA, первичной аминокислотной последовательности этих молекул, их локализации в органах, биологических свойств, антигенных детерминант и, наконец, структуры и функции МНС, кодирующего эти белки, привело к неожиданным результатам и вызвало новую волну интереса к контролируемым МНС белкам.

Оказалось, что молекулы H-2 характеризуются уникальными свойствами, отличающими их от других белковых молекул плазматической мембраны. Во-первых, они универсальны, т. е. одни и те же аллоантигены экспрессированы на плазматической мембране клеток почти всех органов и тканей данного индивидуума, за исключением ранних эмбриональных клеток — нормальных или злокачественных (тератом). Количество аллоантигенов в клетках сильно варьирует в зависимости от типа ткани [1043, 1514], достигая высокой плотности (10^5 молекул на клетку) в мембране лимфоцитов, клеток эпителия и эндотелия [482].

Универсальность экспрессии аллоантигенов удивительна, поскольку в отличие от широко распространенных белков мембранной матрицы они не требуются для нормальной физиологии мембраны: редкие клетки, лишенные аллоантигенов (мутантные клетки некоторых опухолей и ранних эмбрионов), полностью сохраняют свои физиологические свойства.

Во-вторых, их отличает беспрецедентный полиморфизм внутри вида. Каждый из двух локусов класса I—H-2K и H-2D, входящих в состав гаплотипа² МНС (гл. 1.2.2), по-видимому, имеет 100-аллельное представительство внутри вида. У лабораторных мышей комбинации этих аллелей выявляются в виде 52 гаплотипов (12 из них полностью различны), а у диких мышей — 2500 гаплотипов, причем 95% диких мышей являются гетерозиготными, т. е. несут разные аллели каждого K/D локуса на парных хромосомах. Этим, однако, полиморфизм антигенов H-2 не исчерпывается, поскольку: а) продукты некоторых аллелей локусов H-2K и H-2D неоднородны, так как описаны ва-

² Гаплотип — набор генов (или их продуктов), полученный от одного из родителей.

рианты белков, кодированных одним аллелем [447], что может быть связано с неоднородностью генов внутри данного локуса или с посттрансляционными изменениями молекул (гл. I.3.2.4); б) острое отторжение аллотрансплантата вызывается реакцией не только на антигены H-2K и H-2D, но и на другие продукты МНС класса I и класса II (гл. I.2.2), каждый из которых имеет свою степень полиморфизма [1044]; в) помимо основных выявлены «минорные» аллели — более 30 спонтанных мутаций у инбредных линий мышей, связанных с малыми заменами аминокислот (АК) в молекуле H-2 [1447, 2265]³; г) белковые продукты основных K/D аллелей различаются по первичной структуре на 15—20% [384] (что составляет 40—50 остатков АК), создавая экстраординарную вариабельность молекул одного типа.

В-третьих, аллоантигенные продукты данного гаплотипа H-2 вызывают пролиферативную реакцию непропорционально большой доли (от 1 до 12%) клеток [599]. Хотя частота предшественников цитотоксических Т-лимфоцитов (пЦТЛ), реагирующих на продукты данного гаплотипа H-2, несколько ниже (0,2—1%, гл. III.2.5), она тем не менее превышает более чем в 20 раз частоту пЦТЛ, реагирующих на другие (не H-2) антигены [2165]. Высокая частота Т-клеток, реагирующих на аллоантигены одного гаплотипа H-2, не связана со множеством молекул, кодируемых данным гаплотипом: клетки мутанта одной молекулы K^b индуцируют ЦТЛ в Т-клетках дикого типа (т. е. исходного гаплотипа) с такой же высокой частотой, как и обычные аллогенные клетки-стимуляторы, отличающиеся от реагирующих лимфоцитов продуктами всего МНС [2230]. Учитывая число известных гаплотипов и описанное выше разнообразие антигенов H-2, а также клональную структуру реагирующих на них Т-клеток (гл. V.3.2), легко подсчитать, что для Т-клеток, реагирующих на «нетрансплантационные» антигены, просто не остается места.

С этим связана четвертая уникальная особенность антигенов H-2: только они вызывают первичный пролиферативный ответ нормальных лимфоцитов *in vitro* (в смешанной культуре лимфоцитов)⁴; все остальные антигены [не только вирусы, гаптены, эритроциты, растворимые белковые молекулы, но и иные (не H-2) белки клеточной мембраны] распознаются при условии их ассоциации с антигенами H-2 на поверхности живых клеток-стимуляторов (гл. III.1; гл. V.3.4).

В-пятых, одни и те же кодируемые МНС молекулы не только служат аллоантигенами, т. е. являются объектом распознавания при трансплантации, но и входят в состав антигенраспоз-

³ Частота мутаций ($2,2 \cdot 10^{-4}$ на гамету) одного из этих генов — K^b — максимальна среди генов млекопитающих (следует иметь в виду, что количество «минорных» аллелей K/D у диких мышей не известно).

⁴ Mixed lymphocyte culture (MLC) — тест на первичное иммунологическое распознавание в культуре *in vitro* (гл. III).

нающих структур — специфических факторов различных Т-субклассов (гл. IV.1).

И, наконец, в-шестых, хотя иммуноглобулины (Ig) контролируются генами другого хромосом и не имеют отношения к индукции трансплантационного иммунитета, они родственны аллоантигенам мышей и человека: обнаружено их сходство по структурной организации молекулы, состоящей из двух цепей, кодируемых несцепленными генами [384], по последовательности АК примембранных доменов тяжелых цепей (35—40%-ная гомология с константными доменами Ig [2094, 1075, 1137]), по нуклеотидной последовательности генов, кодирующих константные участки тяжелых цепей [1947]. Вполне возможно, что гены, кодирующие эти столь разные по функции белки, произошли из одного общего предкового гена, который контролировал примитивную распознающую молекулу.

I.1.2. Природные функции продуктов МНС: обеспечение индивидуальности, иммунореактивности и сохранения вида

При знакомстве с необычными свойствами антигенных молекул Н-2, естественно, встает вопрос об их функции в организме. Если вспомнить, что пересадка тканей, которая позволила обнаружить эти молекулы, не является природным процессом, то каковы же эволюционные механизмы, позволяющие сохранить и широко распространить аллоантигены?

Ответ на вопрос открыл новую область в биологии, поскольку он позволил перейти от умозрительных гипотез к реальному изучению таких в недавнем прошлом натурфилософских проблем, как механизм узнавания чужого, чувствительность и резистентность индивидуумов к тем или иным инфекциям, аутоиммунным процессам и опухолевым заболеваниям, природа межклеточной кооперации субпопуляций лимфоцитов и генетической рестрикции их функций. В основе этих процессов, как стало выясняться начиная с 1974 г., лежит способность Т-клеток распознавать главным образом или исключительно продукты МНС — не только чужеродные (аллогенные), но и свои (сингенные), «модифицированные» другими молекулами — гаптенем [1835] или вирусом [2313]. В результате ассоциации антигена с продуктом МНС собственного организма либо возникает новая «измененная своя» структура (включающая природный неизмененный продукт МНС), распознаваемая рецептором Т-клетки как чужеродная, либо эти две расположенные рядом на поверхности КПА детерминанты (собственный продукт МНС и чужеродный антиген) одновременно распознаются двумя сцепленными рецепторами Т-клетки (гл. V.3.3; V.4.5).

Именно это «сцепленное распознавание» определяет важнейшую функцию МНС каждого индивидуума — «персональную» иммунную реактивность к данному антигену, от которой

зависит индивидуальная чувствительность и резистентность к определенным инфекционным и аутоиммунным процессам. Эта индивидуальная реактивность определяется генами иммунного ответа в структуре МНС, функция которых реализуется у человека через уникальный для каждого индивидуума набор антигенов HLA. Этим объясняется тесная корреляция между наличием или отсутствием у данного индивидуума данного аллеля HLA и частотой определенных инфекций (и других заболеваний), связанных с активностью эффекторных Т-лимфоцитов, иммунных, например, к вирусам гриппа [1327] или Эпштейна—Барр (возбудителя инфекционного мононуклеоза [1204, 1420]). Более того, Т-лимфоциты разных членов одной семьи реагируют на вирус гриппа разных типов (А или В) в зависимости от того, какой из аллелей HLA имеется у данного члена семьи [1834]. Отсутствие кариеза у 3% людей связано с наличием у них определенного варианта HLA, который ассоциируется на поверхности КПА с очищенным антигеном стрептококка, что приводит к распознаванию последнего Т-хелперами того же индивидуума и выработке хелперного фактора, способствующего развитию иммунитета к стрептококку и его деструкции [1165]. От присутствия в определенных локусах данных аллельных вариантов зависит образование ЦТЛ, специфичных к модифицированным гаптенем сингенным клеткам [1469] — реакции, с которой связано возникновение профессиональных дерматитов.

Частота аутоиммунных процессов — рассеянного склероза [2169], миастении гравис [366], ревматоидного артрита и красной волчанки [657] — высоко коррелирует с экспрессией определенных продуктов МНС у человека и мышей, что может быть использовано для выявления у здоровых людей предрасположенности к данному аутоиммунному заболеванию [1311]. Для изучения механизмов такой корреляции очень важны экспериментальные модели: возникновение у некоторых детей энцефалопатии после введения коклюшной вакцины может быть воспроизведено у инбредных мышей только при определенном гаплотипе их МНС [1944]. Введение мышам антител к соответствующим антигенным продуктам МНС предотвращает развитие экспериментальной миастении гравис и других аутоиммунных заболеваний (гл. III.5.2).

Приведенные данные позволяют предположить, что описанные свойства молекул МНС, в том числе их исключительный полиморфизм, необходимы не только для иммунной реактивности, но и для сохранения вида: если бы все особи данного вида несли одни и те же продукты МНС, весь вид был бы резистентен только к некоторым, одним и тем же инфекциям, что привело бы к его вымиранию. По-видимому, второе условие сохранения вида — поддержание индивидуальности особей, которое касается не только разнообразия их резистентности к инфекциям. В связи с этим уместно вспомнить о высокой корреляции наличия определенных продуктов МНС с такими признаками, как

уровень тирондного гормона и андрогена, плотность рецепторов к глюкокортикоидам и другим гормонам, экспрессия секс-антигена (продукта Y-хромосомы), вес яичек, предпочтение спаривания самки мыши с самцом иного гаплотипа H-2 [2266, 244]. Последнее свойство является следствием вариантов мочевого запаха, который обусловлен «хемосенсорной» молекулой — секреторным продуктом одного из генов MHC.

Можно полагать, что третье условие сохранения вида — обеспечение надежности надзора и элиминации клеток, несущих на своей поверхности чужеродные (или несвойственные данным клеточным мембранам) структуры. Для этого необходимо разнообразие распознающих рецепторов, представленных на разных функциональных категориях лимфоидных клеток (или в структуре продуцированных ими медиаторов), а также разумная регуляция их активности. Функция такой сложной машины, по видимому, также обеспечивается комплексной структурой MHC и полиморфизмом его продуктов, которые входят в состав распознающих структур медиаторов, продуцированных T-субклассами (гл. IV.1.; IV. 2.5.4) (в связи с этим отмеченное выше сходство молекул Ig и продуктов MHC представляется не случайным). Возникающая таким образом неоднородность антиген-связывающих участков внутри вида сочетается с генетически детерминированной стабильностью MHC в каждом индивидууме, что определяет надежность системы.

Еще одно условие, необходимое для сохранения вида, — контроль (ограничение) пролиферации однородных клеток, для которого, в свою очередь, необходима идентичность некоторых молекул клеточной мембраны между контролирующими клетками (супрессорами) и контролируемыми клетками-мишенями (КМ). Хотя этот феномен («интеракционная рестрикция») только начинает изучаться, установлено, что функцию таких контролирующих молекул выполняют определенные продукты MHC (гл. IV.2.4.4).

Выполнение этих важнейших функций — обеспечение индивидуальности, иммунореактивности и сохранение вида именно продуктами MHC — может быть обусловлено прямой связью их уникального полиморфизма с высокой количественной экспрессией на мембране клеток. Такое представление прямо подтверждено при трансфекции различных экзонов гена молекулы H-2 (гл. I.3.2.4): только экзон варибельного N-домена этой молекулы контролирует высокую степень ее количественной экспрессии [2207].

1.2. Структура МНС и функции его районов и субрайонов

1.2.1. Рекомбинантные линии мышей как инструмент исследования

Наши знания о признаках, кодируемых МНС, получены благодаря выведению инбредных линий мышей, конгенных по комплексу H-2. Мыши конгенных линий идентичны стандартной линии (например, B10) по всему геному, отличаясь от нее определенным участком комплекса H-2 XVII хромосомы. В настоящее время исследователи имеют дело с 12 не повторяющимися по своей структуре (независимыми) гаплотипами H-2 лабораторных мышей, 4 из которых — b, d, k, s — представлены в табл. 1 соответственно линиями B10, B10.D2, B10.BR и B10.S⁵. С помощью таких линий выявляются признаки, контролируемые именно комплексом H-2, поскольку все остальные признаки этих мышей, кодируемые одной и той же генетической основой, идентичны.

Однако комплекс H-2 имеет общую протяженность 2 млн. о., не более 10% которых экспрессируется (гл. 1.3.2.4), и включает много локусов, кодирующих разные признаки. Установить генетическую структуру комплекса H-2 удалось благодаря получению мышей рекомбинантных линий (более 100), что дает возможность подобрать пары линий, различающиеся лишь по некоторым генам (или даже по единичному гену) комплекса H-2, и выявить именно тот признак (а затем выделить соответствующий белковый продукт и получить антитела к нему), который, будучи кодирован данным неидентичным участком комплекса, различает эти две линии. Общий список линий и характеристика их гаплотипа H-2 приводятся в работе [1045].

Результатом этой серии исследований явилась идентификация структуры комплекса H-2, основные функции которого кодируются двумя периферическими районами — К и D — и центральным I-районом, который можно разделить на 4 субрайона (рис. 1). Обозначение малыми латинскими буквами гаплотипов H-2 (наборов данных аллелей), так же как самих этих аллелей каждого из районов (субрайонов), представлено в табл. 1, где показано распределение аллелей у 12 рекомбинантов между некоторыми родительскими гаплотипами. Наиболее «старый» из них (P₁) — линия A или B10.A (на генетической основе B10), которая получила левую часть комплекса H-2 от мышей СЗН (H-2^k), а правую — от мышей BALB/c (H-2^d) (гаплотип этой линии H-2^a ранее обозначался H-2^{k/d}).

Рекомбинанты P_{2,3,4,5}, полученные при скрещивании линий H-2^b и H-2^a или их гибридов, отличаются друг от друга и от ис-

⁵ 27 независимых гаплотипов комплекса H-2 были идентифицированы у диких мышей после их инбредизации: выведения из них чистых линий на генетической основе линии B10 путем возвратного скрещивания [1044]. Эти линии обозначены B10.W (от слова wild).

Комплексы	K	I	S	D	T
Районы					
Субрайоны		I-A I-J I-E I-C		D L	
Локусы	H-2K	A ₂ A ₃ E ₂ J E ₃ C	S ₂ S ₁ p	H-2D H-2L	Qa1-5 Qa2 Tla
Класс молекул	I	II	III	I	I
Маркерные СО-антигены	K	Ia-1, 2, 8 Ia-4 Ia-7 Ia-6 C'4 S ₁ p		D H-2.28 Qa-2 Qa-1 Qa3-5 TL	
LD-антигены: MLC	+	+++	+	++	+
ЦТЛ алло	+++	++	-	++	-
ЦТЛ син + X	+++	+	-	+	-
Гены: Ir	+	+++	-	+++	-
I _s	-	+++	+++	+++	+++
Маркеры СТС		+	+	+	+
Активность С'			+++	-	-

Таблица 1

Генетическая характеристика некоторых конгенных линий мышей, несущих основные (Осн) или рекомбинантные (Р) гаплотипы Н-2

Линия	Гаплотип Н-2		Аллели районов МНС							Гаплотип родитель- ских линий при реком- бинациях
	обозна- чение	Осн или Р	К	I				С	D	
B10	b	сн	b	b	b	(b)*		b	b	—
B10.D2	d	»	d	d	d	d		d	d	—
B10.BR	k	»	k	k	k	k		k	k	—
B10.A и A	a	P ₁	k	k	k	k		d	d	k/d
B10.A(2R)	h2	P ₂	k	k	k	k		d	b	b/a
B10.A(4R)	h4	P ₃	k	k		b	(b)*	b	b	b/a
B10.A(3R)	i3	P ₄	b	b		b		k	d	b/a
B10.A(5R)	i5	P ₅	b	b		k	k	d	d	b/a
B10.D2(R101)	g1	P ₆	d	d	d	d		d	b	b/d
B10.D2(R107)	i7	P ₇	b	b	b	(b)*		b	d	b/d
B10.S	s	Осн	s	s	s	(s)*		s	s	—
B10.S(7R)	t2	P ₈	s	s	s	(s)*		s	d	s/a
B10.S(9R)	t4	P ₉	s	s		k	k	d	d	s/a
B10.HTT	t3	P ₁₀	s	s		s		k	k	s/al
A.TL	t1	P ₁₁	s		k	k	k	k	d	s/al
A.TH	t2	P ₈	s	s	s	(s)*		s	d	s/a
A.AL	al	P ₁₂	k	k	k	k		k	d	k/d

* Молекула I-E отсутствует в гаплотипах b, s, f, q (гл. 1.3.3.2). Вертикальные линии — место кроссинговера.

ходных линий B10 и B10.A неидентичными участками комплекса Н-2 ввиду того, что кроссинговер при рекомбинации хромосом произошел в разных точках комплекса, как это показано в табл. 1. Так, линия B10.A (2R) отличается от линии B10.A только аллелем D-района (D^b и D^d соответственно) при полной идентичности остальных частей комплекса Н-2, что позво-

←

Рис. 1. Генетическая карта МНС (комплекса Н-2 мыши)

LD (lymphocyte defined) — антигены, определяемые лимфоцитами в МНС (тест — пролиферативная реакция), ЦТЛ, лизирующими аллогенные (ЦТЛ алло) или сингенные КМ, ассоциированные с чужеродным антигеном (ЦТЛ син+Х)

Ig — гены иммунной реактивности, Is — гены иммунной супрессии. С' — комплемент, С'4 — 4-й компонент комплемента. Квадратами обведены локусы, взаимное расположение которых в хромосоме окончательно не установлено. I-J, I-C — неидентифицированные молекулы

ляет получать специфические Т-супрессоры (СТС), реагирующие только с продуктами D-района, изучать их тонкую специфичность и механизмы взаимодействия с другими клетками [276]; то же касается Т-супрессоров анти- K^k , полученных при иммунизации мышей А.ТЛ (P11) клетками А.АЛ (P12), отличающимися от А.ТЛ только аллелем К-района. Линии В10.А (3R) и В10.А (5R) (табл. 1, P_4 и P_5) различаются только аллелем субрайона I-J, что позволяет с помощью реципрокной иммунизации получать анти-I-J антитела как поликлональные [1430], так и моноклональные [980, 2180], выявлять антиген I-J на Т-супрессорах и элиминировать их *in vivo* анти-I-J антителами, усиливая различные виды иммунитета, в том числе противоопухолевый (гл. IV.2.3).

Из табл. 1 также видно, что можно получать ЦТЛ, специфичные к продуктам субрайонов E^k и C^d , при иммунизации В10.D2(R107) анти-В10.А (3R) (остальная часть гаплотипа H-2 у указанных пар линий идентична) и изучать их тонкую специфичность [2152]. Такая же работа в отношении ЦТЛ, специфичных к продуктам только К- и D-районов, была проведена ранее [270, 600, 64]. Реципрокная иммунизация мышей А и А.АЛ (табл. 1, P_1 и P_{12}) позволила показать, что продукт I-C, которым эти две линии различаются, индуцирует пролиферативную реакцию в первичной МЛС, изучить локализацию этого продукта на клетках различных линий [1505] и получить анти-I-C антитела [1763]. Детали и смысл обширной информации, полученной на основе данных, представленных в табл. 1, будут рассмотрены ниже. Но уже сейчас ясно, что одно только наличие рекомбинантных линий мышей позволяет выделять чистые белки, которые кодируются неидентичными аллелями данного локуса, различающимися две рекомбинантные линии, а также направленно менять ход иммунного ответа с помощью антител и различных субклассов эффекторных и регуляторных Т-лимфоцитов определенной специфичности.

1.2.2. Районы и локусы МНС, молекулы трех классов и их основные функции

Первым важнейшим результатом использования рекомбинантных линий было выявление по меньшей мере двух независимых локусов, ответственных за отторжение ткани — H-2K и H-2D (у человека — HLA-A и HLA-B). На рис. 1 видно, что эти два локуса расположены в соответствующих районах (К и D) на периферии комплекса H-2 (район К — ближе к центромере). Позднее было установлено существование еще одного дискретного локуса — H-2L (аналога HLA-C), входящего в состав D-района, расположенного справа от локуса H-2L, и также ответственного за отторжение трансплантата кожи (гл. I.3.1.2).

Между периферическими районами К и D расположены два центральных района — I и S. I-район делится на 4 субрайона —

I-A, I-J, I-E, I-C, хотя гены I-J и I-C до сих пор не идентифицированы и их существование отвергается некоторыми авторами [1045]. Продукты генов указанных районов МНС, в свою очередь, разделяются на три класса, молекулы которых характеризуются определенной химической структурой. К классу I относятся молекулы H-2K, H-2D и H-2L — продукты K- и D-районов, к классу II — молекулы Ia, ассоциированные с I-районом, к классу III — молекулы Ss⁶ и Slp⁷ — продукты S-района. Функциональная и серологическая характеристики этих молекул и их химическая структура будут описаны ниже. Здесь следует указать на некоторые существенные особенности структуры МНС и его продуктов, отраженные на рис. 1. А. Справа от D-района имеется T-район (называемый также «Tla-комплекс»), который включен в МНС в связи с тем, что продукты его локусов Qa и Tla (Qa- и TL-антигены) аналогичны по молекулярной структуре антигенам H-2K/D/L и отнесены к классу I [1042, 1912]. Б. Каждая из молекул классов I и II состоит по меньшей мере из двух цепей (тяжелой и легкой), кодируемых разными генами, причем в пределах МНС находится ген, кодирующий только тяжелую цепь молекул класса I. В. Два гена, кодирующие соответствующие цепи — тяжелую (α) и легкую (β) — Ia-молекул (класс II), расположены в пределах МНС — либо в одном субрайоне I-A (цепи A_α и A_β), либо в разных пространственно разобщенных субрайонах — I-A (цепь E_β) и I-E (цепь E_α); Г. Структура продуктов субрайонов I-J и I-C остается неизвестной, несмотря на серологическую идентификацию соответствующих молекул Ia-4 и Ia-6.

Данные по распределению основных функций между продуктами МНС можно суммировать следующим образом (см. рис. 1). Каждая из трех молекул H-2K/D/L индуцирует разрушение трансплантированных тканей *in vivo* и КМ *in vitro*, которое в большинстве случаев осуществляется эффекторными ЦТЛ. Хотя эти молекулы вызывают также образование антител и содержат серологически определяемые (СО) специфичности, последние могут быть не идентичны ЦТЛ-детерминантам — структурам той же молекулы, распознаваемым ЦТЛ при аллотрансплантации (гл. V.4.1).

Другая функция тех же молекул H-2K/D/L связана не с их трансплантацией, а с реакцией лимфоидной системы на иные антигены, не имеющие отношения к продуктам МНС. Если собственные молекулы H-2K/D/L ассоциированы на плазматической мембране с какими-либо иными структурами, не представленными в естественных условиях на клетках данного типа, — при росте злокачественной опухоли, аутоиммунных процессах, модификации клеточной поверхности белками вирусов, гаптенами или химически активными веществами — возникающий

⁶ Serum substance.

⁷ Sex-linked protein.

иммунитет во многих случаях также обусловлен реакцией ЦТЛ на антигенный комплекс, включающий продукты районов К и D.

Одна из моделей такой реакции *in vivo* — отторжение сингенного трансплантата кожи, обработанного гаптенем ДНФБ (динитрофторбензол), если реципиент мыши той же линии предварительно иммунизирован ДНФБ [1968].

Однако при этом наблюдается существенное различие между молекулами H-2K/D с одной стороны, и H-2L — с другой. Если иммунизация производится не аллоантигенами, а гаптенами или вирусами, то реакция ЦТЛ на эти чужеродные агенты протекает по-разному в зависимости от того, ассоциируются ли они с молекулой H-2D или H-2L. В частности, в отличие от молекулы H-2D молекула H-2L, ассоциированная с гаптенем ТНФ (тринитрофенолом) [1188], с вирусом Сендай или экстромелии, с минорными H-антигенами [217], не индуцирует ЦТЛ в сингенной системе; вместе с тем при иммунизации другими вирусами — гриппа, осповакцины [201], лимфоцитарного хориоменингита — ЦТЛ, специфичные к сингенной модифицированной молекуле H-2L, образуются. Таким образом, разнообразие антигенов, индуцирующих ЦТЛ, значительно меньше при их ассоциации с молекулой H-2L, чем с H-2D. Этот факт, по-видимому, связан с тем, что полиморфизм белка H-2L ниже, чем H-2K/D: описаны только три аллеля H-2L [783] и еще шесть у диких мышей [886], а сама эта молекула экспрессируется лишь в семи гаплотипах H-2 [928]. В этом отношении молекула H-2L похожа на другую молекулу класса I (локус которого расположен справа от локуса Qa-2 Tla-комплекса, см. рис.1) — Qa-1 малой степенью полиморфизма [580]. Хотя Qa-1 является полноценным трансплантационным антигеном и индуцирует ЦТЛ при аллоиммунизации независимо от совпадения иных антигенов H-2, собственный белок Qa-1, в отличие от молекул H-2K/D, не играет роли при индукции ЦТЛ чужеродными антигенами [992]. Это означает, что молекула Qa-1 в отличие от молекул H-2K/D не способна рестриктировать реакцию ЦТЛ на чужеродные антигены. Таким образом, если одни молекулы класса I существенны для генерации ЦТЛ, то другие молекулы того же класса (Qa и TL) выполняют иные функции [245].

В частности, секреторный вариант молекулы класса I, являющийся продуктом генов Tla-комплекса [2280], синтезируется только в гепатоцитах, выявляется в сыворотке крови и моче [1270] и тормозит генерацию ЦТЛ, что сопровождается продлением жизни аллотрансплантата печени. Другая функция подобной «хемосенсорной» молекулы — обеспечение мочевого запаха, индивидуального для каждого аллеля H-2 и определяющего сексуальное поведение самок мыши [244]. Получение моноклональных антител (МкАТ) к набору Qa-молекул [1765] — реальный путь для изучения их функций.

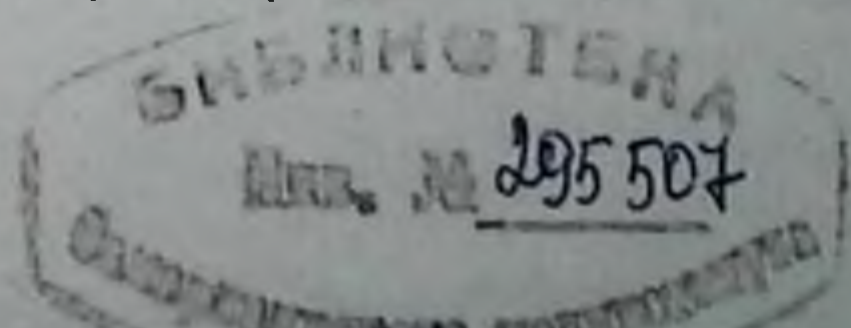
Одним из ранних проявлений иммунологического распознавания являются не генерация ЦТЛ, а активация в нормальных Т-лимфоцитах синтеза ДНК и функции помощников, способствующих дифференцировке ЦТЛ и других эффекторных Т-

клеток, а также антителообразующих В-лимфоцитов (гл. III). Продукты МНС класса I — H-2K и H-2D — вызывают хотя и слабую, но достоверную реакцию пролиферирующих и амплификационных Т-лимфоцитов, причем мутантные варианты молекул H-2K/D индуцируют сильную пролиферацию в MLC [601, 863]. Однако основным объектом этих ранних этапов распознавания являются Ia-белки (продукты МНС класса II) — либо чужеродные при аллоиммунизации, либо собственные, ассоциированные с другими (не H-2) чужеродными антигенами. При этом продукты субрайонов I-A и I-E вызывают значительно более сильную пролиферацию в MLC, чем продукты субрайонов I-J [1504] и I-C [1505], а также несут ЦТЛ-детерминанты, ответственные как за отторжение аллотрансплантата [580, 1040, 964], так и за лизис сингенных КМ, инфицированных вирусом гриппа, если противовирусный клон ЦТЛ распознает вирус в ассоциации с молекулой I-E [1233]. Наконец, гены субрайонов I-A и I-E определяют возможность образования СТС и действия факторов супрессоров, специфичных к некоторым синтетическим полипептидам и природным белковым молекулам [84, 149].

Напротив, продукты субрайонов I-C и I-J, по-видимому, не обладают способностью индуцировать ЦТЛ и вызывать отторжение трансплантата [2157]. Вместе с тем продукты субрайона I-J во многих случаях являются маркерами СТС и входят в состав супрессорных факторов (гл. IV.2.5.4), определяют возможность индукции СТС другими антигенами комплекса H-2, если они сцеплены с данным антигеном I-J [1198], рестриктируют функцию СТС, иммунных к некоторым растворимым белковым (не H-2) антигенам (гл. IV.2.3). Имеются данные о разнообразии антигенных продуктов, кодируемых субрайоном I-J: одни из них представлены на СТС, другие — на некоторых Т-хелперах [2022, 1338], возможно, третьи — на макрофагах селезенки, презентирующих антиген Т-хелперам, что обеспечивает Т-В взаимодействие [1478, 1432]. Вместе с тем макрофаги селезенки, презентирующие антиген иммунным Т-клеткам, которые синтезируют ДНК при контакте с соответствующим антигеном, не содержат продукта I-J [93]. Эти данные, хотя не доведенные до полной ясности, указывают на возможное разнообразие генов, кодирующих I-J-молекулу (гл. I.3.3.7).

Продукты предполагаемого субрайона I-C существенны для функции неспецифических Т-супрессоров и СТС, если последние индуцированы антигенами комплекса H-2: эти продукты также служат маркерами супрессоров, входят в состав супрессорных факторов и рестриктируют их функцию (гл. IV.2.4.4). Перечисленные признаки выражают функции генов в составе I-района, контролирующей иммунореактивность (I_g-гены, локализованные главным образом в субрайонах I-A и I-E) и иммунную супрессию (I_s-гены — во всех субрайонах I-района) (гл. I.4).

S-район кодирует два белка класса III МНС: Ss — 4-й компонент комплемента [112] и Slp — сцепленный с полем протенин, не



обеспечивающий гемолитическую активность [567]. Эти белки синтезируются и секретируются макрофагами, не экспрессируются на их мембране и не обнаруживаются в лимфоцитах [1770]. Будучи сходными по химической структуре (оба белка состоят из трех цепей α , β и γ — с молекулярной массой 98—105, 74—77 и 32—34 кДа соответственно), они тем не менее различаются по пептидным картам и кодируются разными генами [327]. Предполагается, что наличие S-района в структуре МНС является реликтом, отражающим экспрессию в прошлом компонента на плазматической мембране и утратившим ныне связь с эффекторной функцией лимфоцитов [1043].

В макрофагах, фибробластах, Т- и В-лимфоцитах мышей обнаружены 16 белков класса IV комплекса H-2 с молекулярной массой 15—30 кДа, которые осаждаются обычными анти-H-2 сыворотками, не представлены на мембране, не гликозилированы, разделяются при двумерном электрофорезе меченных ^{35}S -метионином клеточных лизатов, присутствуют в одних и тех же гаплотипах H-2 (или отсутствуют в некоторых гаплотипах) и кодируются генами, расположенными между K-районом и субрайоном I-A [1397]. Функция этих белков и их связь с другими продуктами комплекса H-2 остается неизученной.

1.3. Антигенная и химическая структура серологически определяемых продуктов МНС

1.3.1. Биологические, серологические свойства и неоднородность белков H-2K/D/L

1.3.1.1. Функциональная активность очищенных молекул H-2K/D/L

Молекулы H-2K и H-2D не сцеплены на плазматической мембране и перемещаются в ее плоскости независимо друг от друга [1464]. Поскольку они наследуются кодоминантно, то на мембране клеток гетерозиготных животных (гибридов F_1) представлено 4 типа таких независимо перемещающихся K/D молекул. Молекула H-2L также не ассоциирована с молекулой H-2D на клеточной мембране [928]⁸, хотя соответствующие гены сцеплены в D-районе настолько прочно, что не удается обнаружить ни одной рекомбинации между локусами H-2D и H-2L [886]. Тем не менее неидентичность генов, кодирующих эти две молекулы, можно считать установленной: у спонтанного «loss» мутанта D^d -района мышей BALB/c, обозначенного dm2, утрачена только молекула H-2L при полной сохранности молекулы H-2D [1323].

Получение МкАТ к антигенам H-2 позволило с помощью аффинной хроматографии выделять эти молекулы в чистом виде,

⁸ Этот факт установлен с помощью двух методов: «кэппинга» (независимого перемещения на мембране иммунофлуоресцентных «шапочек» — комплексов антигенов H-2D и H-2L с соответствующими антителами) и «лизострипа» (сохранения чувствительности клеток к цитолизису, вызванному в присутствии компонента антителами к одному из антигенов, после того как другой антиген был предварительно удален с поверхности с помощью «кэппинга» и эндоцитоза).

изучать их биологические функции и антигенные детерминанты, химическое строение, последовательность АК, пространственную структуру и организацию кодирующих их генов.

Важнейший вопрос, который возник при получении чистых молекул Н-2,—могут ли они выполнять биологические функции антигенов Н-2, представленных на мембране живой клетки? Оказалось, что высокоочищенные антигены Н-2 — сами по себе или представленные на липосомах — функционируют как трансплантационные антигены: предварительная иммунизация ими мышей индуцирует иммунологическую память — ускоренное (по вторичному типу) отторжение трансплантата кожи, несущего тот же антиген Н-2 [462]. Хотя те же очищенные антигены Н-2К/Д лишь очень слабо индуцируют первичный иммунный ответ в МЛС *in vitro*, они легко вызывают вторичный иммунный ответ в тех же условиях: их взаимодействие в культуре с Т-клетками памяти, предварительно индуцированными *in vivo* соответствующими антигенами Н-2, приводит к дифференцировке этих клеток во вторичные ЦТЛ, высоко специфичные к определенным антигенам [1172, 1341, 552, 762]. В действительности очищенные антигены Н-2К/Д прямо взаимодействуют и с первичными пЦТЛ, однако в этом случае для их дифференцировки в культуре необходима помощь Т-амплифайеров (гл. III.2).

Очищенные антигены Н-2 не только индуцируют образование ЦТЛ *in vivo* и *in vitro*, но и контактируют с рецепторами готовых ЦТЛ: образование специфических конъюгатов ЦТЛ с КМ угнетается меченым очищенным антигеном Н-2, который, будучи инкорпорирован в липосомы, специфически связывается с поверхностью ЦТЛ [765]. Взаимодействие белка Н-2 с рецепторами ЦТЛ воспроизводится, если эти клетки специфичны не к аллоантигену, а к вирусу, ассоциированному с сингенной молекулой Н-2. В этом случае очищенный белок Н-2, инкорпорированный вместе с вирусом в одну и ту же липосому, вызывает дифференцировку в МЛС вторичных ЦТЛ из их предшественников, иммунизированных *in vivo* комплексом того же вируса с той же молекулой Н-2 [1210]. Этот комплекс в липосоме может служить мишенью для ЦТЛ той же специфичности, если он инкорпорирован в мембрану клеток лимфомы, лишенных продуктов МНС [764].

Таким образом, все функции, контролируемые районами К и D, могут выполняться одним и тем же белком — продуктом одного гена (или одной группы генов) данного локуса (Н-2К, Н-2D или Н-2I), а многообразие признаков отражает различные способы определения активности этой молекулы.

1.3.1.2. Серологически определяемые детерминанты продуктов МНС класса I — молекул Н-2К/Д/Л

С помощью серологических методов на каждой молекуле Н-2 (К или D), кодированной данным аллелем (k, d, i, s...) соответствующего локуса, был выявлен набор из 10—18 детерминант,

Таблица 2

Серологически определяемые детерминанты белков H-2K/D/L

Линия мышей	Гаплотип H-2	Серологические специфичности локуса												
		H-2K					H-2D					H-2L		
		част- ные	общие			моле- кула	част- ные	общие			моле- кула	общие	моле- кула	
B10	b	33	5 46 54	36 53 56	39	K ^b	2	6 28 46	14 29	27	D ^b			
B10.D2	d	31	8 46 49	10 47	34	K ^d	4	13 27 35 41 44	14 28 36 42 46	29 40 43 47	D ^d	28 65 74	64 73 75	L ^d
B10.BR	k	23	1 11 25 47	35 24 45	8	K ^k	32	1 3 5 47			D ^k	1		L ^k

обозначаемых также как СО специфичности (табл. 2). Эти СО специфичности не равнозначны: одна из них уникальна для данной молекулы — частная (private) специфичность, тогда как остальные — общие (public) специфичности могут быть выявлены на молекулах обоих белков (H-2K и H-2D), кодированных разными аллелями H-2. На белках H-2K/D идентифицировано около 70 СО специфичностей у мышей основных гаплотипов и еще 47 СО специфичностей (H-2.W1 — W47) — на тех же белках диких мышей [1044].

Однако общие специфичности также неравнозначны: они, в свою очередь, делятся на две категории — короткие (short) и длинные (long), т. е. встречающиеся соответственно редко и часто в продуктах различных аллелей. Некоторые из последних (например, H-2.1 и H-2.28) в действительности представляют собой гетерогенные «семейства» (например, H-2.28 — это комплекс трех СО специфичностей — 27, 28 и 29), неидентичные в разных аллелях H-2. В отличие от других общих специфичностей эти два семейства оказались альтернативными: экспрессия одного из них на данной молекуле исключает экспрессию другого [1906]. Например, H-2.28 имеется на молекулах D^b и D^d, но не D^k, а H-2.1 — на молекуле D^k, но не D^b и D^d (табл. 2). Это обстоятельство позволило предположить, что две указанные общие специфичности являются маркерами неизвестной молекулы H-2. И действительно, оказалось, что при последовательном осаждении белков H-2 из клеточного лизата антителами к детерминантам H-2.4 (молекула D^d) и H-2.28 они располагаются на двух

разных полипептидных цепях [782]. В последующем от молекулы H-2D^d была полностью отделена и очищена молекула H-2L^d, а после анализа ее общей структуры, пептидных карт и аминокислотной последовательности стало очевидным, что она относится к тому же классу I продуктов МНС, что и молекулы H-2K/D [383], хотя кодируется независимым геном D-района.

Определяющую роль в этих исследованиях сыграл мутант dm2 района D^d мышей BALB/c, утративший белок H-2L^d в результате его неполноценного синтеза: дефектная молекула H-2L, найденная в цитоплазме клеток мутанта dm2, не экспрессируется на плазматической мембране [1695]. Путем иммунизации мышей dm2 клетками BALB/c была получена антисыворотка к специфичности H-2.28 — маркеру молекулы H-2L^d. Оказалось, что эта молекула неоднородна: один ее вариант содержит обе детерминанты H-2.28 (D.28 и L.28), а второй — только одну из них (L.28) [447]. Этот второй вариант молекулы L^d назван L2^d (табл. 3). Обе молекулы (L^d и L2^d), экспрессированные на клетках мышей исходных линий гаплотипа H-2^d (BALB/c и B10.D2), отсутствуют у мутанта dm2, утратившего locus H-2L, но лишь одна из них (L^d) отсутствует у мутанта dm1, сохранившего молекулу L2^d (табл. 3) [929].

Можно предположить, что L^d и L2^d — продукты неидентичных генов локуса H-2L. Однако более вероятно, что они представляют собой разные детерминанты одной молекулы H-2L, поскольку молекула H-2D^{dm1} мутанта dm1, экспрессирующая детерминанту L2^d, оказалась продуктом гибридного гена, возникшего в результате кроссинговера внутри экзона C1 (см. ниже) двух стандартных генов — D^d и L^d [299]. Напротив, еще один вариант молекулы H-2L^d, названный H-2R^d и отделенный от молекул H-2D^d и H-2L^d последовательной преципитацией MkAT [784], отличается от них по первичной структуре: такое же различие в гаплотипе H-2^d между молекулами H-2L^d и H-2R^d [1476] указывает на то, что они контролируются разными генами.

С помощью набора антисывороток к разным детерминантам H-2.28 (а также H-2.1) установлена неоднородность также и молекул D^d, K^d и D^k: во всех этих случаях второй вариант данной молекулы содержит все СО специфичности (частную и общую) основной молекулы, за исключением «семейства» — H-2.28 или H-2.1 [447]. Эти вариантные молекулы названы: M^d (locus D^d), K2^d (locus K^d) и D2^k (locus D^k) (см. табл. 3). Еще одна молекула — продукт локуса H-2K^k — также оказалась неоднородной, а ее варианты представлены на разных клетках: только 70% клеток селезенки, несущих антиген K^k, выявляемый поликлональными аллоантителами, реагируют с MkAT анти-K^k и могут быть отделены от остальных 30% клеток с помощью образования розеток с эритроцитами, конъюгированными с протенином А [538].

Неоднородность каждого из белков H-2K/D/L была выявлена не только в серологических тестах, но и биохимически — по разнообразию заряда, молекулярной массы [1071] и структуры полипептида [2101]. Очевидно, что выделение и очистка вариантных молекул H-2 создаст новые возможности для изучения особенностей их функции и связи с разнообразием генов, кодирую-

Таблица 3

Серологическая вариабельность молекулы Н-2 — продукта одного аллеля данного локуса (Н-2К, Н-2D или Н-2L)

Локус Н-2	Частная специфичность	Варианты молекул Н-2	Реакция с аллоантисыворотками против СО специфичностей Н-2				Присутствие в клетках мутанта района D ^d	
			частных	общих			dm1*	dm2*
				D.28	L.28	I		
D ^d	Н-2.4	Основная: D ^d Вариант: M ^d	+	+	—	—	—	+
L ^d	—	Основная: L ^d Вариант: L2 ^d	—	+	+	—	—	—
K ^d	Н-2.31	Основная: K1 ^d Вариант: K2 ^d	+	+	—	—	+	—
D ^k	Н-2.32	Основная: D1 ^k Вариант: D2 ^k	+	—	—	+	—	—

* Мутантные линии Н-2^{dm1} и Н-2^{dm2} отличаются от исходных линий (соответственно В10. D2 и BALB/c) только аллелями D-района.

иц молекулы МНС класса I. Описанная вариабельность некоторых молекул Н-2 (D^d, L^d, K^d, K^k, D^k, L^k) проявляется не во всех гаплотипах: молекула Н-2D^b, выявляемая МкАТ к частной (Н-2.2) и общей (Н-2.64) специфичностям, не только не имеет вариантов, но является единственным продуктом района D^b, не содержащего, следовательно, локуса Н-2L [1335].

1.3.2. Структура молекул и генов класса I комплекса Н-2

1.3.2.1. Аминокислотная последовательность и доменная организация молекул

В настоящее время трансмембранные белки класса I МНС — Н-2К, D, L мыши и HLA-A, B, C человека не только выделены и очищены, но и полностью секвенированы [384, 1611, 1463]. Эта работа, начатая в 1973 г., была завершена к 1981 г. благодаря использованию: а) клеточных линий, содержащих белки Н-2 в особенно больших количествах; б) неионных детергентов (NP-40 или тритона X-100), солюбилизирующих плазматическую мембрану и сохранявших интактную структуру гидрофобных участков молекулы; в) ускоренного метода очистки, включающего два этапа — выделение гликопротеида на лентил-лектин-сефарозе и аффинную хроматографию на иммуносорбенте, покрытом МкАТ анти-Н-2 [834, 1268]. Последний метод был приспособлен для препаративной очистки белков Н-2 мыши в больших количествах [1940], хотя в зависимости от аффинности МкАТ метод элюции чистого антигена Н-2 может сильно варьировать [53].

Молекула, несущая антигены H-2, представляет собой глико-протенд, состоящий из двух нековалентно связанных цепей, — тяжелой (H-цепи) с молекулярной массой 45 кДа и легкой (L-цепи) — β_2 -микроглобулина (β_2 M) с молекулярной массой 11,5 кДа. H-цепь состоит из 346 аминокислотных остатков, организованных в виде трех участков — внеклеточного, содержащего с 1-го по 281-й остатки АК, трансмембранного (282—308-й остатки) и цитоплазматического (309—346-й остатки). Из рис. 2 видно, что внеклеточный участок H-цепи состоит из трех доменов, каждый из которых содержит около 90 АК: N-концевого (периферического), C1 (промежуточного) и C2 (приклеточного)⁹. β_2 M (99 АК) ассоциирован нековалентно с доменом C2 [2290] и может быть отделен от H-цепи 1 М формоловой кислотой; исключением является ковалентное сцепление β_2 M с вариантом H-цепи (62 кДа), найденным только в тех гаплотипах H-2, которые несут Cys¹²¹ [301a]. В доменах C1, C2 и β_2 M находится по одной дисульфидной петле (около 60 остатков АК)¹⁰, сходной по величине с такими же петлями доменов Ig. Две углеводные цепи (М.м. 6 кДа) присоединены к аспарагину в N-(86-й остаток) и C1-доменах (176-й остаток); домены C2 и β_2 M не гликозилированы. В структуре молекулы имеются 2 точки, чувствительные к папаину, что позволяет отделять либо весь ее внеклеточный участок (37 кДа) от гидрофобного (расщепление по 281 остатку — валин), либо два периферических домена от приклеточного. Вместе с тем β_2 M не отщепляется от H-цепи папином.

Четвертый домен, пронизывающий плазматическую мембрану, содержит 24—25 гидрофобных (неполярных) АК, включая 8 остатков валина, имеет вторичную структуру α -спирали и переходит в пятый — гидрофильный цитоплазматический домен, состоящий из 39 АК в молекуле H-2 и 31 АК в молекуле HLA. В начале этого участка имеется блок из четырех положительно заряженных АК (Cys—Arg—Arg—Arg), который, возможно, служит для закоривания белка на мембране за счет реакции с ее фосфолипидными группами [1111].

Цитоплазматический участок H-цепи имеет несколько особенностей, отличающих его от остальной молекулы: а) только в его структуре найдены участки, характеризующие продукты данного локуса K или D (например, 309-й остаток — метионин — встречается в молекулах H-2K, но не H-2D) [1269]; б) в цитоплазматическом участке содержатся АК (серин и треонин), которые подвергаются фосфорилированию *in vivo* [1729], а также цистеин и глутамин, которые могут обеспечивать ковалентную связь с белками цитоплазмы: в частности, возникновение в клетке прочного комплекса двух белков — H-2 и актина, который спонтанно слущивается с клеточной поверхности при образовании микро-

⁹ Аналогичные домены молекулы HLA названы α_1 , α_2 и α_3 .

¹⁰ Дисульфидные мостики соединяют остатки цистеина 101 со 164 в домене C1 и 203 с 259 в домене C2.

ворсинок, может быть результатом подмембранного связывания цитоплазматического участка молекулы H-2 с микрофиламентами, что важно для движения клетки [1051]; в) в отличие от остальных доменов, каждый из которых кодируется одним экзоном, этот сравнительно небольшой участок кодируется тремя экзонами (см. ниже), причем 1-й из них одинаков в геномах различного происхождения, что, возможно, связано с его функцией — обеспечением связи внеклеточных доменов молекулы H-2 с цитоплазмой [1677].

На рис. 2 представлена структура молекулы H-2K^b. Продукты других аллелей генов H-2K, D, L, так же как белки HLA, имеют такую же структуру, хотя описаны варианты: H-цепь молекулы H-2D^b имеет на 10 АК меньше и присоединяет третью углеводную цепь к домену C2 [1677]; H-цепь упомянутой выше молекулы L2^b (вариант молекулы L^d) имеет молекулярную массу 41 кДа [447]; молекулы HLA несут только одну углеводную цепь, присоединенную к тому же 86-му остатку аспарагина, как и в молекуле H-2 [2094]; β_2 M может быть представлен в виде двух аллельных форм — кислой (β_2 M^a) у мышей BALB/c и основной (β_2 M^b) у мышей C57BL, связанных с вариантами 85-го остатка — аланин/аспарагиновой кислотой [641]. Наконец, хотя молекулы Qa-1-5 и TL-продукты сцепленных локусов Т-района, расположенного справа от D-района (см. рис. 1), не отличаются по общему строению от молекул класса I, имеется ряд минорных различий в первичной структуре между Qa-1 и Qa-2. Qa-1 и TL, которые позволяют четко отличать эти молекулы одна от другой [1730, 1754].

Особый интерес представляют синтезируемые только в печени секреторные молекулы Qa-2,3 с молекулярной массой 40 кДа, которые не сцеплены с мембраной ввиду изменения структуры трансмембранного домена и отсутствия цитоплазматического домена, но связаны с β_2 M, подобно всем молекулам МНС класса I. Антитела к С-пептиду из 12 аминокислот, синтезированному на основании предсказанной уникальной последовательности карбоксильного конца этой молекулы, позволили выделить ее из сыворотки крови и объяснить некоторые из вышеуказанных уникальных функций продуктов МНС [1270].

Детальное изучение первичной структуры молекул H-2 выявляет интересные аспекты, важные для понимания функций этих молекул.

1.3.2.2. Гомология

Разные молекулы H-2 мыши класса I — H-2K, D, L и Qa-2 — гомологичны по первичной структуре на 80—88% (некоторые из них, например, L^d и D^b, гомологичны на 94%) [1269]¹¹, причем сходство продуктов разных локусов (например, K^b и D^b) выше, чем разных аллелей одного локуса (например, K^b и K^d). Этот

¹¹ Еще один белок того же класса — TL — в 2 раза менее подобен остальным, т. е. может быть представителем отдельного семейства этих молекул [1912].

факт может означать, что тонкая специализация молекул H-2, которая определяется аллельными различиями данного гена, эволюционирует раньше (т. е. более существенна), чем дупликация генов — расщепление на локусы K и D или сублокусы L и R [384, 1463]. Последняя гипотеза подтверждается возможным продолжением в настоящее время эволюции указанных сублокусов в связи с высокой вариабельностью степени их разобщения в разных гаплотипах H-2 (d, q, b) [1476].

Вместе с тем продукты одних и тех же аллелей H-2 у трех подвидов мышей, разделившихся 1—2 млн лет назад, напротив, идентичны по пептидным картам, несмотря на экстраординарный полиморфизм молекул H-2 внутри вида [86]. Гомология белков H-2 мыши и HLA человека также велика — 68—73%, а общие детерминанты молекулы MHC класса I разных видов млекопитающих идентифицированы с помощью МААТ крысы [242]. Более того, несмотря на еще более давнее (15 млн лет) расхождение классов млекопитающих и птиц, они сохранили уникальную гомологию (40% из 28 аминокислот N-концевого домена) между трансплантационными антигенами класса I человека, мыши, крысы, кролика, морской свинки и кур [1463]. Такое сочетание уникального внутривидового полиморфизма молекул MHC класса I с межвидовой (и межклассовой) консервативностью тех же молекул указывает на то, что возникновение множества аллелей этих молекул предшествовало в эволюции возникновению видов животных, т. е. являлось очень важным эволюционным событием, необходимым для существования возникающего затем вида.

Наиболее вероятным объяснением происхождения уникального внутривидового полиморфизма молекул H-2 класса I представляется обмен ДНК между двумя неаллельными генами — генная конверсия, которая состоит в замене одного набора нуклеотидов другим, присутствующим в том же геноме. Это предположение основано на анализе аминокислотных замен в мутантных молекулах H-2K^b (табл. 4): комплекс замененных АК гликопротеида класса I некоторых из этих мутантов воспроизводится в гомологичном положении другого интактного гликопротеида класса I, кодированного геном иного района MHC [2210, 1563]¹². Такие комплексные изменения повторяются у независимых мутантов (например, одни и те же замены АК 116 и 121 наблюдаются у мутантов b^m 6, 7, 9; см. табл. 4).

Указанная аминокислотная гомология коротких участков двух независимых молекул H-2 может иметь важные биологические следствия, поскольку на таких молекулах возникает идентичная конфигурация, распознаваемая ЦТЛ одной и той же специфичности [898]. Одно из таких следствий — нереактивность мышей данной линии к определенному чужеродному антигену, если последний гомологичен какой-либо собственной молекуле H-2 мыши.

¹² В частности, три замененные АК (152, 155, 156) мутантной молекулы H-2K^b_{m1} идентичны АК молекулы H-2L^d, две замененные АК (116, 121) мутантной молекулы H-2K^b_{m6} идентичны АК молекулы H-2D^b.

иммунный ответ на которую не развивается ввиду естественной иммунологической толерантности. В частности, неспособность мышей рекомбинантных линий, несущих молекулы K^k и D^b , образовывать ЦТЛ, специфичные к вирусу осповакцины, обусловлена антигенной идентичностью между собственной молекулой K^k и чужеродным антигеном, возникающим при ассоциации вируса осповакцины с собственной молекулой D^b [1425]. Логично предположить, что отсутствие иммунитета к данному вирусу у определенного индивидуума может быть следствием антигенной идентичности между одной из его HLA-молекул и комплексом этого вируса с другой HLA-молекулой того же индивидуума.

Разные домены H-цепи не идентичны по степени гомологии. Наиболее вариабельным является N-концевой домен, в особенности его участок из 23 АК (с 61 по 83), где степень гомологии между белками H-2 сильно варьирует, снижаясь в некоторых случаях до 48%, между белками HLA — до 55%, а между H-2 и HLA — до 25%. В этом, а также в промежуточном домене имеются и другие аминокислотные различия между белками K^b и K^d , которые не разбросаны по всей цепи, а локализованы в виде коротких (по 3—5 остатков) гипервариабельных областей [1025] (второй такой участок находится в положении 95—99 молекулы H-2) и, возможно, вносят вклад в антигенные детерминанты молекулы. В первичной структуре HLA также обнаружены по меньшей мере три гипервариабельных участка, два из которых (остатки 63—70 и 77—83) совпадают, а третий (остатки 105—114 или 113—116) не совпадает с гипервариабельным участком молекулы H-2 [1520, 541a]. Даже при 96%-ной гомологии H-цепей двух молекул HLA-A (HLA-A2 и HLA-A28) они различаются только двумя участками (остатки 65—80 и 105—116), что указывает на возможную локализацию антигенных детерминант [1225]. Это предположение подтверждено с помощью МкАТ к синтетическому пептиду АК 61—83 молекулы HLA-B7, которые специфически преципитируют эту цельную молекулу из лизата лимфобластоидных клеток человека [2177].

В отличие от двух периферических доменов (N и C1), где локализованы замены АК при мутациях гена K^b , третий (примембранный) домен наиболее консервативен (варианты единичных АК находят только на его концах). Стандартная укладка АК примембранного домена существенна по меньшей мере для двух функций: ассоциации именно этого домена H-цепи с β_2M [2290, 1948] и транспорта сформированной и уже гликозилированной молекулы в плазматическую мембрану (мутационная замена $Cys^{203} \rightarrow Ser$ достаточна для прекращения такого транспорта [1390a]). Поскольку большая часть остатков АК, общих для β_2M и примембранного домена тяжелой цепи молекулы H-2, идентична также в β_2M человека, кролика и морской свинки [146], возможно общее эволюционное происхождение β_2M и примембранных доменов молекул МНС классов I и II, а также домена C_H3 Ig, гомологичного β_2M . Напротив, после внедрения белков H-2 и HLA в мембрану их вариабельность снова возрастает, так что гомология между продуктами разных аллелей или локусов падает (после 281-го остатка) до 34% [384].

1.3.2.3. Антигенные детерминанты

Несмотря на детальные исследования серологии и разнообразия частных и общих СО детерминант, представленных на одной и той же Н-цепи молекулы Н-2, локализация этих детерминант в молекуле и их связь с ее первичной структурой остается невыясненной. Можно лишь утверждать, что антигенные детерминанты располагаются преимущественно на двух периферических доменах (N и C1) полипептидной Н-цепи (гл. V.4.1) (углеводы не входят в их состав) и распределяются на поверхности молекулы не равномерно, а в виде «кластеров» [2221, 1531]. Путем перекрестного торможения связывания с клетками меченых ^{125}I МкАТ немечеными в молекуле K^b обнаружено три «кластера» (каждый реагировал с 4—5 МкАТ), один из которых отсутствовал у мутанта $\text{bm}3$ (замены 77 и 89 — см. табл. 4), другой — у мутанта $\text{bm}1$ (замены 152, 155 и 156), а третий присутствовал у всех мутантов. Данные о расположении отдельных детерминант внутри каждого «кластера» позволили «привязать» антигенные детерминанты молекулы Н-2 к определенным участкам ее первичной структуры и показать, что частная специфичность (Н-2.33) молекулы K^b в действительности является комплексной структурой, реагирующей с пятью неидентичными МкАТ [774]. Подобные скопления антигенных детерминант («эпитопы»), обнаруженные также на молекулах K^k и D^k , пространственно взаимосвязаны, поскольку контакт МкАТ с одним из них увеличивает интенсивность связывания других МкАТ с другим соответствующим эпитопом, локализованным на той же молекуле [1171].

Хотя замены единичных АК в мутантных молекулах Н-2 K^b , показанные в табл. 4, могут быть выявлены серологически только МкАТ и вовсе не индуцируют образование антител при реципрокной иммунизации мутантов и мышей исходного гаплотипа (C57BL/6), в действительности таких минимальных замен вполне достаточно для качественного изменения антигенной структуры — исчезновения старых и возникновения новых высокоиммуногенных детерминант. Эти детерминанты, однако, распознаются не антителами, а рецепторами различных субклассов Т-клеток, индуцируя *in vivo* отторжение трансплантата и реакцию трансплантата против хозяина (РТПХ), пролиферацию Т-клеток и образование ЦТЛ *in vitro* в отсутствие антителообразования [1041]. При этом не отмечается прямой связи между антигенностью и разнообразием мутантных ЦТЛ-детерминант, с одной стороны, количеством и качеством аминокислотных замен — с другой.

В частности, степень антигенности мутантных белков Н-2 K^b по отношению к исходной линии C57BL/6 возрастает в следующем порядке: $\text{bm}6/\text{bm}9 \rightarrow \text{bm}10 \rightarrow \text{bm}3 \rightarrow \text{bm}8 \rightarrow \text{bm}1 \rightarrow \text{bm}11$ [1334]. Если сопоставить этот порядок с заменами АК (см. табл. 4), легко увидеть, что у наиболее антигенного (т. е. наименее родственного с линией C57BL/6) мутанта $\text{bm}11$ заменены две АК, так

Таблица 4

Изменения первичной структуры молекулы H-2K^b при мутациях гена K^b мышей C57BL/6

Мутант	Замена аминокислот		Мутант	Замена аминокислот	
	Номер амино- кислот- ного остатка	Аминокислота		Номер амино- кислот- ного остатка	Аминокислота
bm 8	22	Tyr → Phe **	bm 1	152	Glu → Ala **
	23	Met → Ile *		155	Arg → Tyr *
	24	Glu → Ser **		156	Leu → Tyr *
bm 3	77	Asp → Ser ***	bm 10	163	Thr → Ala ***
	89	Lys → Ala **		165	Val → Met *
bm 11	77	Asp → Ser ***		173	Lys → Glu **
	80	Thr → Asn ***	bm 4	174	Asn → Leu ***
bm 5 и 16	116	Tyr → Phe *		173	Lys → Glu ***
bm 6, 7, 9	116	Tyr → Phe *		174	Asn → Leu ***
	121	Cys → Arg *			

* Данные работы [1447]. ** Данные работы [2210, 1563].
 *** Данные работы [1463a].

же как у менее антигенных (bm6/9 и bm3). Более того, ЦТЛ bm3 анти-bm11 оказывают сильный эффект на КМ bm11 (хотя у последних заменена одна из двух АК, замененных у bm3), но вообще не лизируют КМ C57BL/6, несмотря на то что их лизин (Lys⁸⁹) сохранен у доноров bm11 и отсутствует у реципиента bm3 [1334]. У мутантов bm6, 7, 9 заменены две АК (116 и 121), а у bm5 и 16 — только одна из них (116, тирозин); тем не менее они антигенно неразличимы [2265].

Эти данные наводят на мысль, что ЦТЛ-детерминанты молекулы H-2 отражают последовательность ее АК не прямо, а через возникновение таких конфигураций четвертичной структуры белка, которые могут распознаваться лишь рецепторами Т-клеток, но не антителами. Таким образом, хотя СО специфичности и Т-эпитопы расположены на одной и той же полипептидной цепи, вопрос об их идентичности, локализации внутри цепи и возможности взаимного сцепления требует специального анализа (гл. V.4).

1.3.2.4. Гены и биосинтез молекул класса I

Определение полной последовательности АК молекул МНС класса I (H-2 мышей и HLA человека) и получение МКАТ к этим молекулам позволило выделить гены МНС, контролирующие их синтез. Для этого было использовано несколько подходов. Один из них включал ряд этапов: выделение мРНК, служащей матрицей для синтеза тех же молекул в бесклеточной системе или из-

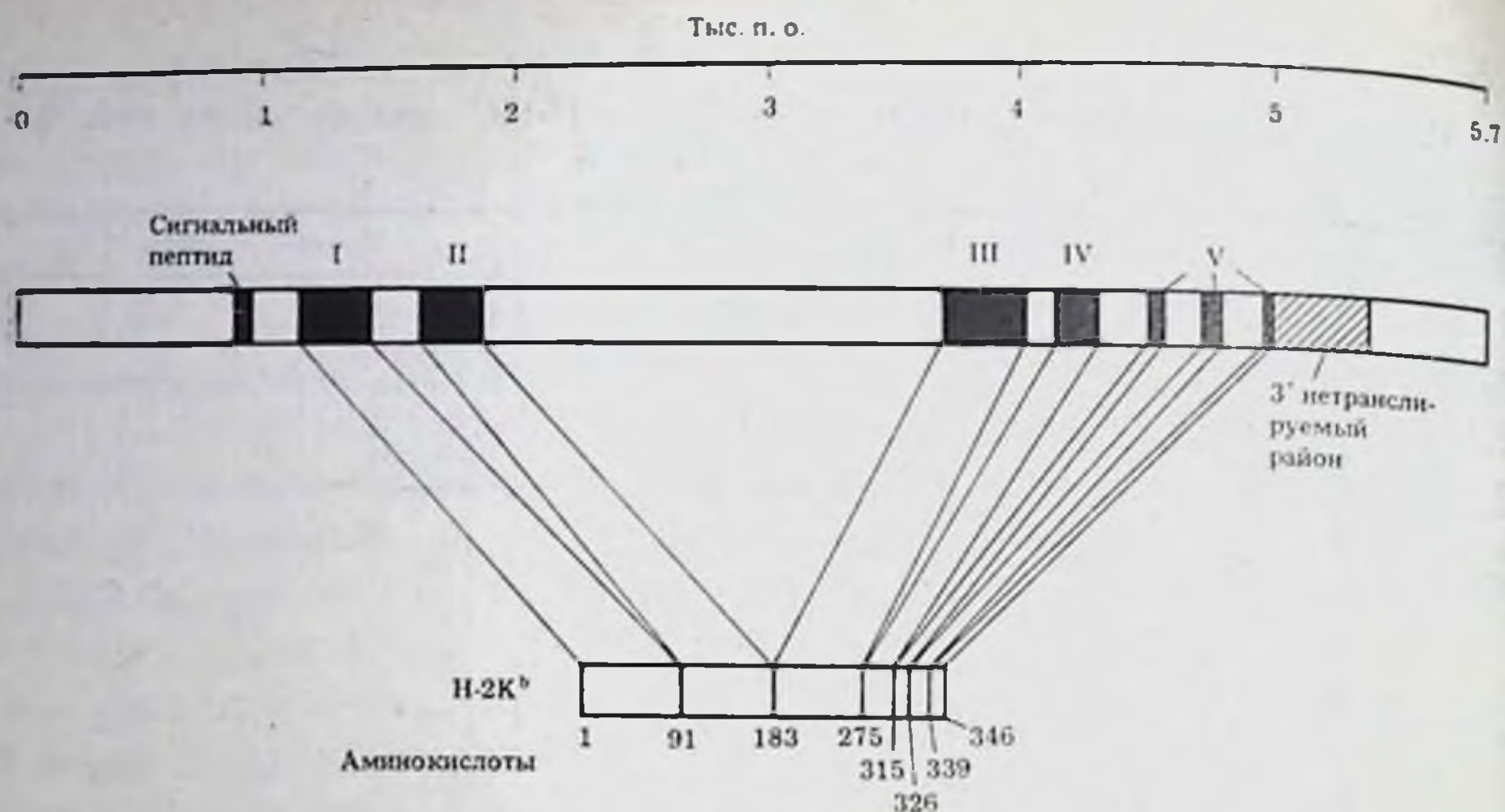


Рис. 3. Экзоны гена, кодирующего домены молекулы МНС мыши класса I—H-2K^b [1948]

Домены: I, II, III — внеклеточные, IV — трансмембранный, V — цитоплазматический

влеченной из полисом, осажденных МкАТ к определенным продуктам МНС; получение кДНК с помощью обратной транскриптазы; гибридизация кДНК с продуктами множества клонов, синтезирующих отдельные участки генома; идентификация соответствующего клона; наработка большого количества изучаемого гена и определение его первичной структуры. Другой подход — синтез набора олигонуклеотидов, кодирующих определенный участок первичной структуры белка класса I, с последующей идентификацией нужного клона из большого их количества путем гибридизации синтезированных ими фрагментов ДНК с синтетическим фрагментом гена.

Первые успешные исследования в этой области были проведены в 1980—1981 гг. в лабораториях различных университетов США [1610, 1915, 540] и детально обсуждены на Оксфордском симпозиуме по клонированию генов МНС в марте 1982 г. [1294]. Была описана полная нуклеотидная последовательность гена H-цепи трансплантационных белков класса I, который имеет величину 5,7 тыс. п. о. (тысяч пар оснований) и включает 8 экзонов (рис. 3), кодирующих сигнальный пептид из 20 АК (экзон 1), N-, C1- и C2-домены внеклеточного участка (экзоны 2, 3, 4 соответственно), трансмембранный домен (экзон 5) и цитоплазматический участок (экзоны 6, 7, 8) [1948]. Различие между генами H-2 и HLA состоит в том, что последний содержит одним экзonom меньше (цитоплазматический участок HLA кодируется частью 5-го, 6-м и 7-м экзонами). Трансфекция очищенного гена, кодирующего молекулу H-2L^d, в фибробласты гаплотипа H-2^k приводит к синтезу этими клетками нового для них белка H-2L^d. Этот белок выявляется на мембране посторонних для него клеток как МкАТ [540], так и ЦТЛ, специфичными к H-2L^d [2252],

идентичен по химической структуре обычной молекуле H-2L^a и стабильно экспрессируется на мембране потомков трансфецированных фибробластов H-2^k [697]. Трансфекция генов, кодирующих другие молекулы класса I — K^b, D^b, K^d, D^d, Qa-2,3, TL, — также приводит к экспрессии соответствующих белков на фибробластах (L-клетках) H-2^k, что меняет способность этих клеток «презентировать» антигены некоторых вирусов иммунным к вирусам Т-лимфоцитам [1277, 1336, 2091].

Эти результаты могут иметь важные следствия: клетки, инфицированные данным вирусом, но не чувствительные к эффекту вирусспецифичных ЦТЛ, приобретают такую чувствительность, если в них трансфецированы гены, продукты которых (молекулы МНС класса I данного аллеля) ассоциируются с вирусом на клеточной поверхности. Так, трансфекции генов L^a (но не D^a и не D^b) в фибробласты H-2^k с последующим их инфицированием вирусом делает их чувствительными к ЦТЛ, специфичным к вирусам везикулярного стоматита [1269, 603] или лимфоцитарного хориоменингита [1517]; напротив, те же клетки приобретают чувствительность к ЦТЛ, специфичным к вирусу гриппа, после трансфекции генов K^b или D^b [1336, 2091].

Сходный феномен воспроизведен при трансфекции в L-клетки мыши генов, кодирующих определенную молекулу HLA. В этом случае, несмотря на точное выявление той же молекулы в мембране L-клеток (с помощью биохимических и серологических тестов [998]), специфичные к ней ЦТЛ человека либо не реагируют на эту молекулу, представленную в контексте МНС мыши [130], либо, напротив, такая реакция (лизис КМ) полностью воспроизводится при высоком уровне экспрессии трансфецированного гена [403]. Особенно выражен лизис противовирусными ЦТЛ человека клеток Р815 мастоцитомы мыши, инфицированных тем же вирусом гриппа А, если в геном этих клеток трансфецирован тот ген HLA, который определяет рестрикцию данных ЦТЛ [695a].

Разработка этого подхода весьма существенна для дальнейшего изучения функций молекул МНС, кодированных геном, в который внесены определенные изменения, а также для направленного изменения иммунологического статуса и терапии дефектов, связанных с отсутствием синтеза у данного индивидуума определенных трансплантационных антигенов.

Интенсивное исследование в этой области показало, что внутри МНС XVII хромосомы мыши содержится 36 копий этих генов, которые занимают 837 тыс. п. о., располагаясь в виде 13 «кластеров» [1950, 1276]. Большая их часть (31 из 36 генов) находится в Tla-комплексе, контролирующем Qa- и TL-антигены (см. рис. 1), и только 5 генов локализуются в комплексе, контролирующем молекулы H-2K/D/L. Эта парадоксальная ситуация (полиморфизм молекул H-2K/D/L значительно превышает разнообразие молекул Qa и TL), видимо, связана с тем, что большая часть участков, чувствительных к рестрикционным ферментам, обнаруживается именно в K- и D-, но не в T-районе [2242].

Тяжелая и легкая (β_2M) цепи белков H-2 и HLA класса I синтезируются на отдельных полисомах, каждая на своей мРНК, транскрибированной с соответствующих генов, которые локализованы в разных хромосомах: у мышей — в XVII (ген H-цепи) и II (ген β_2M), у человека — в VI (ген H-цепи) и XV (ген β_2M). Хотя имеются данные о координированной регуляции транскрипции генов H-цепи и β_2M [409], очевидно, что эти цепи могут синтезироваться независимо: в клеточной линии Daudi лимфомы Баркитта тяжелая цепь синтезируется в отсутствие синтеза β_2M [85]. Путем изучения трансляции мРНК мышей в бесклеточной системе [938, 472] или в клетках линии В-бластов человека [1529] установлено, что тяжелая цепь гликозилируется в ходе синтеза на полисоме, соединяясь только с коровым сахаром (маннозой), а еще через 5 мин освобождается от сигнального пептида и внедряется в мембрану грубого эндоплазматического ретикулума, где соединяется с легкой цепью (β_2M), также освободившейся от сигнального пептида.

Это взаимодействие двух полипептидов, по-видимому, обеспечивает конформацию белка, которая определяет его судьбу: в отсутствие β_2M синтезированная тяжелая цепь модифицируется таким образом, что теряет способность ассоциироваться с β_2M в последующем, ее транспорт в цитоплазме прекращается и она не экспрессируется на плазматической мембране. Искусственная диссоциация этого комплекса формоловой кислотой так меняет конформацию тяжелой цепи, что она теряет способность к реассоциации с β_2M [1612]. Регулирующая роль β_2M в экспрессии молекулы HLA класса I следует из того, что такая экспрессия восстанавливается на поверхности клеток Daudi, если их гибридизовать с любыми другими клетками (мыши или человека), синтезирующими β_2M . Степень указанной экспрессии возрастает при культивировании клеток в присутствии сыворотки различных видов, если она содержит β_2M [190].

Если тяжелая цепь и β_2M ассоциируются, через 20—25 мин после синтеза молекула оказывается в комплексе Гольджи, где она подвергается дальнейшему гликозилированию (присоединяются фукоза, галактоза и сиаловая кислота), и еще через 10—15 мин экспрессируется на плазматической мембране. Предотвращение гликозилирования туникамицином не влияет на мембранную экспрессию белков H-2 [472], хотя имеется исключение: экспрессия некоторых вариантов HLA на мембране ингибируется туникамицином [2238]. Описанный процесс подобен синтезу Ig, при котором ассоциация независимо синтезирующихся H- и L-цепей (продуктов несцепленных генов) также необходима для экспрессии молекулы на плазматической мембране: если в пре-B-клетках синтезируется только H-цепь, она не выходит за пределы цитоплазмы [1863]. Кроме того, в обоих случаях легкие цепи (β_2M и L-цепь Ig) могут секретироваться независимо от цельной молекулы, циркулировать в кровотоке и выводиться как «свободные» полипептиды.

1.3.3. Ia-молекулы — продукты МНС класса II

Новый этап в изучении механизмов иммунологического распознавания начался в 1973 г. [428, 803, 1748], когда были получены антитела к продуктам I-района МНС (Ia-белкам) путем реципрокной иммунизации мышей рекомбинантных линий, различающихся только аллелями I-района МНС при полной идентичности остального генома (см. линии А.ТL и А.ТН в табл. 1). С помощью полученных в последующем МкАТ были выделены, очищены и секвенированы Ia-молекулы (продукты МНС класса II), которые оказались уникальными не только по химической структуре, но и по функции: именно они служат объектом самых ранних этапов иммунологического распознавания, маркируя посторонние белки клеймом «чужое», что обеспечивает работой «полицейскую службу» Т-лимфоцитов, обязанных реагировать на этот маркер. Свойства и функции Ia-белков мыши и их аналогов — HLA-D человека отражены в обзорах [2117, 995].

Подобно молекулам класса I, Ia-молекулы класса II являются трансмембранными белками, перемещаются в плоскости мембраны независимо от других молекул (продуктов МНС класса I и Ig), а их функциональные активности воспроизводятся, если их используют в очищенном виде. Поскольку наибольший интерес представляют функциональные и структурные особенности Ia-белков, в настоящем разделе внимание будет акцентировано на тех свойствах Ia-белков, которые отличают их от продуктов МНС класса I.

1.3.3.1. Клеточное распределение Ia-белков и динамичность их мембранной экспрессии

Система Ia-белков четко отличается от описанных выше трансплантационных антигенов H-2 класса I по локализации в органах, лабильности экспрессии на мембране, серологическим свойствам и химической структуре. В отличие от широко распространенных антигенов H-2, Ia-белки, легко слущиваясь с мембраны [2143], представлены на мембране лишь некоторых клеток: лимфоидных, эритроидных и миелоидных, макрофагальных, дендритических и эндотелиальных на определенных стадиях их дифференцировки, на части эпителиальных клеток и сперматозоидах.

В паренхиматозных клетках многих органов (печени, почек, мозга и т. д.), так же как в эритроцитах, саркомах и карциномах, Ia-белки не обнаруживаются.

Ia-белки неодинаково представлены на поверхности Т- и В-лимфоцитов. На Т-клетках их значительно меньше, они распределены на поверхности диффузно и настолько слабо связаны с мембраной, что слущиваются во время фильтрации клеток через нейлоновую вату. Напротив, на поверхности В-лимфоцитов

их много, они располагаются в виде скоплений и относительно стабильны [610, 32].

Ia-антигены, выявленные на Т- и В-лимфоцитах, во многих случаях различаются качественно — по антигенным детерминантам: на 7—26% активированных конканавалином А (Кон А) Т-клеток (Кон-А-блестах) обнаруживается продукт субрайона I-A аллеля H-2^k (I-A^k), обозначенный I-A_T, поскольку он отсутствует на В-клетках, которые несут иные продукты того же субрайона I-A^k и не реагируют с МкАТ анти-I-A_T [811]. Те же МкАТ взаимодействуют с Т-хелперами и инактивируют их фактор [850]. Доля Т-хелперов, экспрессирующих I-A_T, возрастает вдвое после их мягкой обработки трипсином — в результате демаскировки I-A_T иным белком, синтезируемым теми же Т-хелперами и отсутствующим на В-лимфоцитах [894]. Вариант I-A антигена, отсутствующий на В-лимфоцитах, выявляется также на поверхности некоторых клонов ЦТЛ, распознающих вирус гриппа А в комплексе с определенными белками H-2 [804]. Продукты двух других I-субрайонов — I-J и I-C, отсутствующие на В-лимфоцитах, выявляются на неидентичных субпопуляциях Т-лимфоцитов: I-J^k — на 16—19% Кон А-бластов [810], а I-C^d — на 26—30% малых Т-клеток лимфоузлов, селезенки и тимуса, но не на Кон А-блестах [1764]. Две категории Т-клеток, несущие антигены I-J^k и I-C^d, оказались неидентичными по набору маркеров Т-лимфоцитов — антигенов Lyt (гл. II.4.2.2): в первом случае они имеют фенотип Lyt-1⁻2⁺ [1554], а во втором — Lyt-1⁺2⁻ [1763]. Только детерминанты I-J^k выявляются на обогащенной Т-супрессорами популяции клеток, специфичных к сывороточным белкам (гл. IV.2.3), тогда как обе детерминанты (I-J^k и I-C^d) выявляются на одних и тех же иммунных Т-супрессорах, специфичных к антигенам комплекса H-2 (гл. IV.3.4.3).

Качественные и количественные различия в экспрессии Ia-белков чрезвычайно выражены также на разновидностях макрофагов (МФ) и подобных им вспомогательных (accessory) А-клетках в зависимости от локализации, морфологии и функции, детально описанных в гл. III.6.2. Различие в сроках экспрессии Ia-белка на клетках стромы тимуса и селезенки в эмбриональном и постнатальном периоде весьма существенно для дифференцировки Т-лимфоцитов (гл. II.4.4).

Подобно лимфоцитам и МФ, эпителиальные клетки весьма разнородны по экспрессии Ia-белков: эти белки синтезируются в эпителиальных клетках тимуса эмбрионов мышей так же рано, как в дендритических клетках (ДК) тимуса, но не обнаруживаются в течение всей жизни в эпителии глоточного комплекса или формирующих цисты эпителиальных структурах эндодермального происхождения. Вместе с тем белки H-2К того же аллеля выявляются на всех этих типах клеток [944]. Создается впечатление, что количественная экспрессия Ia-белков на разных клетках тимуса зависит от их локализации: в кортикальной зоне Ia-белки представлены преимущественно на МФ, ден-

дритических и эпителиальных клетках, а в медуллярной — на лимфоцитах.

Важнейшая особенность Ia-белков — зависимость их экспрессии на клеточной мембране от стадий дифференцировки клеток — кроветворных, лимфоидных, макрофагальных. Обычно больше всего Ia-белков присутствует на промежуточных стадиях дифференцировки. Это особенно наглядно проявляется в случае кроветворных клеток: Ia-белки отсутствуют на покоящихся стволовых клетках, появляются на незрелых эритроидных и миелоидных (в том числе на клетках острой миелоидной лейкемии) и исчезают при их дальнейшей дифференцировке [2240]. Ia-белки, представленные в большом количестве на прилипающих МФ селезенки и моноцитах [406, 1373], исчезают в ходе их дифференцировки *in vivo* (так что не более 8% МФ перитонеального экссудата сохраняют Ia-белок) или при культивировании *in vitro* [1156, 162]. Последующая активация МФ — как *in vivo* (иммунизация животных или введение в перитонеальную полость смеси антигена с иммунными Т-лимфоцитами) [161], так и в культуре [162] — приводит к 10—20-кратному (до 97%) возрастанию доли МФ, несущих Ia-антиген.

Регуляция экспрессии Ia-молекулы на мембране МФ может иметь положительный и отрицательный характер. В первом случае регуляция осуществляется Т-лимфоцитами при их активации антигеном [1781], во втором — продуктом делящихся МФ новорожденных, угнетающим экспрессию Ia-белка на зрелых МФ [1910]. Эти противоположные эффекты на экспрессию Ia-белка осуществляются различными гуморальными веществами, которые оказывают обратные эффекты и на поведение МФ в культуре. способствующие Ia-экспрессии лимфокины (продукты активированных Т-лимфоцитов) не влияют на пролиферацию МФ, но стимулируют их дифференцировку, а угнетающий Ia-экспрессию продукт пролиферирующих предшественников МФ или фибробластов, напротив, стимулирует пролиферацию МФ [310]. Не исключена возможность, что последний продукт представляет собой простагландин E (PGE), который в физиологических концентрациях (10^{-9} — 10^{-7} М) угнетает экспрессию Ia-белка на МФ; ингибиторы PGE (индометацин и тромбоксан), напротив, стимулируют экспрессию Ia-белка [1909].

Иммунологический смысл этих регуляторных влияний на экспрессию Ia-молекулы обсуждается в гл. III.3.3. Здесь следует указать, что надосадочная жидкость от активированных Кон А Т-лимфоцитов стимулирует экспрессию Ia-белков не только на МФ, но и на клетках сосудистого эндотелия [463], что имеет серьезные следствия, а также на клетках опухолей макрофагального типа, растущих в виде стабильных клеточных линий [209, 2175]. Особенно удобным объектом для изучения стимуляции экспрессии Ia-белков служит «миеломоноцитарная» опухоль WENI-3, являющаяся, по-видимому, аналогом незрелых МФ и экспрессирующая Ia-молекулы на 100% клеток после со-

ответствующей стимуляции. Этот процесс, детально изученный в кинетике для каждого типа Ia-молекул, обусловлен резкой активацией их синтеза, предшествующего их мембранной экспрессии в клетках WEHI-3 на несколько часов [1333].

Сходная динамичность экспрессии Ia-белка отмечена при дифференцировке В-лимфоцитов. Ia-белки появляются на В-клетках на определенной стадии их антигеннезависимой дифференцировки, их количество возрастает при активации В-лимфоцитов антигенами и митогенами [32, 802], включая Кон А [805], а также антителами к мембранным Ig [679], которые увеличивают диаметр покоящихся В-лимфоцитов и переводят их в фазу G₁ (гл. III.3.4). При терминальной дифференцировке В-бластов в плазматические клетки Ia-белок с поверхности исчезает независимо от исчезновения мембранного Ig; тот же феномен наблюдается на клетках плазматом [768].

Увеличение экспрессии Ia-молекул на мембране особенно выражено при активации и дифференцировке Т-лимфоцитов мышей [429], морских свинок [2269] и человека [2297]. Количество Ia-белка на мембране иммунологически незрелых кортикальных тимоцитов (гл. II) во много раз ниже, чем на мембране зрелых (медуллярных) тимоцитов и периферических Т-лимфоцитов. У радиационных химер крыс Ia-антиген донора костного мозга был найден только на медуллярных тимоцитах [132]. Тем не менее с помощью высокочувствительных методов — проточной флуорометрии [553], радиоиммуноопределения [515], осаждения антителами биосинтетически меченного Ia-белка [1831] и двумерного электрофореза в геле [1524] — четко установлено присутствие и синтез Ia-белка в кортикальных тимоцитах и его идентичность Ia-молекулам селезенки и макрофагов по молекулярной массе и биохимическим свойствам. Доля Т-клеток крови человека, несущих Ia-антиген, возрастает от 0 до 20, 30 и 60—70% при их активации соответственно Кон А, столбнячным анатоксином и аллогенными клетками в MLC. Ia-молекулы мыши — продукты субрайонов I-A и I-E — экспрессируются на поверхности Т-клеток стабильной линии специфических супрессоров с такой же частотой и интенсивностью, как и на В-бластах, активированных липополисахаридом (ЛПС) [1055].

В этих случаях Ia-белок синтезируется *de novo* в несущих его клетках. Вместе с тем при совместной инкубации клеток различного типа (если они взаимодействуют в ходе реакции на антиген, присутствующий в культуре) Ia-молекулы могут слущиваться с поверхности одних клеток и пассивно адсорбироваться на других, в особенности на клонах стабильных линий Т-лимфоцитов [1226]. В частности, возникновение Ia-белка на поверхности пролиферирующих Т-лимфоцитов мышей, активированных аллоантигеном в первичной MLC [1442] или полипептидом, представленным на А-клетках во вторичной реакции *in vitro* [1473], обусловлено специфическим контактом слущенного с макрофагов Ia-белка с соответствующим антигенсвязывающим рецептором Т-лимфоцитов. Этот факт был установлен с помощью авторадиографии Т-лимфоцитов, связавших комплекс ¹²⁵I-меченного полипептида с Ia-белком А-клеток [1634].

1.3.3.2. Различия структуры, свойств, экспрессии и ассоциации на плазматической мембране α - и β -цепей Ia-молекулы

Несмотря на разнородность экспрессии Ia-антигенов и варьирование уровня этой экспрессии в зависимости от стадии дифференцировки и функционального состояния клеток, основная структура Ia-молекулы во всех случаях одинакова¹³. Она состоит из двух гликозилированных полипептидных цепей (α и β), которые различаются в разных аллелях I-района по электрофоретической подвижности и молекулярной массе (31—37 кДа для α -цепи и 25—29 кДа для β -цепи). Эти две переменные цепи ассоциированы с третьей — инвариантной цепью Ii, представленной во всех аллелях в двух вариантах (М.м. 31 и 41 кДа [2268a]), которые кодируются единым геном, расположенным вне МНС [436]. Три указанные цепи связаны нековалентно, причем Ii-цепь ассоциирована не со зрелыми (высокогликозилированными) α - и β -цепями Ia-молекулы плазматической мембраны, а с их слабогликозилированными предшественниками, локализованными в эндоплазматическом ретикулуме (цепь Ii выявляется и на мембране, но без ассоциации с другими цепями Ia-молекулы [1054]). С помощью специального детергента (люброл WX), лизирующего только мембранные белки живой клетки, зрелая мембранная Ia-молекула ($\alpha + \beta$) отделена от цитоплазматического предшественника ($\alpha + \beta + Ii$) [1404].

Функция Ii-цепи может оказаться важной, судя по избирательности ее включения только в Ia-молекулу: она не соединяется с другими мембранными гликопротеидами — молекулами МНС класса I, Ig, белками оболочки вирусов лейкемии, инкорпорированными в плазматическую мембрану [954]. Трансляция каждой из трех цепей Ia-молекулы в отдельности с помощью внедрения соответствующей мРНК в ооциты и последующая комбинация выделенных продуктов показали, что Ii-цепь, не оказывая влияния на формирование комплекса α/β , действительно необходима как для его последующего транспорта, так и для его полного гликозилирования [370a].

Детальное исследование первичной структуры α - и β -цепей молекулы HLA-DR человека (аналога I-E-молекулы мыши) и ее варианта DC-1 (аналога I-A-молекулы мыши) проведено на основании нуклеотидной последовательности соответствующих генов, выделенных с помощью обратной транскриптазы на матрице мРНК и последующего клонирования полученных транскриптов кДНК [1138, 1066, 108]. Оказалось, что α - и β -цепи состоят соответственно из 229—232 и 216—223 аминокислотных остатков и могут быть разделены на четыре домена: два вне-мембранных (α_1 и α_2 в α -цепи, β_1 и β_2 в β -цепи), трансмембранный и цитоплазматический (рис. 4). Различия структуры α - и β -цепей состоят в следующем.

1. Домен α_1 (84—87 остатков) короче, чем β_1 (91—93 остатка), хотя общее количество остатков двух вне-мембранных доме-

¹³ Количество N-ацетил-нейраминной кислоты на α -цепи Ia-молекулы В-лимфоцитов выше, чем на МФ селезенки [413].

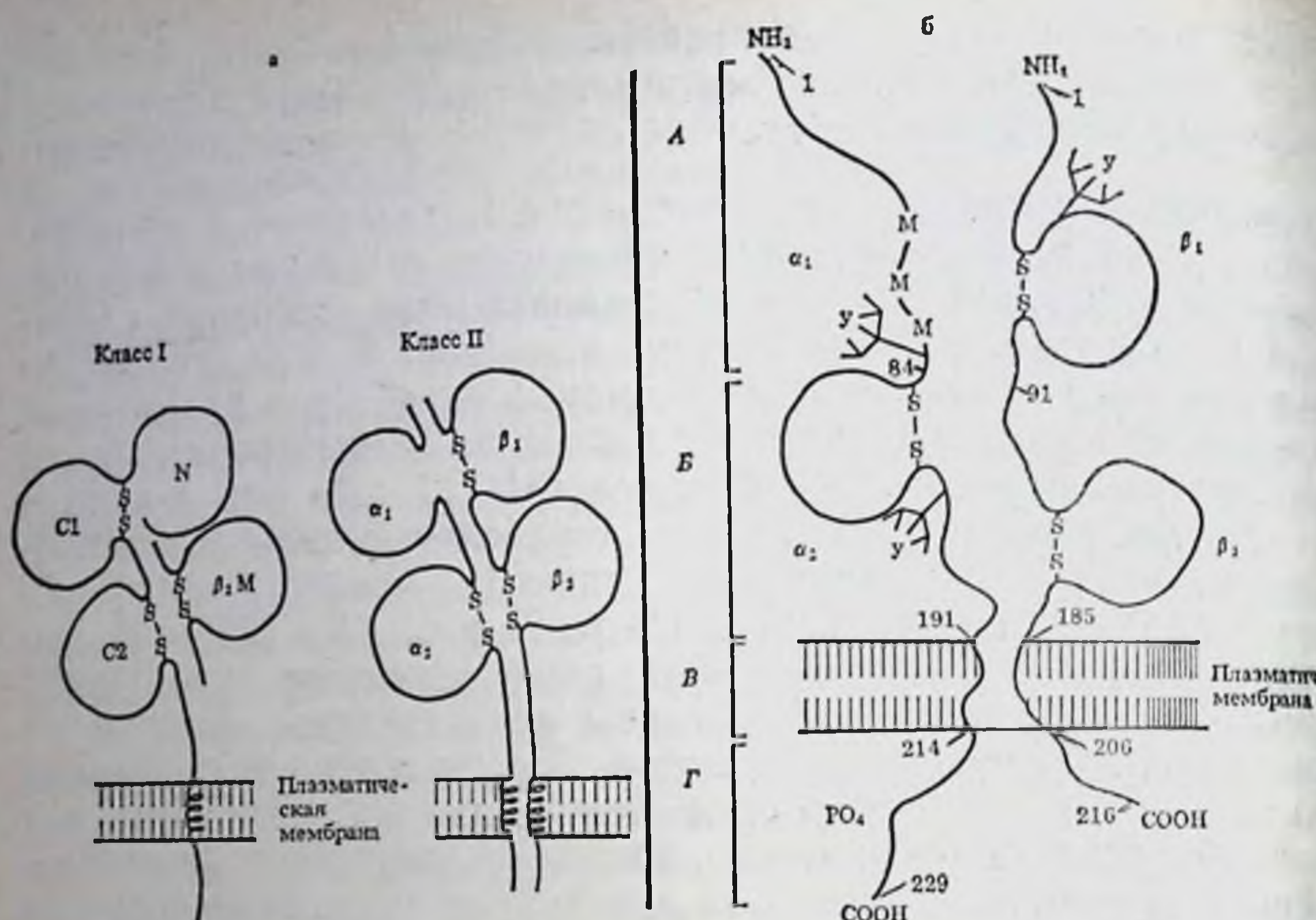


Рис. 4. Структурная организация молекулы МНС класса II (Ia-белка)

а — сопоставление общей структуры молекул МНС класса I и II; б — основные детали строения α - и β -цепей молекулы Ia мыши и HLA-DR человека. Домены: А и Б — 1-й и 2-й внеклеточные. В — трансмембранный, Г — цитоплазматический. Цифры — аминокислотные остатки на границах доменов. У — углевод, М—М — участок, насыщенный метионином

нов α - и β -цепей примерно одинаково. Большая величина α -цепи связана, во-первых, с наличием соединяющего пептида (13 остатков пролина и глутаминовой кислоты между доменом α_2 и трансмембранным доменом), который служит местом действия папаина, отщепляющего внеклеточную часть молекулы, и, во-вторых, с большей протяженностью трансмембранного домена (23 остатка в α -цепи и 21 остаток в β -цепи) и цитоплазматического домена (15 остатков в α -цепи и 10 остатков в β -цепи). 2. Дисульфидные цепи содержатся в каждом внеклеточном домене (β_1 и β_2) β -цепи, но только во втором домене α -цепи. Это связано с отсутствием цистеина в домене α_1 , который содержит все остатки метионина молекулы. 3. Углеводы присоединены только к одному (19-му) остатку β -цепи, но к двум (78-му в α_1 и 118-му в α_2) остаткам α -цепи. 4. В цитоплазматическом домене только α -цепи имеется серин, который подвергается фосфорилированию. 5. α -цепь более кислая, чем β -цепь, за счет большего содержания сиаловых кислот [412]. Хотя каждая из α - и β -цепей представлена на клеточной поверхности, их расположение в плазматической мембране, по-видимому, не идентично: β -цепь обнажена на поверхности в большей степени, чем α -цепь, судя по различию в эффективности их мечення ^{125}I с лактопероксидазой [1807].

Таблица 5

Зависимость экспрессии Ia-молекулы субрайона I-E МНС и ее α - и β -цепей от гаплотипа H-2

Фено- тип	Гаплотипы H-2 I-субрайонов		Экспрессия					Детерминан- ты	
			E β -цепи		E α -цепи		цельная Ia-мо- лекулы E β E α в мем- бране		
	I-A	I-E	в цито- плазме	в мем- бране	в цито- плазме	в мем- бране			
1	d, k, p, r, u, v	d, k, p, r, u, v	+	+	+	+	+	+	+
2	b, s	b, s	+	—	—	—	—	—	—
3	f, q	f, q	—	—	—	—	—	—	—
4*	b, s	d, k, p, r	+	+	+	+	+	+	+
5*	f, q	k	—	—	±	±	—	±	—

* Фенотипы 4 и 5 характеризуют рекомбинантные линии (см. табл. 1), т. е. возникают в результате цис-комплементации.

Различия между α - и β -цепями не случайны, поскольку они, по-видимому, выполняют разные функции: антигенное разнообразие Ia-белков определяется главным образом β -цепью, которая отличается от α -цепи исключительной неоднородностью первичной структуры (см. ниже). Однако β -цепь сама по себе не экспрессируется на плазматической мембране; необходимым условием для ее экспрессии является образование комплекса с α -цепью, который возникает в цитоплазме [1053]. Эта закономерность была установлена при изучении продукта субрайона I-E благодаря удивительному факту: в клетках четырех гаплотипов H-2 (b, f, q, s), в отличие от клеток других гаплотипов (d, k, p, r, u, v), не синтезируется α -цепь этой молекулы (обозначаемая E α). Поскольку антигенным маркером цепи E α служит общая для разных гаплотипов H-2 «public» детерминанта Ia.7, то с помощью антител анти-Ia.7 удалось показать, что клетки мышей гаплотипов H-2^{d,k,p,r,u,v} — E α ⁺ Ia.7⁺ (табл. 5, фенотип 1), а клетки гаплотипов H-2^{b,f,q,s} — E α ⁰ и Ia.7[—] (табл. 5, фенотипы 2 и 3)¹⁴. Из табл. 5 также видно, что на мембране клеток отсутствует не только цепь E α , но и цепь E β , т. е. вся молекула I-E.

Хотя причиной указанного дефекта является отсутствие цепи E α в четырех указанных гаплотипах, в двух из них — H-2^{b,s} — клетки синтезируют цепь E β , которая обнаруживается в цитоплазме в нормальном количестве (табл. 5, фенотип 2), и дефект полностью устраняется, если их цепь E β ассоциируется с цепью E α , содержащейся в клетках иных гаплотипов H-2 — d, k, p, r (табл. 5, фенотип 4). Такая ассоциация возникает у мышей-ре-

¹⁴ Отсутствие цепи E α обусловлено неидентичными причинами в четырех указанных гаплотипах: делецией E α -гена (в H-2^{b,s}), aberrантным размером мРНК (в H-2^f) или нарушением ее процессинга (в H-2^q) [1304].

комбинантов, в Ia-молекуле которых комбинируются цепи E_{β}^b и E_{α}^k [(линия B10.A(5R) — см. табл. 1)] или E_{β}^s и E_{α}^k [(линия B10.S(9R) — см. табл. 1)]. Напротив, в клетках с гаплотипами H-2^l цепь E_{β} не выявляется не только на мембране, но и в цитоплазме (табл. 5, фенотип 3)¹⁵. В связи с этим их дефект не устраняется (молекула I-E по-прежнему не экспрессируется) даже при рекомбинациях гаплотипов H-2^l с цепью E_{α}^+ гаплотипа H-2^k (табл. 5, фенотип 5).

Эти данные однозначно свидетельствуют о том, что одна из функций α -цепи — регуляция экспрессии на мембране всей Ia-молекулы [955]. Вместе с тем сама по себе α -цепь может экспрессироваться на мембране без ассоциации с β -цепью, если последняя отсутствует: рекомбинант (A.TFR5) между линиями H-2^l и H-2^k, лишенный цепи E_{β} (которая не синтезируется клетками H-2^l, см. табл. 5, фенотип 3), содержит на мембране цепь E_{α}^k (т. е. несет специфичность Ia.7) (табл. 5, фенотип 5). Однако в этом случае количество детерминант Ia.7 снижено в 5—10 раз в связи с уменьшением синтеза цепи E_{α} в клетках рекомбинанта A.TFR5. Поскольку эти дефекты рекомбинанта полностью отменяются, если его гибридизовать с мышами, имеющими только цепь E_{β} , но не E_{α} , следует думать, что цепь E_{β} каким-то образом контролирует интенсивность синтеза цепи E_{α} , но не ее экспрессию на мембране [1431].

Использование указанных рекомбинантных линий мышей позволило установить еще один важный факт. В то время как обе цепи (α и β) молекулы I-A (A_{α} и A_{β}) кодируются тесно сцепленными генами, локализованными в одном субрайоне I-A, локусы, контролирующие α - и β -цепи молекулы I-E (E_{α} и E_{β}), пространственно разобщены: локус E_{β} локализован вместе с генами A_{α} и A_{β} в субрайоне I-A (поэтому локус E_{β} обычно обозначают A_{ϵ}), а локус E_{α} — в субрайоне I-E, пространственно отделенном от субрайона I-A (см. рис. 1). Из рис. 5 видно, что возникновение I-E молекулы на мембране — результат *цис*-комплементации продуктов двух разобщенных генов одной хромосомы.

Аналогичная комбинаторная I-E молекула возникает при *транс*-комплементации, если цепи E_{β} и E_{α} контролируются генами разных хромосом у гибридов F₁. Тот же процесс происходит и при синтезе молекулы I-A: ее β -цепь (A_{β}) гаплотипа H-2^k (A_{β}^k) может ассоциироваться в гибридах F₁ с α -цепями той же молекулы как своего гаплотипа (A_{α}^k), так и гаплотипа H-2^b (A_{α}^b), что ведет к возникновению комбинаторной I-A молекулы — $A_{\beta}^k A_{\alpha}^b$ [1874]. Таким образом, внутри данного типа молекулы (I-A или I-E) α - и β -цепи могут свободно комбинироваться независимо от гаплотипов H-2. Напротив, те же цепи, входящие в состав Ia-молекул двух разных типов (I-A и I-E), редко ассоциируются при *цис*- или *транс*-комплементации.

¹⁵ Отсутствие синтеза цепи E_{β} не является следствием делеции гена, который представлен в хромосоме гаплотипов H-2^l. ч [1949].

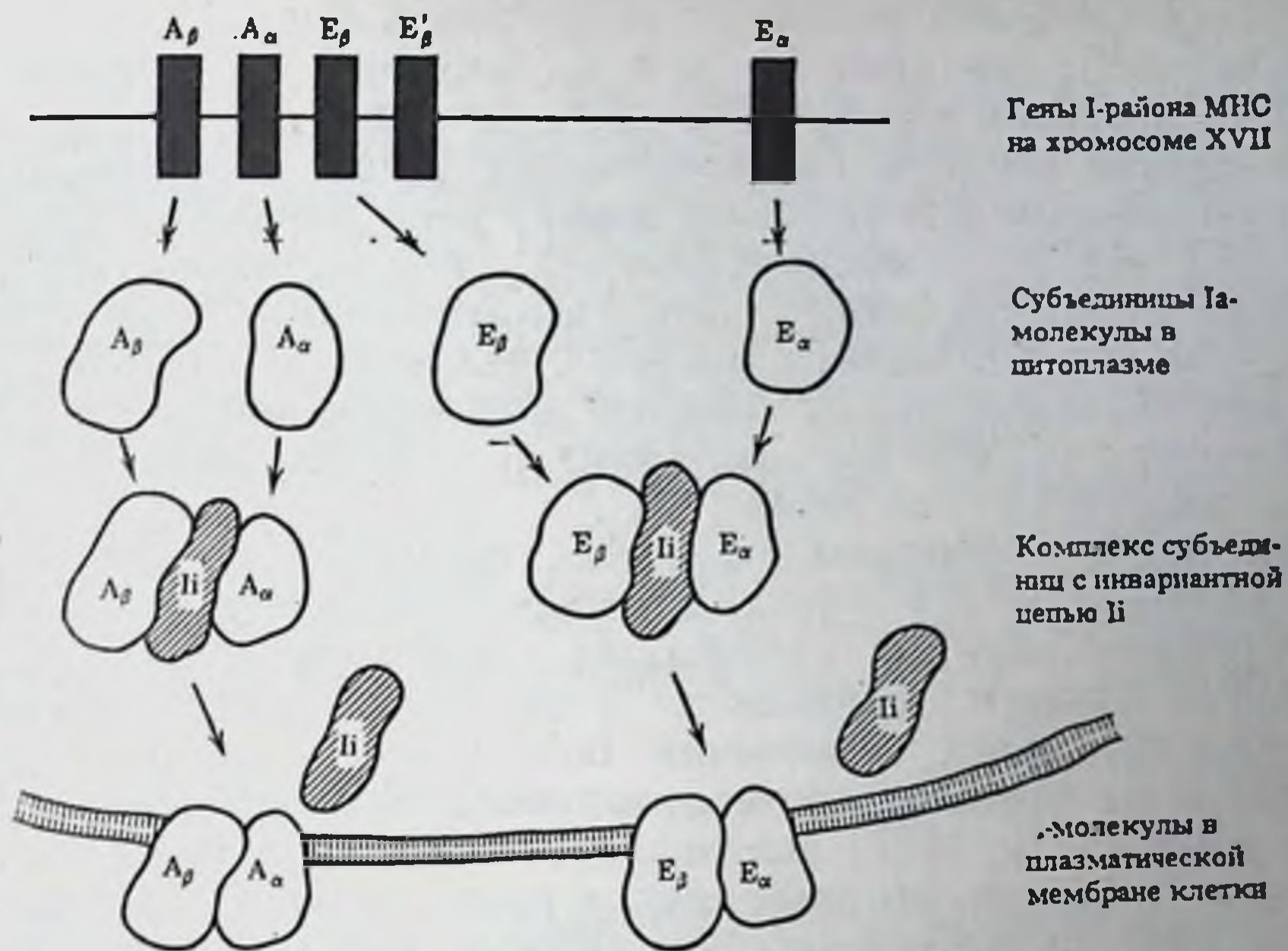


Рис. 5. Этапы формирования в клетке Ia-молекул — продуктов субрайонов I-A и I-E [1949]

Можно считать установленным, что гены (или комплексы генов) каждого из трех локусов — A_β , A_α и A_e (E_β) — независимы. Это следует из двух фактов. 1. У спонтанного мутанта *bm12* с изменившейся цепью A_β остальные две цепи — A_α и E_β — не отличаются от цепей исходного гаплотипа $H-2^b$ [1320, 1116]. 2. Найден кроссинговер между локусами $A_\alpha A_\beta$, с одной стороны, и A_e — с другой у мышей диких [1887] и рекомбинантных линий [1613]. На основании анализа клонированных фрагментов ДНК предположение о центромерно-теломерном расположении генов на хромосоме $A_\alpha \rightarrow A_\beta \rightarrow E_\beta$ [1949] было в последующем заменено на обратное: $A_\beta \rightarrow A_\alpha \rightarrow E_\beta$ [875].

1.3.3.3. Химический и серологический полиморфизм Ia-белков

Различие функций α - и β -цепей Ia-молекулы следует также из данных по изучению их первичной структуры (последовательности АК и пептидных карт). Гомология оказалась минимальной при сравнении α - и β -цепей одной и той же Ia-молекулы мыши [411], а также двух α -цепей (или двух β -цепей), входящих в состав Ia-молекул разных типов — I-A и I-E [2117].

Вместе с тем при анализе межаллельных сравнений по степени гомологии первичной структуры цепей Ia-молекул данного типа были выявлены существенные различия между цепью E_α , с одной стороны, и цепями A_α , A_β и E_β — с другой. Оказалось, что цепь E_α в молекуле I-E разных аллелей значительно более

однородна (90%-ная гомология по пептидам и лишь единичные различия АК), чем цепи A_α , A_β и E_β , которые гомологичны по 55—70% пептидов для A_α - и 35—50% пептидов для β -цепей, что соответствует 10—20% аминокислотных замен, распределенных главным образом в N-концевом домене внеклеточного участка [608, 397, 2117]. С мономорфностью цепи E_α мыши связана 60%-ная гомология между цитоплазматическими доменами α -цепей молекул I-E мыши и HLA-DR человека при полном отсутствии гомологии между теми же доменами цепей E_α и A_α мыши, несмотря на 50%-ное совпадение при анализе полной последовательности АК этих цепей [174].

Помимо межклеточных вариаций первичной структуры цепей, Ia-молекулы имеют иные источники полиморфизма.

Во-первых, имеется разнообразие генов, кодирующих эти цепи внутри данного I-субрайона, а также найдены варианты посттрансляционных изменений Ia-молекулы данного типа. Первый факт следовал из того, что каждый из субрайонов I-A [888] и I-E [1119, 1532] контролирует синтез не одного, а двух или трех Ia-белков, которые слегка различаются по пептидным картам [445] и последовательно осаждаются МКАТ из лизата одних и тех же клеток. Существование нескольких генов в каждом из локусов, кодирующих α - и β -цепи Ia-белка (а также вариантов структуры этих генов), полностью подтверждено при выделении генов МНС — как I-района мыши, так и HLA-D района человека (гл. 1.3.3.6). Кроме того, продукт данного I-A-субрайона может содержать два типа β -цепи — $A_{\beta 1}$ и $A_{\beta 2}$, идентичные по первичной, антигенной структуре и способности ассоциироваться с одной и той же α -цепью, но разделяемые с помощью двумерного электрофореза в полиакриламидном геле за счет неидентичного расположения внутримолекулярных —S—S— мостиков, что ведет к изменению четвертичной структуры молекулы [1052]. Продукт одного из этих генов ($A_{\beta 2}$) транслируется только в В-клетках — на сцепленных с мембраной рибосомах (отсутствуя на самой мембране), тогда как в МФ этот ген не транскрибируется вовсе [2168a]. Три категории (α_1 , α_2 и α_3) α -цепи одной и той же молекулы I-A, идентичные по пептидной структуре, различаются набором углеводов [402].

Во-вторых, с помощью конкурентного ингибирования связывания меченых антител моноклональными анти-Ia антителами установлено существование на каждой из α - и β -цепей множества антигенных детерминант, расположенных в виде «кластеров», топология которых неидентична на разных Ia-молекулах одной специфичности. В частности, специфичность Ia.7 цепи E_α в действительности представляет собой комплекс из трех таких «кластеров», каждый из которых включает от 3 до 8 детерминант [1594].

Некоторые из этих общих (public) детерминант цепи E_α^k представлены в молекулах I-A^k и I-A^b [1227, 210]; одни и те же «public» Ia-детерминанты выявляются МКАТ на продуктах субрайонов — как I-A (с высокой плот-

ностью — 40—80 тыс. на клетку), так и I-E (с низкой плотностью — 5 тыс. на клетку) разных гаплотипов H-2 [197].

Предпринята попытка локализовать в цепи A_α подобные «кластеры», распознаваемые МкАТ и клонами Т-клеток, путем сопоставления нуклеотидной последовательности генов, кодирующих цепь A_α разных гаплотипов. Оказалось, что последовательность АК 57—75, уникальная для A_α^k , отличает ее от той же цепи иных гаплотипов и, возможно, является тем участком молекулы, где локализованы ее антигенные «кластеры» [611].

В-третьих, помимо детерминант, характерных для α - и β -цепей, Ia-молекула содержит «гибридные» (комбинаторные) детерминанты, возникающие только при специфической ассоциации α - и β -цепей. Например, из табл. 5 следует, что детерминанта Ia.22 отсутствует на цепях E_β (фенотип 2) и E_α (фенотип 5) и выявляется только на цельной молекуле $E_\beta E_\alpha$ (фенотип 4).

1.3.3.4. Разнообразие комбинаторных детерминант Ia-молекулы

В табл. 6 представлена зависимость обнаружения комбинаторных детерминант Ia.22 и Ia.23 на молекуле I-E от сочетания аллельных вариантов ее α - и β -цепей [1116, 1118]. Можно видеть, что специфичность Ia.22 возникает как при *цис*-комплементации — у гомозиготных мышей рекомбинантных (варианты 1—3) или обычных линий (вариант 8), так и при *транс*-комплементации — у гибридов F_1 (варианты 4—6). Обнаружение специфичности Ia.22 не зависит от того, относятся ли комбинирующиеся α - и β -цепи к одному и тому же аллелю (варианты 1 и 8) или к разным аллелям H-2 (варианты 2—6). Более того, одна и та же α -цепь E_α^p может участвовать в генерации разных комбинаторных специфичностей — Ia.22 (варианты 5, 6), Ia.23 (вариант 14) или пока неизвестной детерминанты (вариант 7) — в зависимости от аллеля β -цепи (соответственно H-2^{b,k}, H-2^d и H-2^s), с которой она ассоциируется. То же относится к α -цепям других аллелей — H-2^{k,d} (ср. варианты 2 и 13, 4 и 12). Еще одна α -цепь — E_α^u (линия B10.PL) значительно более эффективно генерирует специфичность Ia.22 при ассоциации с β -цепью сингенного гаплотипа H-2^u (вариант 8), чем аллогенных гаплотипов H-2^{b,k,s} (варианты 9—11). Напротив, аллель β -цепи, по-видимому, более важен для возникновения данной комбинаторной детерминанты: если β -цепь принадлежит к аллелю H-2^d, возникает специфичность Ia.23, независимо от аллеля α -цепи (H-2^{d,k,p}), с которой она ассоциируется (варианты 12—14).

На основании данных табл. 6 можно сделать следующие выводы.

1. Разнообразие комбинаторных детерминант в большей мере зависит от вариабельности β -, чем α -цепи. Казалось бы, варианты 1, 2, 3 не согласуются с таким выводом: комбинации, в которых варьирует только β -цепь E-молекулы, — $A^k E^k$, $A^b E^k$, $A^s E^k$ —

Таблица 6

Комбинаторные детерминанты молекулы I-E гомо- и гетерозиготных линий мышей

Вариант	I-A	I-E	Комбинация цепей $\beta+\alpha$, продуктов I-субрайонов	Характер комплементации	Комбинаторная детерминанта Ia-белка
	$\Lambda_e(E_\beta)$ -локус	E_α -локус			
	β -цепь	α -цепь			
1	B10.A ^k	B10.A ^k	A ^k E ^k	Цис	Ia.22
2	B10.A(5R) ^b	B10.A(5R) ^k	A ^b E ^k	»	Ia.22
3	B10.S(9R) ^s	B10.S(9R) ^k	A ^s E ^k	»	Ia.22
4	F ₁ (B10 ^b ×	B10.D2 ^d)	A ^b E ^d	Транс	Ia.22
5	F ₁ (B10 ^b ×	B10.P ^p)	A ^b E ^p	»	Ia.22
6	F ₁ (B10.A(4R) ^k ×	B10.P ^p)	A ^k E ^p	»	Ia.22
7	F ₁ (B10.S ^s ×	B10.P ^p)	A ^s E ^p	»	Ia.?(22 ⁻)
8	B10.PL ^u	B10.PL ^u	A ^u E ^u	Цис	Ia.22
9	F ₁ (B10.A ^b	B10.PL ^u	A ^b E ^u	Транс	Ia.22
10	F ₁ (B10.A ^k		A ^k E ^u		Ia.?(22 ⁻)*
11	F ₁ (B10.S ^s		A ^s E ^u		
12	B10.D2 ^d	B10.D2 ^d	A ^d E ^d	Цис	Ia.23
13	F ₁ (D2.GD ^d ×	B10.A(5R) ^k	A ^d E ^k	Транс	Ia.23
14	F ₁ (D2.GD ^d ×	B10.P ^p)	A ^d E ^p	»	Ia.23

* Ia.22 обнаруживаются на клетках гибридов F₁ в 8 раз меньшем количестве, чем на клетках мышей B10.PL [1332].

несут одну и ту же специфичность Ia.22. Однако в действительности эта специфичность оказалась комплексной: в состав семейства Ia.22 входят несколько детерминант, определяемых MkAT (Ia.m44, Ia.m47 и др.), каждая из которых уникальна, т. е. представлена только в одной из трех указанных комбинаций разных β -цепей с той же E _{α} ^k [1119, 794, 1180, 1749]. Таким образом, разнообразие комбинаторных детерминант молекулы I-E значительно превышает то, которое представлено в табл. 6.

2. Это разнообразие еще выше у гетерозигот, где помимо цис-возможны транс-комплементации. Наличие уникальных комбинаторных детерминант у гибридов F₁ (P₁ × P₂) (P₁ и P₂ — родительские линии мышей) прямо продемонстрировано после истощения сыворотки P₁ анти-F₁ клетками P₂ [2289].

3. Если разнообразие комбинаторных I-E молекул, возникающих при транс-комплементации у гибридов F₁, определяется главным образом аллелями β -цепи, то количественная экспрессия таких молекул, напротив, зависит от аллеля α -цепи (E _{α}): она велика в молекуле A _{β} ^bE _{α} ^d (вариант 4), промежуточная в молекуле A _{β} ^bE _{α} ^k (вариант 2) и минимальна в молекуле A _{α} ^bE _{α} ^u (ва-

риант 9). Этот факт, четко установленный и иммунологически, и биохимическими методами [394], по-видимому, важен для предрасположения к некоторым заболеваниям человека: вероятность возникновения диабета у потомка прямо зависит от сочетания аллелей молекулы HLA-DR (аналога молекулы I-E мыши), унаследованных им от родителей [309].

4. Комбинаторные Ia-детерминанты выявляются не только в I-E, но и в I-A молекуле — при ассоциации цепей $A_\alpha A_\beta$. В I-A молекуле мутанта bml2, отличающейся от I-A молекулы исходной линии C57BL (H-2^b) тремя остатками АК цепи A_β [1320], наблюдается 10-кратное снижение экспрессии СО специфичностей субрайона I-A^b — Ia.3, 9, 15, 20 и полное исчезновение Ia.8. Оказалось, что при скрещивании мышей bml2 с B10.A(4R), которые имеют субрайон I-A^k (см. табл. 1) и не несут ни одной из перечисленных Ia специфичностей, возникающая при *транс*-комплементации ассоциативная Ia-молекула $A_\alpha^b A_\beta^k$ содержит нормальное количество четырех из пяти указанных специфичностей — Ia.3, 9, 15, 20 [1118]. Это означает, что все четыре детерминанты — комбинаторные: они отсутствуют (или их очень мало) на отдельных цепях A_α^b и A_β^k и нормально экспрессируются лишь при ассоциации α -цепи, сохранившейся у мутанта, с β -цепью иного гаплотипа (H-2^k). Напротив, специфичность Ia.8 молекулы I-A^b, по-видимому, является маркером β -цепи этой молекулы (A_β^b) или уникальной комбинаторной детерминанты $A_\alpha^b A_\beta^b$, которая не представлена на молекуле $A_\alpha^b A_\beta^k$ гибрида F₁ [(bml2 × B10.A(4R))].

Иная комбинаторная детерминанта Ia.W39 той же молекулы $A_\alpha^b A_\beta^b$, хотя, так же как Ia.8, отсутствует в мутантной ($A_\alpha^b A_\beta^{bml2}$) и гибридной ($A_\alpha^b A_\beta^k$) молекулах [888], отличается от Ia.8: только Ia.W39 исчезает у самца F₁ (C57BL × CBA/N), не имеющего никаких дефектов структурных генов XVII хромосомы, но дефектного по регуляторному (xid-) гену X-хромосомы [784].

Рецессивный xid-ген X-хромосомы контролирует созревание В-лимфоцитов и макрофагов. Мутация этого гена проявляется только у самца (у самки она компенсируется геном второй X-хромосомы) и определяется серологически — по отсутствию комбинаторной детерминанты Ia.W39, которая экспрессируется (в молекуле I-A^b) только на зрелой субпопуляции В-клеток и макрофагов гаплотипа H-2^b.

Комбинаторные Ia-детерминанты не только индуцируют антитела, но и активируют различные Т-субклассы. В частности, комбинаторная детерминанта Ia.W39 молекулы $A_\alpha^b A_\beta^b$ вызывает пролиферативную реакцию Т-клеток мутанта bml2, утратившего Ia.W39: Т-клетки мышей bml2 реагируют в МЛС значительно интенсивнее на клетки-стимуляторы самки гибрида F₁ (C57BL × CBA/N), содержащего Ia.W39, чем самца того же гибрида, лишённого Ia.W39 [1895].

Такая же реакция Т-лимфоцитов *in vitro* на комбинаторную детерминанту молекулы I-E наблюдается при различии между

Таблица 7

Прямая и перекрестная реакция пролиферирующих и цитотоксических Т-лимфоцитов, иммунных к I-E антигенам *

Реципиент			Донор			Специфичность реакции	Интенсивность реакции*2 на КМ	
Линия мышей	аллели H-2 цепей молеку- лы I-E		Линия мышей	аллели H-2 цепей молеку- лы I-E			B10.A (2R)	B10.S (9R) или B10.HTT
	E _β	E _α		E	E _α			
B10.A(4R)	(k)*3	0(b)*4	B10.A(2R)	k	k	Анти-E _β ^k E _α ^k	+++	±
B10.S(7R)	(s)*3	0(s)*4	B10.S(9R) или B10.HTT	s	k	Анти-E _β ^s E _α ^k	±	+++

* Различия между донором и реципиентом по субрайонам I-J и I-C не учитываются, поскольку их продукты не индуцируют реакции.

** Пролиферация во вторичной MLC [1565] или генерация ЦТЛ в первичной MLC [964].

** β -цепь имеется в цитоплазме, но не экспрессируется на мембране ввиду отсутствия α -цепи (см. табл. 5).

** α -цепь отсутствует: E_α^0 в гаплотипах H-2^{b, s} (см. табл. 5); (±) слабая реакция; (++) интенсивная реакция.

донором и реципиентом только по цепи E_α^k (табл. 7). В этом случае иммунные Т-лимфоциты интенсивно пролиферируют и оказывают цитотоксический эффект только при реакции на клетки соответствующего донора, но не на «посторонние» клетки, хотя последние несут ту же иммунизирующую цепь E_α^k , что и клетки донора [1565, 964].

Реактивность Т-клеток против комбинаторных детерминант Ia-молекулы прямо установлена при возникновении последних у гибридов F_1 в результате *транс*-комплементации генов соседних хромосом. В этом случае превышение пролиферативной реакции иммунных Т-клеток мышей линии А анти- F_1 ($A \times C57BL$) на стимуляторы F_1 по сравнению со стимуляцией клетками C57BL воспроизведено при получении клонов Т-лимфоцитов, специфичных к возникшей у гибрида комплексной комбинаторной детерминанте [554]. Наконец, реакция Т-лимфоцитов на комбинаторную Ia-детерминанту продемонстрирована при изучении иммунореактивности аллогенных радиационных химер ($P_1 \rightarrow P_2$), толерантных к Ia-антигенам обеих линий: Т-клетки химер пролиферируют в MLC только на Ia-антигены гибрида F_1 ($P_1 \times P_2$), но не родительских линий, т. е. на продукт *транс*-комплементации Ia-молекулы родителей [1096].

Важно отметить, что клоны иммунных Т-клеток могут дискриминировать такие разновидности данной комбинаторной детерминанты молекулы I-E [1589] или I-A [154], которые представлены у мышей разных линий и их гибридов F_1 и не различаются антителами.

1.3.3.5. Источники разнообразия антигенных детерминант Ia-молекулы

Хотя Ia-молекулы, кодируемые двумя субрайонами I-A и I-E, которые определяют функцию Iг-генов (гл. I.4.1), содержат лишь четыре переменные цепи (A_β , A_α , E_β , E_α), совокупность данных указывает на множество источников, обеспечивающих разнообразие их антигенных детерминант, количество которых может составлять внутри вида несколько сотен. К таким источникам относятся: переменность последовательности АК по крайней мере трех цепей (A_α , A_β , E_β); наличие нескольких генов каждого локуса, кодирующего данную цепь; переменность тонкой структурной организации Ia-молекулы (например, расположения —S—S— мостиков в β -цепи или углеводов α -цепи); возможность нарушения синтеза одной из цепей (α или β), что приводит к изменению экспрессии детерминант другой цепи той же молекулы; множество антигенных детерминант на каждой цепи; сборка этих детерминант в виде «кластеров», неодинаково расположенных на цепях данного типа Ia-молекул разных аллелей; возникновение уникальных комбинаторных детерминант при ассоциации α - и β -цепей; переменность участка соединения α - и β -цепей, что приводит к разнообразию комбинаторных детерминант; дальнейшее увеличение разнообразия комбинаторных детерминант при *транс*-комплементации у гетерозигот; способность Т-клеток дискриминировать комбинаторные детерминанты, не различаемые антителами. Последнее обстоятельство только начинает изучаться; не исключена возможность, что разные субпопуляции Т-лимфоцитов неидентичны по структуре распознаваемых ими детерминант Ia-молекул, подобно тому как это наблюдается по отношению к детерминантам молекул H-2K/D (гл. V.4.4) и разнообразных гетеробелков (гл. V.3.4).

Реальный вклад этих источников в разнообразие распознаваемых Т-клетками детерминант данной Ia-молекулы четко продемонстрирован экспериментально: восемь клонов иммунных Т-клеток А.ТН анти-А.ТL, пролиферирующих в MLC при реакции только на молекулу I-E^k, оказались неидентичными по своей специфичности (табл. 8). Один из них реагировал только на цепь E _{β} ^k, второй — на «public» детерминанту Ia.7 цепи E _{α} , общую для всех гаплотипов, каждый из остальных шести обладал индивидуальной перекрестной реактивностью (ПР) по отношению к комбинаторным детерминантам молекулы I-E какого-либо из «посторонних» гаплотипов или спектра таких «посторонних» I-E молекул [1590]. Два из 8 клонов (4-й и 5-й) в отличие от остальных не реагировали на иммунизирующую молекулу E _{β} ^kE _{α} ^k, возникающую при *транс*-комплементации у гибрида F₁ (табл. 8). Этот результат, подкрепленный индивидуальным ингибированием реакции каждого Т-клона с помощью MkAT к молекуле I-E^k, — прямое доказательство того, что данный Ia-белок инду-

Таблица 8. Разнообразие тонкой специфичности клонов Т-клеток, иммунных к молекуле I-E^k (по: [1590])

	Аллели цепей I-E молекул клеточ-стимуляторов		Проллиферативная реакция клонов (1-8) Т-клеток анти-I-E							
	E _β	E _α	1	2	3	4**	5**	6	7	8
А.ТЛ или СВАО Рекомбинанты или гибриды F ₁ I-E-***	1. k	(k цис)	+	+	+	+	+	+	+	+
	2. k	b, s, f, q	-	-	-	-	-	-	-	-
	3. k	j (транс)	+	+	+	+	+	+	+	+
	4. k	г »	+	+	+	+	+	+	+	+
	5. k	d »	+	+	+	-	-	+	?	?
	6. k	p »	+	+	+	+	+	+	+	+
	7. k	k »	+	+	+	-	-	+	+	+
Гибриды F ₁ I-E ⁺ Рекомбинанты I-E ⁺ B10.A(3R), B10.A(5R) B10.HTT, B10.S(9R) BALB/c C3H.NB B10.RIII B10.SM B10.WB B10.PL	8. b	k (цис)	-	+	-	-	-	+	+	?
	9. s	k »	-	+	-	-	-	-	+	+
	10. d	d	-	+	-	-	-	-	-	+
	11. p	p	-	+	-	+	+	-	+	+
	12. г	г	-	+	-	-	-	+	-	+
	13. v	v	-	+	-	-	+	-	+	+
	14. j	j	-	+	-	-	-	+	-	+
	15. u	u	-	+	+	-	-	+	-	+
Распознаваемая детерминанта молекулы I-E ^k			E _β ^k только	E _α общая (Ia.7)	u	E _β ^k E _α ^k и перекресты с I-E гаплотипов	p, v	b/k, d, г, u, j	b/k, s/k p, v, u	s/k, d г, v, j

* Из Т-клеток А.ТН анти-А.ТЛ (анти-Ia^k) были отобраны 8 клонов, пролиферирующих в МЛС при реакции на молекулу I-E^k (строка 1), но не I-A^k; в отсутствие молекулы I-E (аллели E_α^{b, s, f, q} см. табл. 5) реакция не выявляется (строка 2), несмотря на экспрессию молекулы I-A^k у мышей (см.***)

** Клоны 4 и 5 реагируют на молекулу E_β^kE_α^k, возникшую при цис-(строка 1), но не транс-комплементации (строка 7).

*** Цепь E_α отсутствует и I-E молекула не экспрессируется у рекомбинантов B10.A(4R):E_β^kE_α^b (цис); B10.S(8R):E_β^kE_α^s (цис); [B10.A(4R)×A.CA]F₁:E_β^kE_αⁱ (транс); [B10.A(4R)×C3H.Q]F₁:E_β^kE_α^q (транс).

цирует множество клонов Т-клеток, каждый из которых распознает его индивидуальные детерминанты.

Еще один источник разнообразия Ia-молекул — их спонтанные мутации: замена лишь трех АК в цепи A_β^b мутанта bm12 ($Ile^{67} \rightarrow Phe$, $Arg^{70} \rightarrow Gln$, $Thr^{71} \rightarrow Lys$) приводит к изменению ее укладки и снижению ассоциации с цепью A_α , что сопровождается уменьшением плотности молекулы I-A на поверхности клетки [1319] и разнообразными изменениями функций Ig-генов (гл. 1.4.1.3).

Не исключена также вариабельность химической структуры антигенных детерминант Ia-молекулы. Хотя, как правило, эти детерминанты расположены на пептидной цепи [411], в сыворотке крови мышей или в среде краткосрочных культур лимфоидных клеток найдены Ia-олигосахариды, неидентичные в различных гаплотипах H-2 и синтезируемые не В-, а Т-лимфоцитами с фенотипом $Lyt-1+2-3-$ [1322]. Предполагается, что Ia-гены кодируют набор гликозилтрансфераз, которые модифицируют концевые углеводные остатки гликопротеидов, что ведет к возникновению множества Ia-специфичностей. Хотя некоторые из этих данных не подтверждены [430], тот факт, что содержание Ia-гликолипидов в сыворотке крови возрастает в 10—50 раз после антигенной или митогенной стимуляции, а также перед отторжением аллотрансплантата, но снижается перед началом роста сингенной опухоли у мышей [1324], может оказаться ценным для иммунодиагностики.

1.3.3.6. Гены, кодирующие Ia-белки

Упомянутые выше (гл. 1.3.3.2) методические подходы позволили выделить и секвенировать Ia-гены I-района XVII хромосомы мыши, кодирующие α - и β -цепи I-A и I-E молекул и их аналоги МНС человека — гены района HLA-D VI хромосомы.

Для изучения вопроса о количестве Ia-генов внутри I-района был проведен гибридизационный анализ набора клонированных фрагментов ДНК, которые включают гены A_β , A_α , E_β и E_α [1949, 2228]. Оказалось, что на участке хромосомы протяженностью 140 тыс. п. о. имеется ограниченное число Ia-генов (два для α -цепей, четыре для β -цепей и один нетранскрибируемый псевдоген 3-го варианта молекулы Ia, расположенный ближе к К-району). Кроме того, небольшой фрагмент ДНК (от 2 до 3,4 тыс. п. о.) между генами E_β и E_α предположительно предназначен для кодирования продуктов субрайона I-J (см. рис. 1).

Функция указанных генов твердо установлена с помощью их трансфекции: внедрения гена одной β -цепи A_β^k в клетки лимфомы H-2^d достаточно для экспрессии этой цепи на мембране (по-видимому, вследствие ее ассоциации с α -цепью A_α^d), что сопровождается приобретением КМ способности стимулировать пролиферацию сингенных Т-лимфоцитов H-2^d и даже «презентировать» антиген иммунным сингенным Т-лимфоцитам, реагирующим на него только в комплексе с той же (внедренной) молекулой I-A^k [655]. Та же функция презентации антигена возникает в L-клетках (фибробластах) мыши, лишенных молекулы МНС класса II (но содержащих цепь Ii в цитоплазме), после транс-

фекции клонированных генов обеих цепей (α и β) I-A молекулы мыши [1265, 1483] или HLA-D молекулы человека [113]. В последнем случае фибробласты мыши приобретают чувствительность к ЦТЛ человека, специфичным к вирусу гриппа в комплексе с данной молекулой МНС класса II. Поскольку трансфекция генов HLA-DR в геном L-клеток мыши приводит к обнаружению на мембране и в лизатах клеток цельных молекул DR человека с помощью МкАТ [1640], очевидно, что транскрипции набора соответствующих генов в чужеродном геноме достаточно для нормальной сборки α - и β -цепей Ia-подобной молекулы человека и ее экспрессии на мембране клетки мыши.

Трансфекция рекомбинантного гена, кодирующего химерную молекулу МНС обоих классов, в которой только один периферический домен относится к субъединице I-A_β молекулы класса II, также достаточна для возникновения чувствительности клеток к лизису ЦТЛ, иммунизированных аллогенной I-A молекулой. Это прямо означает, что ЦТЛ избирательно распознают первый внемембранный (полиморфный) домен I-A молекулы в отсутствие всех остальных ее компонентов [681]. Столь же демонстративна трансфекция в L-клетки комбинации экзонов первых доменов цепи A_β разных аллелей: в каждом случае на L-клетках возникает разная комбинаторная детерминанта молекулы I-A, что создает возможность презентации антигена только той Т-гибридоме, которая специфична к данной комбинаторной детерминанте [1154a]. Трансфекция гена E_α мыши (H-2^d или H-2^k), реактивной к полимеру GLPhe, в оплодотворенную яйцеклетку [2268a] или в ядерный пронуклеус самца [1170a] нереактивных мышей гаплотипа H-2^b приводит к возникновению GLPhe-реактивности у потомков — подход, весьма перспективный для иммунотерапии генетической нереактивности.

В отличие от I-A и I-E генов, гены I-J и I-C не идентифицированы (и их продукты не выделены), несмотря на получение антител к этим продуктам, связывание антител с определенными Т-субклассами и установление их важнейших биологических эффектов (гл. I.2. и IV.2.3). Тот факт, что клонированные фрагменты ДНК, локализованные между I-A и I-E субрайонами, не гибридизуются с мРНК I-J⁺ Т-гибридомы [1085], косвенно свидетельствует об отсутствии соответствующего гена в данном участке МНС. ПР МкАТ к I-J и к экспрессированным на определенных Т-субклассах молекулах I-A_τ и I-E_τ (гл. IV.2.3 и IV.2.4.4) также непрямо указывает на возможность посттрансляционной модификации цепи E_β, что превращает ее в молекулу I-J, не требующую в таком случае для своей экспрессии специального структурного гена.

В связи с этим возникло представление о том, что для экспрессии молекулы I-J^k необходим не только ген МНС хромосомы XVII, кодирующий цепь E_β^k, но и Jt-ген хромосомы IV, функция которого связана с ферментом, вызывающим дополнительное гликозилирование цепи E_β^k: эпитоп I-J^k разрушается α -ман-

нозидазой, т. е. зависит от экспрессии маннозы [1046]. Отсутствие молекулы I-J^k у мышей AKR(H-2^k) объясняется отсутствием функции Jt-гена, а появление I-J^k у гибрида F₁[B10.A(3R) × B10] — тем, что у одного из родителей [B10.A(3R)] экспрессируется ген E_b^k, а у другого (B10) — ген Jt. Таким же способом можно объяснить исчезновение молекулы I-E в гаплотипе H-2^b (гл. 1.3.3.2): цепь E_b^b настолько сильно модифицируется продуктом Jt-гена, что превращается в молекулу I-J^b.

Тем не менее указанная концепция сомнительна, поскольку молекула I-J^k может быть выявлена у мышей AKR в низкой концентрации. Кроме того, различные рекомбинанты мышей B10.A(3R) и B10.A(5R) только по экспрессии аллеля I-J (b и k соответственно), несмотря на идентичность их молекулы I-E^k (см. табл. 1), подсказывает отсутствие модификации последней.

Детальнее изучены гены человека HLA-D-района, который оказался более комплексным по сравнению с I-районом мыши и, по-видимому, включает большее число транскрибируемых генов α- и β-цепей. В этом районе обнаружено три субрайона — DR, DC и SB [1640], получившие недавно иные обозначения [119] и расположенные в хромосоме центрально по отношению к субрайонам HLA — A, B, C, которые кодируют молекулы МНС класса I (в отличие от I-субрайонов мыши, локализованных между районами K и D, см. рис. 1).

Продукты субрайонов DR и DC на 70—75% гомологичны [712, 1949] молекулам мыши I-E и I-A соответственно. Каждый из этих субрайонов содержит набор локусов, из которых наиболее комплексный в структуре субрайона DR включает по меньшей мере три гена для β-цепей, отличных от генов того же типа субрайонов DC и SB. С помощью перекрестной гибридизации клонированных кДНК установлено, что для α-цепей общее число генов не менее шести, а для β-цепей — не менее семи [1640, 1922]. Каждый из субрайонов DR и DC кодирует два-три типа Ia-подобных молекул, разделенных MkAT и имеющих специальные обозначения [712, 231].

Фрагменты ДНК, контролирующие синтез α- и β-цепей этих молекул, содержат соответственно 3200 и 1080 п. о., включают три экзона, кодирующие соответственно первый, второй внеклеточный домен и остальную часть цепи. В то время как гомология по последовательности нуклеотидов отсутствует при сопоставлении первых и вторых экзонов (β₁ и β₂ или α₁ и α₂), вторые экзоны, кодирующие примембранные домены α- и β-цепей, отличаются от остальных экзонов выраженной гомологией как между собой, так и с экзонами, кодирующими примембранные домены других молекул МНС класса I человека и мыши, С-участка Ig, β₂M [1138, 1066, 108]. Консерватизм структуры примембранных участков молекул разных классов связан, по-видимому, с идентичностью их функции (обеспечением стабильности расположения молекулы на мембране).

1.4. Роль МНС в иммунологическом распознавании и регуляции иммунного ответа

1.4.1. Гены иммунореактивности (Ig-гены)

Важнейшая функция Ia-молекул — продуктов МНС класса II — обеспечение способности каждой особи реагировать или не реагировать на определенный спектр чужеродных антигенов. Поскольку эта способность определяется набором аутосомных доминантных генов иммунореактивности (Ig-генов) и иммунной супрессии (Is-генов), локализованных главным образом в I-районе МНС, вопросы о продуктах этих генов, их клеточной локализации, условиях их экспрессии и особенностях реализации их функций рассматриваются в настоящей главе.

Индивидуальность чувствительности и резистентности к определенным инфекционным (и другим) заболеваниям у различных людей и инбредных линий животных — давно известный феномен, сущность которого, однако, неясна, хотя по этой проблеме получено много интересных данных [см. обзоры 166, 1358, 1444, 1313]. Существование и локализация Ig-генов были выяснены благодаря использованию в качестве антигенов молекул с ограниченным количеством детерминант: синтетических полипептидов из двух — четырех повторяющихся АК, слабых H-антигенов или обычных мультidetерминантных гетеробелков, но введенных в таких низких дозах, что реакцию вызывали лишь единичные их детерминанты.

1.4.1.1. Основные свойства и избирательность функции Ig-генов

Функциональная активность продуктов Ig-генов характеризуется прежде всего высокой специфичностью: достаточно количественного изменения одной из АК в составе полипептида, чтобы высокореактивная линия превратилась в низкореактивную, и, наоборот, замена одной из АК в трипептиде (GLT→GLPhe→GLPro) или тетрапептиде [(T, G)—A—L, (H, G)—A—L, (Phe, G)—A—L, (T, G)—Pro—L] полностью изменяет набор реактивных линий мышей. Вместе с тем В-клетки реактивных и ареактивных линий, как правило, не различаются и хорошо образуют антитела против данного антигена, если его вводят в комплексе с иммуногенным носителем. С этим связана вторая функциональная особенность Ig-генов: они определяют реактивность только Т-лимфоцитов (хелперов, эффекторов гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), пролиферирующих Т-клеток и др.), но не В-лимфоцитов, которые образуют антитела независимо от Ig-генов.

Прямая связь Ig-генов с реактивностью Т-лимфоцитов обуславливает третье свойство Ig-генов: они определяют реактивность не к любым детерминантам белка, а только к тем из них,

которые распознаются Т-лимфоцитами. Так, распределение реактивных и ареактивных линий мышей по отношению к полипептиду (Т, G) — А — — L сохраняется и по отношению к другим полипептидам при условии, что в них сохранена коровая цепь А — — L, которая распознается Т-клетками [1960].

С этим связано и четвертое свойство Ig-генов. Они определяют не только реактивность к данному белку, но и его способность выполнять функцию носителя: если реакция оценивается по отношению не к изучаемому белку, а к конъюгированному с ним гаптену, то интенсивность этой реакции зависит от Ig-генов к носителю, а не к гаптену [2254]. Наконец, в-пятых, каждый гаплотип H-2 (т. е. каждый набор Ig-генов) уникален по набору антигенов, который может или не может быть распознан, т. е. образец реактивности, определяемый генами I-района данного гаплотипа MHC, не повторяется в другом гаплотипе. Даже единичной мутации гена A_b субрайона I- A^b мышей C57BL/6 (мутанта bm12) достаточно для того, чтобы Т-лимфоциты утратили реактивность к GAT и инсулину быка и приобрели реактивность к GT [1168] и инсулину овцы [860].

Локализация Ig-генов в MHC, установленная для мышей, обнаружена также и у других видов животных — крыс, морских свинок, собак, кур, обезьян, человека [477]. Наиболее детальное изучение Ig-генов у мышей показало, что они локализуются главным образом в субрайонах I-A и I-E¹⁶, причем реакция Т-клеток на каждый полипептид с ограниченным структурным разнообразием определяется только одной из Ia-молекул — либо A_bA_α (А-молекула), либо E_bE_α (Е-молекула). Из табл. 9 видно, что пролиферативная реакция Т-клеток мышей одной и той же линии на два полипептида — GA и GLT — избирательно блокируется MkAT, реагирующими в первом случае только с А-молекулой (Ia.m5), а во втором — только с Е-молекулой (Ia.m7), но не наоборот [922].

Стабильность локализации Ig-генов, определяющих реактивность Т-клеток к данному полипептиду, была подтверждена при изучении большого числа линий мышей и использовании MkAT к различным детерминантам данной Ia-молекулы. Пролиферативная реакция Т-клеток на GA мышей всех линий, реактивных к GA (14 из 37 обследованных), была подавлена антителами только к А-, но не к Е-молекуле, независимо от того, против каких детерминант А-молекулы были направлены антитела (Ia.m1, 2, 3, 5, 8, но не Ia.m7 — маркера Е-молекулы); напротив, та же реакция всех 10 линий, реактивных к GLT, из 32 тестированных была подавлена только антителами к Ia.m7 — маркеру Е-молекулы, тогда как ни одно из антител к А-молекуле не влияло на реакцию [1444]. Более того, если функция Ig-гена связана с А-молекулой, то экспрессия Е-молекулы на клетках данной линии

¹⁶ Ig-гены обнаружены также в К-районе [1792] и I-С субрайоне [193], хотя в этих случаях возможны различные интерпретации [1425, 477].

Таблица 9

Избирательность Ig-генов, определяющих реактивность к данному полипептиду
(по: [1444])

Антиген	Линия мышей	Аллели локусов I-субрайонов			Подавление пролиферативной реакции Т-лимфоцитов (в %) антителами против молекул	
		I-A		I-E		
		$A_{\alpha}A_{\beta}$	E_{β}	E_{α}^*	I-A(Ia.m5)	I-E(Ia.m7)
GA	BALB/c	d	d	d	81	1
	C57BL/6	b	(b)* ²	0* ³	90	HT* ⁴
	B10.A(5R)	b	b	k	84	3
GLT	BALB/c	d	d	d	21	94
	B10.A(5R)	b	b	k	20	87

- * α -цепь молекулы I-E(E_{α}) выявляется антителами к детерминанте Ia.7 на поверхности клеток любого аллеля.
- ** Продукт локуса не экспрессирован на плазматической мембране.
- *** Продукт локуса отсутствует.
- **** Не тестировали, поскольку Ia.7 отсутствует на мембране (неспецифическое ингибирование составляет 6—10%).

мышей не имеет значения для реакции: хотя мыши C57BL лишены E-молекулы [(ввиду отсутствия синтеза цепи E_{α} в гаплотипе H-2^b (гл. 1.3.3.2)], они сохраняют высокую реактивность к GA, которая полностью отменяется антителами к A-молекуле (табл. 9).

Аналогичные данные получены при избирательном подавлении той же реакции Т-клеток на полипептиды GAT и GLPhe. МкАТ соответственно к A- и E-молекуле (но не наоборот). Избирательность этого эффекта антител исчезает, если обработанные ими клетки погибают при добавлении комплемента, что свидетельствует о присутствии на одной и той же клетке двух молекул, независимо регулирующих реакцию на разные полипептиды [1472]. В связи с этим интересно отметить, что МкАТ, направленные к неполиморфной Ia-детерминанте, присутствующей на обеих (A- и E-) молекулах определенных гаплотипов H-2, угнетают пролиферативную реакцию Т-лимфоцитов только соответствующих гаплотипов на оба полипептида, рестриктированных как по A-(GAT), так и по E-молекуле (GLPhe). Этот факт указывает на существование в эволюции предкового гена I-района, дупликация которого привела к разнообразию Ig-генов [654].

У мышей некоторых линий, лишенных E-молекулы, реактивность к соответствующему полипептиду может восстанавливаться вследствие функционального перемещения Ig-гена из субрайона I-E в субрайон I-A [1444].

1.4.1.2. Ограниченный участок («иммунодоминантный эпитоп») гетеробелка, распознаваемый Т-лимфоцитами в зависимости от I α -генов

Указанная выше прямая связь реакции Т-клеток на антиген с экспрессией определенной I α -молекулы была отмечена при изучении I α -генов, контролирующей реактивность Т-лимфоцитов не только к синтетическим полипептидам, но и к природным белкам. Так, реактивность мышей определенного гаплотипа к инсулину быка контролируется только А-молекулой, а к цитохрому с голубя — только Е-молекулой. В этих и других случаях Т-лимфоциты распознают лишь очень ограниченный участок («иммунодоминантный эпитоп») белка, несмотря на существенные межвидовые различия первичной структуры иммунизирующего и мышинного белков того же типа (цитохрома с, лизоцима, миоглобина и др.). При этом Т-лимфоциты мышей разных линий реагируют на неидентичные детерминанты той же молекулы — в зависимости от того, какие I α -специфичности экспрессированы на макрофагах данной линии мышей. Так, при иммунизации мышей лизоцимом курицы или фазана (отличающихся от мышинного лизоцима на 50—60 из 129 остатков АК) Т-клетки мышей одной линии (B10.D2) реагируют только на малый фрагмент (остатки 113—114) одного из пептидов, а Т-клетки мышей другой линии (B10.A) — на другой пептид той же молекулы [994].

При иммунизации инсулином быка Т-клетки мышей гаплотипа H-2^b реагируют только на детерминанту, связанную с остатками АК 8 и 10 А-петли и отсутствующую у инсулина свиньи, а Т-клетки гибридов F₁ (H-2^b × H-2^k) — на детерминанту, связанную с остатком 4 и присутствующую в инсулине [свиньи (1674)]. Такое же различие реактивности на две указанные детерминанты инсулина быка найдены у Т-клеток двух инбредных линий морских свинок, различающихся только I-районом МНС [131]. Даже если две линии мышей реагируют на один и тот же С-пептид (остатки АК 81—104) цитохрома с голубя, Т-клетки одной из них (B10.A) распознают (во вторичной пролиферативной реакции *in vitro*) две соседние «точковые» детерминанты, связанные с остатками 100 (глутамин) и 104 (лизин), а Т-клетки линии B10.S(9R) распознают комплексную детерминанту из тех же двух остатков (100 и 104). Это подтверждается тем, что если только один из двух указанных остатков присутствует в цитохромах с гиппопотама и пекинской утки, то любой из них распознается Т-клетками мышей B10.A, но даже их смесь не формирует детерминанту, распознаваемую Т-клетками мышей B10.S(9R) [1911, 1298]. В каждом из приведенных случаев пролиферативная реакция Т-клеток отменяется МкАТ к определенной детерминанте молекулы I-A или I-E, экспрессированной на «презентирующих» антиген МФ мышей данной линии (см. ниже).

Таблица 10

Реактивность к отдельным фрагментам миоглобина, контролируемая неидентичными Ig-генами разных I-субрайонов (по: [193])

Линия мышей	Гапло- тип H-2	Аллели I-субрайонов			Пролиферативная реакция на			Характер реакции на миогло- бин *
		I-A	I-E	I-C	миоглобин	NH ₂ -фраг- мент (1—55)	COOH- фрагмент (132—153)	
B10.D2	d	d	d	d	++++	++++	++++	ВР
C57BL/10	b	b	b	b	±	±	±	НР
B10.A(5R)	i5	b	k	d	++	++++	±	ПР
B10.GD	g2	d	b	b	++	±	++++	ПР

* ВР — высокая, НР — низкая и ПР — промежуточная реактивности.

Такая высокая избирательность («иммунологическая фокусировка») распознавания единичных конформационных структур природных белков Т-клетками, связанная с функцией Ig-генов мышей, наблюдается и при иммунизации более комплексными антигенами, даже если они индуцируют набор субпопуляций Т-лимфоцитов, каждая из которых реагирует с разными компонентами белковой молекулы.

Экспериментальный анализ этого набора вновь показывает, что реактивность каждой из таких Т-субпопуляций кодируется Ig-генами, контролирующими синтез только одной из Ia-молекул. Так, высокая реактивность мышей B10.D2(H-2^d) и низкая — мышей C57BL/10(H-2^b) к миоглобину и двум его фрагментам — N-концевому (аминокислотные остатки с 1 по 55) и C-концевому (аминокислотные остатки со 132 по 153) превращается в промежуточную реактивность к цельной молекуле миоглобина у рекомбинантов I-A^bC^d [(линия B10.A(5R))] и I-A^dC^b (линия B10.GD). Из табл. 10 видно, что эта промежуточная реактивность к цельной молекуле обусловлена тем, что Ig-ген(ы) субрайона I-C^d контролируют реактивность только к N-, но не к C-концевому фрагменту, а Ig-ген(ы) субрайона I-A^d, напротив, только к C-, но не к N-концевому фрагменту той же молекулы миоглобина [193].

В действительности высокая реактивность рекомбинанта B10.A(5R) к N-концевому фрагменту миоглобина может быть обусловлена Ig-геном, который локализован не в субрайоне I-C^d, а возникает при комплементации генов субрайонов I-A^b и I-E^k (табл. 10), т. е. при появлении комбинаторной молекулы A^bE^k(E^bE^α^k). Такая возможность, однако, не меняет основной смысл результатов.

Приведенные данные означают, что в мультидетерминантной молекуле белка может содержаться несколько эпитопов, распознавание каждого из которых контролируется отдельным Ig-геном (или комплексом Ig-генов) и осуществляется отдельным клоном Т-клеток. Такое предположение подтверждено с помощью разных подходов. Оказалось, в частности, что Т-хелпе-

ры, индуцированные *in vivo* эритроцитами барана [62], представляют собой смесь субпопуляций, каждая из которых после отделения от остальных распознает лишь некий компонент иммунизирующего белка, ассоциированный с продуктом соответствующего Ig-гена. Тот же факт был установлен, когда пролиферирующие Т-клетки, специфичные к миоглобину [918] или гемоцианину [1850], были разделены на несколько клонов.

1.4.1.3. Связь функций Ig-генов с возникновением при их комплементации множества комбинаторных Ia-детерминант

Из приведенных данных следует, что ограниченное число Ig-генов, локализованных в двух I-субрайонах, контролирует реактивность ко множеству антигенов и даже к их отдельным детерминантам. Специфичность такого контроля может быть обусловлена тем, что в каждом случае он осуществляется не одним Ig-геном, а их комбинацией. Действительно, гибриды F_1 между двумя ареактивными линиями мышей оказываются реактивными по отношению ко многим антигенам — детерминанте аллоантигена H-2.2, маркеру Т-клеток Thy-1, полипептидам, ферментам, белкам фага [477]. С помощью генетического анализа с использованием рекомбинантных линий, несущих субрайоны I-A и I-E разных аллелей, было установлено, что реактивность у гибридов F_1 и рекомбинантов контролируется двумя комплементирующими Ig-генами, находящимися в I-районе соответственно в *транс*- и *цис*-положении. Отсутствия одного из этих генов достаточно для возникновения ареактивности к данному белку или его детерминанте. Связь восстановления реактивности с комплементацией Ig-генов следует также из того, что более эффективная *цис*-комплементация у гомозигот (рекомбинантов) по сравнению с *транс*-комплементацией тех же генов у гетерозигот (гибридов F_1) обусловлена вдвое большей дозой Ig-генов в первом случае, чем во втором. Этот факт был установлен при изучении реактивности к полипептидам как Т-хелперов, способствующих образованию антител [476], так и пролиферирующих Т-клеток [1811].

Необходимость комплементации двух Ig-генов для реактивности к данному антигену обусловлена тем, что для экспрессии Ia-молекулы обязательна функция не менее двух генов, кодирующих ее α - и β -цепи (гл. 1.3.3.6). Если реактивность связана с функцией I-E-молекулы, которая не экспрессируется из-за отсутствия синтеза цепи E_α в клетках гаплотипов H-2^{b,s,l,q} (гл. 1.3.3.2), то мыши этих гаплотипов окажутся нереактивными к определенным белкам (полипептидам GLT и GLPhe, цитохрому *c*). В этом случае при скрещивании двух ареактивных линий без цепи E_α (E_α^0), например B10.A(4R) (E_α^b) и B10.S(E_α^l), реактивность у гибридов F_1 не восстанавливается, поскольку молекула I-E по-прежнему не экспрессируется.

Таблица 11

Неидентичность Ig-генов, связанных с различными комбинаторными молекулами I-E [1118]

Рекомбинантная линия мышей	Аллели субрайонов I-A и I-E	Комбинаторная молекула I-E ($\beta\alpha$)	Ia.22 или $\gamma 17$	Пролиферативная реакция на	
				цитохром c	GLPhe
B10.A	$A^k E^k$	$E^k E^k$	+	+	—
B10.A(5R)	$A^b E^k$	$E^b E^k$	+	—	+
B10.S(9R)	$A^s E^k$	$E^s E^k$	+	+	+

Восстановление реактивности у гибридов F_1 при скрещивании одной из указанных линий с какой-либо другой ареактивной линией, которая синтезирует цепь $E_\alpha(E_\alpha^+)$, четко коррелирует с количеством I-E молекул, экспрессированных на клетках гибридов F_1 , что выявляется по связыванию антител к Ia.7-маркеру цепи E_α [1299]. Пролиферативная реакция Т-клеток таких гибридов F_1 на соответствующий антиген вновь полностью отменяется при добавлении в культуральную среду антител к любым компонентам молекулы I-E — α -цепи (детерминанта Ia.7), β -цепи или комбинаторной детерминанте $E_\beta E_\alpha$, реагирующей с МкАТ $\gamma 17$ [1180].

Таким образом, комплементация двух Ig-генов обеспечивает ассоциацию α - и β -цепей и экспрессию на клеточной мембране соответствующей Ia-молекулы, что является необходимым условием для возникновения реактивности к данной антигенной детерминанте. Этот факт окончательно установлен с помощью клонов иммунных Т-лимфоцитов, узкоспецифичных к полипептиду (GAT или GLPhe) [1935] или гемоцианину [487] только в комплексе с гибридной E-молекулой, α - и β -цепи которой кодируются разными ареактивными к данному антигену H-2 аллелями генов $A_e(E_\beta)$ и E_α . В этих случаях, так же как при изучении неклонированных иммунных Т-лимфоцитов, реакция отменялась МкАТ как к Ia.7, так и к комбинаторной детерминанте $\gamma 17$.

Однако экспрессия общей комбинаторной детерминанты при ассоциации α - и β -цепей Ia-молекулы хотя и необходима, но не достаточна для выявления функции Ig-генов. Из табл. 11 видно, что три ассоциативные молекулы I-E разных рекомбинантов — $A^k E^k$, $A^b E^k$ и $A^s E^k$, будучи идентичными по наличию не только маркера цепи E_α (Ia.7), но и комбинаторной детерминанты $E_\beta E_\alpha$ (Ia.22), различаются по своей Ig-генной функции: молекула $A^k E^k$ обеспечивает реактивность к цитохрому c, но не к GLPhe, $A^b E^k$ — к GLPhe, но не к цитохрому c, а $A^s E^k$ — к обоим белкам [1118].

Более того, даже если две разные комбинаторные I-E молекулы — $E^b E^k$ (мыши B10.A) и $E^s E^k$ [мыши B10.S(9R)] — обеспечивают распознавание одного антигена — цитохрома c го-

лубя (табл. 11) (в обоих случаях пролиферативная реакция Т-клеток на цитохром с голубя отменяется МкАТ к комбинаторной детерминанте $\gamma 17$, общей для комбинаторных молекул $E_\beta E_\alpha$ разных гаплотипов), участие этих двух комбинаторных молекул в распознавании одного и того же белка оказывается неидентичным. Как указывалось выше, Т-клетки мышей В10.А и В10.5(9R) реагируют на неидентичные детерминанты молекулы цитохрома с голубя. Оказалось, что в этих двух случаях Т-клетки, иммунные к цитохрому с, различают не только детерминанты этого белка, но и частные (private) детерминанты комбинаторной молекулы $E_\beta E_\alpha$, экспрессированные на «презентирующих» цитохром с МФ только данной линии мышей. Это следует из того, что иммунные к цитохрому с Т-лимфоциты стабильной культуры каждой из двух указанных линий мышей пролиферируют в реакции на тот же белок в 4—5 раз интенсивнее, если он «представлен» на МФ той же самой, но не второй линии [1299]. Таким образом, Т-лимфоциты (и их клоны) дискриминируют в структуре Ia-молекулы множество комбинаторных детерминант, которые возникают при комплементации генов, кодирующих ее α - и β -цепи, что может обеспечивать высокоспецифичную функцию Ig-генов.

Такая возможность была детально анализирована при комплементации Ig-генов, кодирующих α - и β -цепи не E-, а A-молекулы (A_α и A_β). В этом случае частота клонов Т-лимфоцитов, реагирующих на полипептиды [1026] или гемоцианин [1933] только в комплексе либо с комбинаторной детерминантой A-молекулы гибрида F_1 , либо с A-молекулой родителей, примерно одинакова.

Совокупность данных указывает на то, что возникновение определенного набора комбинаторных детерминант данной молекулы (I-A или I-E) при объединении ее α - и β -цепей — продуктов двух разных генов — составляет основу множества функций малого числа Ig-генов, причем разнообразие таких функций значительно возрастает, если эти α - и β -цепи данной Ia-молекулы контролируются генами неидентичных аллелей у мышей-рекомбинантов (цис-комплементация) или гибридов F_1 (транс-комплементация). Такое представление было недавно подтверждено при анализе иммунореактивности мышей мутантных линий.

1.4.1.4. Использование мутантной молекулы I-A и моноклональных анти-I-A антител для изучения связи комбинаторных детерминант с функцией Ig-генов

Замена трех АК цепи A_β^b у мутанта bm12 оказалась достаточной для быстрого отторжения трансплантата кожи мыши дикого типа C57BL/6, возникновения пролиферативной реакции в MLC при реципрокной иммунизации мутанта и дикого типа и уменьшения экспрессии всех СО детерминант молекулы I-A β^b (гл. 1.3.3.4), как это показано в табл. 12. Таким образом, очевидно, что цепь A_β^b

Таблица 12

Изменения иммунореактивности при мутации β -цепи I-A молекулы и регуляторного гена X-хромосомы

Источник реагирующих Т-лимфоцитов	Отторжение трансплантата кожи C57BL/6	Экспрессия Ia-специфичностей молекулы I-A ^b					
		3	8	9	15	20	W39
C57BL/6	—	+	+	+	+	+	+
bm12*	+	↓	—	↓	↓	↓	—
F ₁ (bm12 × B10.A(4R))* ²	+	+	—	+	+	+	—
F ₁ (CBA/N × C57BL/6) самец * ³	—	+	+	+	+	+	—

Источник реагирующих Т-лимфоцитов	Проллиферативная реакция на				Генерация ЦТЛ к антигену H-Y	Молекула I-A α β
	клетки C57BL в MLC	(T, G)—A—L или коллаген	инсулин быка	рецептор к ацетилхолину		
C57BL/6	—	+	+* ⁴	+	+	A ^b A ^b
bm12*	+	+	—	—	—	A ^b A ^{bm12}
F ₁ (bm12 × B10.A(4R))* ²	+	+	+* ⁵	—	+	A ^b A ^k
F ₁ (CBA/N × C57BL/6) самец * ⁸	—	+	—	—	—	A ^b A ^k , A ^k A ^b

* Мутант линии C57BL/6 — структурного гена I-A субрайона MHC (XVII хромосомы), кодирующего β -цепь молекулы I-A^b (A_β^b).

*² Гибрид F₁(bm12 × I-A^k).

*³ Xid-дефектная мышь — мутант xid-гена X-хромосомы, регулирующего созревание В-лимфоцитов и макрофагов.

*⁴ Реакция на детерминанту инсулина, связанную с остатками 8 и 10 (A-петлю).

*⁵ Реакция на детерминанту инсулина, связанную с остатком 4 (β -цепь).

(+) Наличие реакции или экспрессии; (—) отсутствие реакции или экспрессии; ↓ уменьшение экспрессии (в 8—10 раз).

участвует в создании аллоантигена, который вызывает и отторжение аллотрансплантата, и пролиферативную реакцию Т-клеток, и образование аллоантител. Вместе с тем то же изменение цепи A_β^b не влияет на высокую реактивность Т-лимфоцитов к полипептиду (T, G)—A—L (так же как и к ряду других белков); напротив, реактивность к инсулину быка исчезает (табл. 12), несмотря на то что функция Ig-генов, контролирующих все эти реакции, связана с одной и той же молекулой I-A^b. Таким образом, данная мутация цепи A_β^b по-разному влияет на реактивность к разным антигенам. Экспериментальный анализ этого явления показал, что в молекуле I-A^b имеются по меньшей мере три независимых сайта, определяющих реактивность к различным антигенным структурам.

Для установления этого факта было использовано несколько подходов; один из них приводится в табл. 12. В геном мутанта *bml2* были введены гены $I-A^k$ путем скрещивания этого мутанта с мышами *B10.A(4R)*, которые, так же как мутант *bml2*, неактивны к инсулину быка. У полученного гибрида $F_1(bml2 \times I-A^k)$ продуктом субрайона $I-A$ является гибридная молекула $A_\alpha^b A_\beta^k$, образованная в результате ассоциации α -цепи мутанта (A_α^b) и β -цепи партнера *B10.A(4R)* — A_β^k [1200]. Поскольку такой гибрид по-прежнему лишен молекулы $I-A^b$ ($A_\alpha^b A_\beta^b$), он, так же как мутант *bml2*, отторгает трансплантат кожи мыши C57BL/6 и реагирует в MLC на клетки этой линии. Тем не менее из табл. 12 можно видеть, что у этого гибрида восстанавливается высокий уровень части СО специфичностей молекулы $I-A^b$ (1a.3, 9, 15, 20), что сочетается с восстановлением реактивности к инсулину быка. Из этих данных следует, что при ассоциации цепей $A_\alpha^b A_\beta^k$ у гибрида $F_1(bml2 \times I-A^k)$ возникает комбинаторная детерминанта, которая отсутствует в $I-A$ молекуле мутанта *bml2*, выявляется четырьмя антителами к указанным специфичностям и определяет реактивность к инсулину быка.

Однако в этом случае Т-лимфоциты реагируют лишь на одну из детерминант инсулина быка, связанную с остатком Glu⁴ и экспрессированную также на инсулине свиньи. Вторая комбинаторная детерминанта молекулы $A_\alpha^b A_\beta^b$, которая также исчезает у мутанта *bml2*, не восстанавливается у гибрида $F_1(bml2 \times I-A^k)$ и определяет реактивность мышей C57BL/6 к иной детерминанте инсулина быка (связанной с остатками 8 и 10), отсутствующей в инсулине свиньи [1674, 1675]. Эта иная комбинаторная детерминанта молекулы $A_\alpha^b A_\beta^b$ идентифицирована МкАТ анти-1a.W39, которые не реагируют с клетками *bml2* и гибрида $F_1(bml2 \times I-A^k)$ (табл. 12) и подавляют реактивность мышей C57BL/6 к инсулину быка [1727]. Еще одна детерминанта молекулы $I-A^b$, связанная, по-видимому, с α -цепью A_α^b , сохраняется у мутанта *bml2* и определяет реактивность к полипептиду (Т, G)—А—L и коллагену (см. табл. 12). Разнообразие рестриктивных детерминант подтверждено с помощью клонов Т-лимфоцитов, каждый из которых реагирует на данный полипептид в комплексе только с одним вариантом $I-A$ молекулы — либо $A_\alpha^b A_\beta^b$ (на клетках C57Bl), либо $A_\alpha^b A_\beta^{bml2}$ (на клетках *bml2*), либо $A_\alpha^b A_\beta^k$ [на клетках $F_1(bml2 \times I-A^k)$] [555]. Каждый из этих сайтов молекулы $I-A^b$, по-видимому, также неоднороден, судя по тому, что у гибридов $F_1(bml2 \times I-A^k)$ восстанавливается не только пролиферативная реакция Т-клеток на инсулин быка, но и генерация ЦТЛ к антигену H-Y [1353] — феномены, которые должны быть связаны с неидентичными участками молекулы $I-A^b$.

Вместе с тем у тех же гибридов F_1 не восстанавливается утраченная у мутанта *bml2* реактивность к ацетилхолиновому рецептору (см. табл. 12), иммунизация которым мышей исходной линии C57BL приводит к развитию заболевания, аналогичного миастении гравис человека [1117]. Таким образом, β -цепь молекулы $I-A^b$ (A_β^b) (или ее комбинация с α -цепью той же молекулы) контролирует возможность развития аутоиммунного процесса, при-

водящего к тяжелому заболеванию и, очевидно, не имеющего отношения к контролируемой той же β -цепью реактивности к некоторым детерминантам инсулина быка.

Утрата реактивности к определенным белкам (или их отдельным детерминантам) при изменении β -цепи молекулы $I-A^b$ у мутанта *bml2* и дифференцированное восстановление отдельных реактивностей при введении в геном мутанта генов цепей $I-A$ молекулы других гаплотипов H-2 однозначно свидетельствуют о наличии на Ia -молекуле нескольких функциональных сайтов $I\gamma$ -гена. Каждый из этих сайтов может быть маркирован соответствующими СО Ia -специфичностями, которые утрачиваются у мутанта *bml2* и восстанавливаются при его скрещивании с мышами других гаплотипов H-2.

Прямая связь мутации $I\gamma$ -генов с исчезновением определенной Ia -детерминанты была блестяще подтверждена при исследовании другого мутанта, не имеющего, казалось бы, никакого отношения к мутации *bml2* структурного гена МНС XVII хромосомы. Рецессивная мутация *xid*-гена X-хромосомы мышей CBA/N (гл. I.3.3.4) приводит, так же как у мутанта *bml2*, к отмене реактивности к А-петле инсулина быка у самцов гибридов F_1 (CBA/N \times C57BL/6) [1727], хотя вовсе не влияет ни на синтез молекулы $I-A^b$, содержащей соответствующие СО Ia -специфичности, ни на экспрессию всех трансплантационных антигенов гаплотипа H-2, которые утрачены или изменены у мутанта *bml2*. Единственный общий молекулярный дефект у этих двух мутантов (см. табл. 12) — отсутствие экспрессии на клеточной поверхности детерминанты $I-A$ молекулы ($Ia.W39$), являющейся маркером зрелых В-клеток и макрофагов, которые не созревают при *xid*-мутации [889].

Столь же четко установлена прямая связь между реактивностью к некоторым белкам и экспрессией $I-E$ молекулы на поверхности клеток [1180, 922], причем интенсивность пролиферативной реакции Т-клеток на данный белок четко коррелирует в этих случаях с количеством $I-E$ молекул, зависимым от способности цепи E_α комбинироваться с цепью E_β данного гаплотипа H-2 [1299]. Таким образом, реактивность прямо связана с качественной и количественной экспрессией на клетках соответствующей Ia -детерминанты, которая является, следовательно, продуктом $I\gamma$ -гена.

Следующий этап этих исследований связан с получением набора МкАТ против различных детерминант одной Ia -молекулы и выявлением способности этих антител инактивировать функции набора клонов Т-лимфоцитов, иммунных к данному белку. Оказалось, что каждое из таких МкАТ (анти- A_α^k и анти- A_β^k) против одной и той же молекулы ($I-A^k$) инактивирует пролиферацию только одного из иммунных к гемоцианину клонов Т-лимфоцитов, которые реагируют на этот белок в комплексе с одной из комбинаторных Ia -детерминант — либо $A_\alpha^k A_\beta^b$, либо $A_\alpha^b A_\beta^k$. Поскольку третий клон, распознающий гемоцианин в комплексе с гомозиготной $I-A$ молекулой ($A_\alpha^k A_\beta^k$), инактивируется обоими этими

антителами [1850], следует полагать, что набор детерминант данной Ia-молекулы может расщепляться у гетерозигот. Это предположение получило прямое подтверждение: два указанных анти-I-A^k МкАТ, не перекрывающиеся по своей способности инaktivировать разные клоны иммунных к гемоцианину Т-клеток гибридов F₁ (A × C57BL), осаждали из этих меченных ¹²⁵I клеток соответствующие I-A молекулы, несущие либо цепь A_α^k, либо цепь A_β^k [152]. При получении набора МкАТ к каждой из указанных цепей оказалось, что в зависимости от того, какие эпитопы на одной и той же цепи распознаются данными МкАТ, они ингибируют пролиферацию разных Т-клонов, несмотря на реакцию всех этих клонов на один антиген в комплексе с данной цепью молекулы I-A [611] или I-E [1467].

Подобные результаты получены при изучении клонов Т-клеток человека, специфичных к гемагглютиниру (ГА) вируса гриппа: пролиферация этих клонов может быть ингибирована МкАТ к одной и той же или к разным детерминантам молекулы МНС класса II в зависимости от того, реагируют ли разные клоны с одним и тем же или с разными эпитопами ГА [503]. Поскольку Fab-фрагменты МкАТ так же эффективны, как и цельные молекулы [1173], следует полагать, что отмена реактивности Т-клеток не связана со стерической блокировкой МкАТ ных детерминант на клеточной поверхности.

Важно отметить, что аналогичные результаты продемонстрированы *in vivo* путем изменения экспрессии отдельных детерминант I-A и I-E молекул с помощью либо введенных мыши МкАТ анти-I-A или анти-I-E [1929], либо подбора гаплотипа реципиента, лишённого молекулы I-E (E_α⁰) или несущего эту молекулу (E_α⁺) [62]. В каждом таком случае Т-хелперы, активированные антигеном в организме, представляют собой, как оказалось, селектированную субпопуляцию, способную повторно реагировать на тот же антиген (и способствовать дифференцировке В-клеток) только в комплексе с той Ia-молекулой, которая присутствовала и была обнажена на клетках животного во время активации Т-хелперов *in vivo*. Следовательно, Ig-генная функция Ia-молекул четко выявляется не только на моделях *in vitro*, но и в организме животного.

Таким образом, использование узкоспециализированных клонов Т-лимфоцитов, МкАТ анти-Ia и мутантов, дефектных по экспрессии отдельных Ia-детерминант, позволило показать, что Ig-ген, MLC-ген и Ia-ген представляют собой в действительности один и тот же ген, функция которого по-разному реализуется в зависимости от экспериментальных условий через один и тот же СО продукт — Ia-молекулу.

1.4.1.5. Определяющая роль экспрессии Ia-белка на А-клетках (КПА) в реализации функции Ig-генов

Поскольку Ia-молекулы экспрессированы (хотя и не одинаково — в качественном и количественном отношении) на клетках разных типов (Т-, В-лимфоцитах, А-клетках), возникает вопрос: какие из этих клеток реализуют функцию Ig-генов?

Прежде всего Ia-молекулы Т-лимфоцитов, возможно, не являются продуктами Ig-генов. На это указывает ряд фактов.

Выше отмечалось, что на Т-лимфоцитах экспрессированы преимущественно продукты субрайонов I-J и I-C, тогда как Ig-гены локализованы главным образом в субрайонах I-A и I-E. I-J- и I-C-детерминанты были найдены на части Т-хелперов, Т-амплифайеров и Т-супрессоров, т. е. тех Т-субклассов, которые регулируют иммунный ответ. Напротив, на поверхности эффекторных Т-лимфоцитов (и их предшественников) — ЦТЛ и эффекторах ГЗТ — Ia-детерминанты, как правило, отсутствуют, а обработка этих клеток анти-Ia антителами в присутствии комплемента не влияет на их функции (гл. IV).

Особенно демонстративны данные, полученные при изучении антигенспецифической пролиферации иммунных Т-лимфоцитов, повторно активированных тем же антигеном *in vitro* — основной модели для исследования функции Ig-генов. Эта реакция ингибируется анти-Ia антителами только при их взаимодействии с Ia-детерминантами нагруженных антигеном МФ, но не реагирующих Т-лимфоцитов.

Избирательность взаимодействия анти-Ia антител с Т-лимфоцитами была в этих случаях достигнута с помощью разных приемов: предварительной обработки МкАТ анти-Ia реагирующих на антиген Т-лимфоцитов человека [1660, 644] и мыши [83]; добавления в культуру антител к Ia-детерминантам молекулы того гаплотипа Т-лимфоцитов, которые взаимодействуют с нагруженными антигеном несингенными МФ (те же антитела вовсе не реагируют с самими МФ).

Элиминация Т-лимфоцитов, реагирующих на аллоантигены самих МФ, осуществлена в этом случае с помощью обработки бромдезоксинуридином и светом Т-лимфоцитов, пролиферирующих на аллоантигены МФ в MLC *in vitro* [2067] или путем создания толерантности к аллоантигенам МФ [1221].

Сходные результаты получены при активации антигеном *in vitro* Т-хелперов гибридов F_1 ($k \times d$), созревающих в радиационных химерах одной из родительских линий (k или d): МкАТ анти-I-A^k угнетали активацию Т-хелперов не любых F_1 , а только тех, которые созревали в реципиентах H-2^k (химеры $F_1 \rightarrow k$) и поэтому кооперировались с КПА H-2^k. Напротив, активация Т-хелперов тех же гибридов F_1 из химер $F_1 \rightarrow d$, произведенная при их инкубации с КПА H-2^d, не отменялась теми же антителами анти-I-A^k. Поскольку одни и те же антигены H-2 экспрессированы на Т-хелперах гибридов F_1 ($k \times d$) в обоих случаях, очевидно, что избирательность предотвращения образования Т-хелперов обус-

ловлена взаимодействием анти-Ia-антител не с Т-клетками, а с КПА [866].

Вопрос о том, выполняют ли функцию Ig-генов Ia-детерминанты В-лимфоцитов, не решен. Хотя на такую возможность указывали данные о генетически детерминированной неспособности В-лимфоцитов адсорбировать (акцептировать) фактор Т-хелперов, что приводит к нарушению образования антител, эти результаты не получили подтверждения. Неспособность В-лимфоцитов ареативных к полипептиду линий мышей образовывать антитела к тому же полипептиду [1280] или пролиферировать при инкубации с тем же полипептидом в присутствии малой дозы иммунных Т-клеток [2103] выявляется лишь при определенных экспериментальных условиях (большая доза антигена, использование незрелых В-клеток или высокого соотношения между В- и Т-лимфоцитами), т. е. отражает особенности данных моделей и, видимо, не является универсальным феноменом. Во всяком случае, все закономерности кодированной Ig-генами реактивности животных были полностью воспроизведены без участия В-лимфоцитов — путем определения пролиферативной реакции *in vitro* иммунных Т-лимфоцитов на соответствующий антиген, представленный на А-клетках (КПА).

С помощью этого метода было твердо установлено, что функцию Ig-генов выполняют Ia-молекулы плазматической мембраны именно А-клеток. Первые данные в пользу такой концепции были получены в 1973 г. при использовании Т-лимфоцитов инбредных морских свинок линий 2 и 13, из которых только одна — линия 2 — реактивна к полипептиду. Оказалось, что иммунизированные Т-клетки гибридов F_1 (2×13) пролиферируют (включают ^3H -тимидин) при инкубации с тем же полипептидом, если он фиксирован на МФ только линии 2, причем эта реакция была подавлена в присутствии антител 13 анти-2 (но не 2 анти-13). Поскольку эти две линии различаются только аналогом I-района мышей, приведенные результаты могли означать, что для реализации функции Ig-генов необходима экспрессия Ia-белков на поверхности нагруженных антигеном МФ [1847]. Использование МкАТ подтвердило эти данные: антитела к Ia-антигену реактивной (но не ареативной) линии свинок отменяли пролиферативную реакцию Т-клеток гибридов F_1 (2×13) на соответствующий антиген, адсорбированный на МФ [294].

Этот факт — возможность реакции иммунных Т-лимфоцитов гибридов F_1 [при скрещивании высокореактивной (ВР) и низкореактивной (НР) линий] на соответствующий антиген только при условии его присутствия на макрофагах ВР, но не НР родительской линии — был многократно воспроизведен. В частности, каждый из полипептидов — (Т, G) — А — — L и (H, G) — А — — L, реакция на которые определяется Ig-генами мышей гаплотипов H-2^b и H-2^k соответственно, активировал Т-хелперы гибридов F_1 ($b \times k$) только при условии, что он был представлен на макрофагах ВР линии [1888]. Кроме того, пролиферация Т-клеток гибридов F_1

или мышей-рекомбинантов могла быть выявлена *in vitro* не цельной молекулой иммунизирующего белка (инсулина, фибринопептида, миоглобина), а его фрагментом, адсорбированным на МФ только той родительской линии, которая реактивна именно к данному фрагменту белка этой молекулы [131, 2070, 1686].

Реализация функции Ig-гена через ассоциацию чужеродного антигена с продуктом комплекса H-2 МФ была показана при искусственном внедрении молекулы H-2 с помощью липосом в мембрану аллогенных КПА. В этом случае Т-лимфоциты мышей линий H-2^b и H-2^k, реактивные к инсулинам соответственно быка и овцы, представленным только на сингенных МФ, приобретают способность реагировать на соответствующий инсулин в комплексе с аллогенными МФ, если в их мембрану внедрен сингенный по отношению к Т-клеткам антиген комплекса H-2 [934]. Данные указывают на прямую связь функции Ig-гена с Ia-молекулой КПА.

Отсутствие в этих опытах реактивности ВР и НР Т-лимфоцитов к антигену, представленному на МФ НР линии, может иметь тройное объяснение: а) на МФ НР линии не возникает объект для распознавания — комплекс антигена с продуктом данного Ig-гена (Ia-молекулой ВР аллеля H-2, отсутствующей у животных НР аллеля) [1725]; б) комплекс антигена и Ia-молекулы НР аллеля возникает на МФ, но он не может быть распознан ввиду неспособности рецепторов Т-лимфоцитов НР линии реагировать на этот комплекс и сохранения этого дефекта в Т-клетках гибридов F₁ [1444, 2067, 1686, 1810]; в) в НР линии могут быть два дефекта: отсутствие комплекса антигена с Ia-молекулой НР аллеля на поверхности МФ и неспособность Т-лимфоцитов распознавать комплекс антигена с Ia-молекулой как НР, так и ВР, даже если такой комплекс возникает.

В соответствии с версией (а) Ia-молекула КПА служит прямым и единственным продуктом Ig-гена (гипотеза «природного дефекта МФ»); в соответствии с версией (б) Ia-молекула КПА лишь косвенно отражает функцию Ig-гена, которая в действительности проявляется в дефекте рецепторов Т-лимфоцитов у НР животных (гипотеза «отсутствия клона Т-клеток»); версия (в) совмещает эти возможности.

Независимо от того, какая из этих версий ближе к истине (гл. V), можно считать установленным, что ареактивность реализуется на уровне КПА и связана с отсутствием именно на их поверхности, а не на поверхности Т-лимфоцитов определенной Ia-молекулы или определенного эпитопа этой молекулы. Этот факт был установлен благодаря использованию нескольких мутаций. Описанный выше (гл. I.4.1.4) общий дефект двух независимых мутантов — *bm12* и самца F₁ (CBA/N × C57BL) — утрата реактивности к инсулину быка и детерминанты Ia.W39 на КПА — сочетается с утерей способности КПА, нагруженных тем же инсулином, вызывать пролиферацию Т-лимфоцитов — не только НР мутанта, но и ВР исходной линии [C57BL при использовании

КПА bml2 или самки F_1 (CBA/N \times C57BL) при использовании КПА сингенного самца F_1). Очевидно, что за функцию данного I γ -гена ответственна экспрессия детерминанты Ia.W39 именно на КПА.

В приведенных случаях Т-лимфоциты специфичны к детерминанте А-петли инсулина быка, основанной на остатках АК 8+10 (гл. 1.4.1.2). Напротив, клон Т-клеток гибридов F_1 (b \times k), специфичный к иной детерминанте А-петли инсулина быка (на основе остатка 4), реагирует на эту молекулу, даже если она представлена на КПА xid-мутанта, утратившего детерминанту Ia.W39 [1674]. Выяснилось, что эта иная детерминанта ассоциируется с иной комбинаторной Ia-молекулой — не Ia.W39⁺, утраченной у xid-мутанта, а с детерминантой, экспрессированной на молекуле $A_\alpha^b A_\beta^k$, сохранившейся у xid-мутанта с гаплотипом F_1 (b \times k) [1675]. Поскольку обе эти комбинаторные Ia-детерминанты отсутствуют на КПА мутанта bml2 гаплотипа H-2^b (см. табл. 12), они, в отличие от xid-мутанта, не способны «презентировать» инсулин быка Т-клеткам не только исходной линии (C57BL), но и гибридов F_1 (b \times k) [555]. Таким образом, реактивность Т-клеток к данному эпитопу инсулина прямо зависит от того, экспрессируется ли на КПА соответствующая этому эпитопу комбинаторная детерминанта данной Ia-молекулы — $A_\alpha^b A_\beta^b$ или $A_\alpha^b A_\beta^k$.

Эти данные полностью подтверждены в совершенно иной системе — при получении «loss»-мутанта *in vitro*. Клетки В-гибридомы, мутированные в культуре с помощью выращивания в присутствии антител к цепи A_β^k , утратили лишь некоторые детерминанты этой цепи, сохранив молекулу I-A^k. Результатом такой мутации оказалось исчезновение способности молекулы I-A^k «презентировать» специфичным Т-клонам молекулу лизоцима при сохранении способности «презентировать» ГАТ [677]. Совокупность приведенных данных — прямое доказательство того, что именно Ia-молекулы КПА служат продуктами I γ -генов, причем один тип такой молекулы обеспечивает функцию множества I γ -генов, ответственных за реактивность не только к разным антигенам, но и к разным эпитопам данного антигена.

Это заключение, основанное на результатах исследования иммунного ответа *in vitro*, косвенно подтверждено *in vivo*: лимфоциты ареактивных к полипептиду (Т, G)—А—L мышей гаплотипов H-2^k и H-2^a, иммунизированных этим полипептидом, неспособны переносить ГЗТ на сингенных нормальных мышей, но переносят эту реакцию на реактивные к (Т, G)—А—L нормальные гибриды F_1 (даже если эти лимфоциты облучены, чтобы не вызвать РТПХ у гибрида F_1); вместе с тем иммунные лимфоциты реактивных к (Т, G)—А—L гибридов F_1 не переносят ГЗТ на мышей ареактивных родительских линий [1963]. Таким образом, ареактивность мышей по меньшей мере некоторых гаплотипов H-2 связана с генетическим дефектом не самих Т-клеток-эффекторов ГЗТ, а взаимодействующих с ними *in vivo* иных клеток, необходимых для выявления ГЗТ, предположительно — КПА.

Решающая роль Ia-молекул КПА в реализации функции Ig-генов *in vivo* установлена при восстановлении реактивности к данному белку у мышей-рекомбинантов или гибридов F₁ с помощью соответственно *цис*- или *транс*-комплементации Ig-генов двух ареактивных линий. В этом случае степень реактивности, зависящая от способности к ассоциации α - и β -цепей молекулы I-E разных гаплотипов H-2, прямо отражается на способности КПА данного рекомбинанта или гибрида F₁ «презентировать» антиген, что, в свою очередь, четко коррелирует с количественной экспрессией на поверхности КПА детерминанты Ia.7 — общего маркера молекулы I-E [1299, 1812]. Напротив, реактивность Т-лимфоцитов не восстанавливалась, если КПА были использованы в виде смеси клеток из двух источников, несущих в отдельности α - и β -цепи соответствующей молекулы I-E. Более того, КПА, полученные из гибридов F₁ радиационных химер, генерированных смесью клеток двух ареактивных родительских линий, также оказываются неэффективными [1811], тогда как Т-клетки от таких же химер хорошо реагируют на антиген, если он представлен на КПА гибридов F₁ [1219]. В этих, так же как и в других опытах, МкАТ к Ia-молекулам КПА, но не Т-лимфоцитов, отменяли реакцию последних [1221].

1.4.2. Гены иммунной супрессии (Is-гены)

1.4.2.1. Связь ареактивности с функцией специфических Т-супрессоров, независимых от Ig-генов

Из совокупности приведенных результатов следует, что ареактивность данного клона Т-лимфоцитов к данной детерминанте чужеродного антигена связана с отсутствием на поверхности А-клеток конкретной детерминанты собственной Ia-молекулы. Из этого правила, однако, имеются существенные исключения.

При изучении образования антител, индукции Т-хелперов и ГЗТ к полипептиду GAT было показано, что мыши с гаплотипами H-2^{a, b, d} реактивны, с гаплотипами H-2^{n, p, q, s} — нереактивны, а гибриды F₁ между реактивными и ареактивными линиями — реактивны ввиду доминантности Ig-генов (гл. 1.4.1.1). Однако в этом случае реактивность гибридов F₁ (образование антител к GAT и специфичных к GAT Т-хелперов) выявлялась и *in vitro* и *in vivo*, если GAT был представлен на МФ не только реактивных мышей (C57BL или F₁), но и ареактивных (DBA/1). Возникающие в последнем случае специфичные к GAT Т-хелперы могли быть активированы только иммунизирующим комплексом (GAT+МФ DBA/1). Таким образом, МФ ареактивной и реактивной линий не различались в отношении их способности функционировать как КПА для индукции первичного антителообразования, Т-хелперов и выявления активности последних во вторичной реакции, если первичная реакция была индуцирована не чистым GAT, а его комплексом с МФ или с метилированным

бычьим сывороточным альбумином (МБСА) [982, 1585]. Более того, Т-клетки гибридов F_1 (C57BL \times DBA/1), иммунизированных чистым ГАТ, хотя слабо функционировали как хелперы для образования антител к ГАТ в комплексе с МФ ареактивной линии DBA/1, хорошо пролиферировали *in vitro* при реакции на тот же комплекс [83].

Из этих данных следует, что ареактивность к ГАТ не связана с дефектами Т-, В-лимфоцитов или МФ, т. е. с функциями Ig-генов. Оказалось, что она обусловлена совершенно иным механизмом — активацией СТС, специфичных к ГАТ и отличающихся высокой радиочувствительностью: инактивация СТС в составе иммунных клеток F_1 с помощью их облучения *in vitro* приводит к полному восстановлению реактивности радиорезистентных Т-хелперов, специфичных к ГАТ в комплексе с МФ не только реактивной (C57BL), но даже и ареактивной линии DBA/1 [1587].

Введение чистого ГАТ мышам DBA/1 даже в очень малой дозе (0,1 мкг) делает их уже через 3 дня неспособными образовывать антитела к ГАТ при вторичной инъекции комплекса ГАТ—МБСА, который хорошо индуцирует все иммунные реакции у контрольных (неиммунизированных) мышей любых линий. Специфичная к ГАТ ареактивность долго сохраняется у мышей DBA/1 и может быть перенесена нормальным мышам Т-лимфоцитами иммунизированных ГАТ мышей [981]. Те же Т-лимфоциты, добавленные к клеткам селезенки нормальных мышей F_1 (C57BL \times DBA/1), подавляют активацию Т-хелперов и образование антител *in vitro* к ГАТ, если он представлен на МФ DBA/1. Такие же СТС можно индуцировать ГАТ за 2—3 дня не *in vivo*, а в культуре клеток селезенки линии DBA/1 [167]. Эти СТС радиочувствительны и строго специфичны: они не подавляют иммунный ответ на GT—МБСА (хотя ГАТ и GT имеют выраженный серологический перекрест), даже если мыши (линии SJL) ареактивны к обоим полипептидам и способны образовывать супрессоры к каждому из них.

Индукция ареактивности к этим полипептидам не наблюдается, и ареактивная линия превращается в реактивную, если СТС инактивируются введением мышам циклофосфамида в малой дозе [439] или анти-I-J антител [1592]. Клетки селезенки таких мышей, иммунизированных ГАТ, теряют способность тормозить антителообразование при их переносе нормальным мышам или в культуру лимфоцитов. И напротив, клетки реактивной линии можно превратить в ареактивные, если при их иммунизации ГАТ в культуре из суспензии селезенки предварительно удаляют МФ или ГАТ добавляют в высокой дозе; в обоих случаях в культуре селезенки реактивной линии образуются СТС, специфичные к ГАТ (гл. IV.2.3).

Таким образом, мыши и реактивных, и ареактивных к ГАТ линий могут генерировать специфичные к ГАТ и Т-хелперы, и СТС в зависимости от условий иммунизации. Поскольку Т-хелперы в отличие от СТС реагируют не на сам полипептид, а на

его комплекс с Ia-молекулой МФ, то введение GAT, фиксированного на МФ, способствует генерации Т-хелперов и исключает образование СТС — как у реактивных, так и у ареактивных линий мышей. Напротив, введение растворимого GAT *in vivo* или в культуру селезенки, из которой удалены МФ, препятствует образованию Т-хелперов и способствует генерации СТС также у мышей любых линий независимо от их реактивности.

Различие между этими линиями состоит в балансе интенсивности и скорости возникновения указанных Т-субклассов: у ареактивных линий СТС образуются очень быстро и блокируют генерацию Т-хелперов, а у реактивных линий СТС возникают, когда уже имеются «готовые» Т-хелперы, не чувствительные к супрессорному эффекту. В связи с этим, для того чтобы выявить СТС, ранее индуцированные растворимым GAT у мышей реактивной линии, этот полипептид должен быть представлен не на сингенных, а на аллогенных МФ, т. е. в условиях, исключающих функцию готовых Т-хелперов: последние реагируют только на тот комплекс GAT с сингенным Ia-белком, который индуцировал образование хелперов. Поэтому СТС, легко выявляемые у мышей DBA/1, могут быть обнаружены у предварительно иммунизированных GAT мышей C57BL только при условии, что при повторной иммунизации GAT представлен (*in vivo* или в культуре) на МФ линии, отличающейся от C57BL по гаплотипу H-2 [1586].

1.4.2.2. Выявление Is-генов и особенности реализации их функции

Первая информация о генах, контролирующих образование СТС, была получена, когда вместо GAT мышам был введен GT, который, как выяснилось, может индуцировать образование антител у инбредных мышей только при введении в комплексе с носителем МБСА. Предварительная иммунизация GT, хотя и не индуцирует образование антител, угнетает этот процесс при последующей иммунизации GT-МБСА за счет генерации специфических к GT СТС, т. е. так же, как это было показано в опытах с GAT (см. выше). Однако в отличие от GAT GT индуцирует СТС не у всех линий, а только у ареактивных, имеющих гаплотип H-2^{k, l, s} [438].

Таким образом, у ареактивных мышей можно выделить два гаплотипа — супрессивный и несупрессивный. Is-гены, контролирующие супрессию реакции на GT, локализованы именно в МНС: из четырех линий, идентичных по генетической основе линии A и различающихся только комплексом H-2—A/J (H-2^a), A.BY (H-2^b), A.CA (H-2^d) и A.SW (H-2^s), лишь две последние генерируют супрессоры к GT. Поскольку гибриды F₁ мышей с супрессивным и несупрессивным фенотипами генерируют супрессоры к GT, эта способность наследуется как доминантный признак. Еще одно сходство между Is- и Ig-генами состоит в том, что развитие супрессии контролируется комплементирующими

генами, локализованными в субрайонах I-A и I-C [439]. Как *транс*-комплементация у гибридов F₁ между мышами двух несупрессивных гаплотипов (H-2^b и H-2^a), так и *цис*-комплементация локусов тех же гаплотипов у рекомбинанта B10.A(5R) приводит к возникновению супрессивного фенотипа к GT.

Дальнейший анализ показал, что дефекты двух несупрессивных гаплотипов — H-2^b и H-2^a — не идентичны: Т-клетки мышей H-2^b (линия C57BL) производят специфичный к GT супрессорный фактор, но не способны на него реагировать; напротив, Т-клетки мышей H-2^a (A или B10.A) чувствительны к этому фактору, но не способны его производить. Поскольку у гибридов F₁ (H-2^b × H-2^a) и рекомбинанта B10.A(5R) супрессивный фенотип восстанавливается, можно было бы думать, что каждый из двух указанных признаков (синтез фактора и чувствительность к нему) контролируется одним из локусов I-района — соответственно I-A^b и I-C^d (или I-E^k), содержащихся в рекомбинанте B10.A(5R).

Чтобы попытаться выяснить этот вопрос, следовало провести анализ генетического контроля каждого из признаков супрессивного фенотипа в отдельности — чувствительности к супрессорному фактору и способности его производить. Для исследования первого признака в I-A субрайон гаплотипа H-2^b мышей C57BL, не чувствительных к супрессорному фактору, были введены гены I-A субрайона одного из супрессивных гаплотипов — либо H-2^k [(рекомбинант B10.A(4R))], либо H-2^d (рекомбинант B10.GD)¹⁷. В первом случае возникновения комбинаторной I-A молекулы A^bA^k оказалось достаточно для восстановления чувствительности к супрессорному фактору, а во втором случае — при возникновении комбинаторной I-A молекулы A^bA^d — рекомбинант оставался резистентным к тому же фактору [84]. Таким образом, можно думать, что даже один из признаков супрессивного фенотипа — чувствительность к супрессорному фактору — может контролироваться либо одним, либо не одним локусом в зависимости от гаплотипа H-2 (соответственно k и d).

Вместе с тем генетический контроль другого признака — способности синтезировать этот фактор — вовсе не изучен. Исследование проблемы осложнено тем, что гаплотип H-2^a, неспособный производить супрессорный фактор, — это рекомбинант между двумя супрессивными гаплотипами — H-2^k и H-2^d (см. табл. 1). То же касается еще двух несупрессивных рекомбинантов — B10.S(9R) и B10.HTT, в структуру I-района которых также входят только супрессивные аллели H-2 — s и k [477].

Из этих данных следует, что контроль супрессии может быть связан с более сложной и многокомпонентной по сравнению с Ig-генами системой Is-генов, не идентичных в разных супрессивных гаплотипах H-2 — d, k и s. В связи с этим предполагается,

¹⁷ Помимо субрайона I-A, остальные участки I-района у указанных рекомбинантов идентичны гаплотипу H-2^b мышей C57BL.

Таблица 13

Зависимость реактивности (активации синтеза ДНК) *in vitro* к LDH_B от экспрессии молекул I-A и I-E у мышей рекомбинантных линий

Линия мышей	Аллели субрайонов		Реактивность к LDH _B		
	I-A	I-E	без воздействия	введение антител	
				анти-Ia.7 (E ^k)	анти-Ia.7 (E ^k) + анти-I-A ^k
B10.A (2R)	k	k	НР	Р	НР
B10.A (4R)	k	(b) *	Р	Р	НР

Р — реактивная, НР — низкореактивная линия.

• Молекула I-E на мембране не экспрессирована ввиду отсутствия α-цепи (E⁰_α) в гаплотипе H-2^b.

что для супрессии реакции только на полипептид GT имеется по меньшей мере две системы Is-генов — Is-1 и Is-2 [477], которых в действительности может быть еще больше.

Во всяком случае, восстановление супрессии при комплементации Is-генов у гибридов F₁ (H-2^b × H-2^a) между двумя несупрессивными линиями отличается по своему механизму от восстановления реактивности при комплементации Ig-генов у гибридов F₁ между двумя нереактивными линиями. Только в последнем случае наблюдается истинная комплементация генов, приводящая к возникновению нового гена и синтезу нового продукта (Ia-белка, отсутствующего у каждого из нереактивных родителей). Напротив, при комплементации Is-генов у гибридов F₁ (H-2^b × H-2^a) дефект каждого из родителей (нечувствительность к фактору и неспособность его производить) сохраняется, но их взаимная компенсация приводит к восстановлению супрессии. Это заключение основано на том, что Т-клетки гибрида F₁ (H-2^b × H-2^a) при их реакции на GT производят два продукта, каждый из которых содержит антиген I-J одного из родителей — либо I-J^b (I-J^b +), либо I-J^k (I-J^k +). Из этих двух агентов только один (I-J^b +) способен индуцировать супрессорную активность, воздействуя не на сингенные клетки C57BL (генетически не чувствительные к супрессорному фактору, который они сами или гибриды F₁ производят), а на аллогенные клетки другого родителя — линии A (H-2^a), чувствительные к супрессорному фактору. Напротив, второй произведенный гибридом F₁ продукт I-J^k + не вызывает образование супрессоров, т. е. сохраняет дефект соответствующего родителя (H-2^a), неспособного производить супрессорный фактор [1167]. Из этих данных следует, что восстановление супрессии у гибрида F₁ связано не с комплементацией генов родительских линий, а со способностью этих генов функционировать независимо в клетках гибрида: одни из них по-прежнему ответственны только за образование супрессорного фактора, а другие — только за чувствительность к этому фактору.

Дальнейшее изучение Is-генов осложняется исключительным разнообразием генетической регуляции (рестрикции) функции Т-супрессоров. Как указывалось выше, СТС, блокирующие реакции на ГАТ и GT, реагируют на эти полипептиды сами по себе, т. е. независимо от контекста МНС каких-либо «презентирующих» клеток. Напротив, для индукции СТС, специфичных к некоторым гаптенам, необходимо, чтобы последние были ассоциированы с продуктом субрайона I-J «презентирующих» А-клеток (гл. IV.2.5.2). Клонированная линия СТС, специфичных к детерминантам БСА, реагирует на него только в комплексе с молекулой I-A «презентирующих» А-клеток [844]. Еще один вариант — СТС, специфичные к лактат-дегидрогеназе (LDH_B): они реагируют на этот белок только в комплексе с I-E молекулой гаплотипа H-2^k (I-E^k). Из табл. 13 следует, что различные рекомбинанты между мышами одних и тех же линий (B10 и B10.A) могут оказаться низкорезактивными (2R) или реактивными (4R) к LDH_B в зависимости от того, несут ли они молекулу I-E^k или нет. Более того, низкорезактивная линия 2R превращается в реактивную (в тесте пролиферации Т-клеток *in vitro*), если молекула I-E^k блокируется антителами анти-Ia.7; реактивность вновь сильно снижается при блокировке I-A молекулы (продукта данного Ig-гена) соответствующими антителами [148].

Низкая реактивность в этом случае вызвана именно Т-супрессорами (индуцированными LDH_B в комплексе с молекулой I-E^k): иммунные к LDH_B Т-клетки низкорезактивной линии 2R подавляют реакцию на LDH_B линии 4R, и это подавление отменяется после элиминации антителами клеток Lyt-2⁺ (один из маркеров СТС, см. гл. IV.2.3) из суспензии иммунных лимфоцитов 2R. Сами же эти лимфоциты после удаления из них Lyt-2⁺ клеток хорошо реагируют на LDH_B. Тот же процесс элиминации СТС может быть воспроизведен *in vivo*: мыши низкорезактивной линии 2R приобретают способность реагировать на LDH_B, если генерация СТС предотвращается либо введением мышам антител к детерминанте Ia.7, либо их иммунизацией LDH_B, введенным не в виде раствора, а в комплексе с макрофагами 4R, лишенными I-E молекулы [149].

Is-гены выявлены и у человека: низкая реактивность отдельных индивидуумов к антигену клеточной стенки стрептококка связана с образованием СТС, реагирующих на этот антиген в комплексе с определенными HLA-белками [1480].

Таким образом, в отличие от других субклассов Т-клеток, распознающих чужеродный антиген только в комплексе с продуктами МНС, СТС в зависимости от их специфичности могут распознавать соответствующие детерминанты по-разному — либо в контексте МНС (разных его продуктов в зависимости от индуцирующего супрессоры антигена), либо независимо от этого контекста. Факторы СТС могут подавлять иммунный ответ независимо от совпадения по комплексу H-2 с подавляемыми клетками (как выше указывалось, фактор I-J +^b, специфичный к GT, подав-

ляет реакцию Т-клеток Н-2^а) или, напротив, иметь строгую генетическую регуляцию по Н-2 (гл. IV.2.4.4). Разнообразие генетической рестрикции СТС связано, по-видимому, с неоднородностью продуктов Is-генов и множеством путей реализации их функции.

Из приведенных данных следует, что функция Is-, так же как Ig-генов, реализуется преимущественно с помощью Ia-молекул, т. е. продуктов генов МНС класса II. Разнообразие сочетаний не только самих этих молекул, но и комбинаций их субъединиц и в особенности множество возникающих при этом комбинаторных детерминант, взаимодействующих с индивидуальными детерминантами белка, создают в каждом случае (у данного индивидуума, иммунизированного данным белком в конкретных условиях) уникальную ситуацию, обеспечивающую функцию Ig- и (или) Is-генов. Особенности Is-генов, контролирующих функцию СТС при реакции на данный белок, могут быть использованы для направленного изменения хода иммунного ответа не только *in vitro*, но и *in vivo* — путем избирательной элиминации СТС или создания непермиссивных генетических условий для реализации их функции. Напротив, отсутствие Is-генов в других случаях — у индивидуумов, не несущих определенных HLA-белков, — создает аутоиммунный или аллергический статус, для преодоления которого необходима искусственная индукция СТС.

II

ГЛАВА

ПРЕДШЕСТВЕННИКИ Т-ЛИМФОЦИТОВ И ИХ АНТИГЕННЕЗАВИСИМАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

Прежде чем приобрести иммунокомпетентность, лимфоидные клетки проходят многоэтапный путь дифференцировки, независимой от антигенных воздействий, причем этот путь, совершенно различный для Т- и В-лимфоцитов, не идентичен и для некоторых Т-субклассов. Каждый из отрезков этого пути протекает в определенном микроокружении того или иного лимфоидного органа и связан с приобретением и утратой предшественником определенных свойств клеточной поверхности, которые, таким образом, могут служить маркерами соответствующего этапа дифференцировки. Хотя разные категории лимфоцитов различаются сроком жизни (гл. II.5 и II.3.1), даже самые долгоживущие из них обмениваются в течение жизни организма. Следовательно, необходимо постоянное заселение периферической «работающей» лимфоидной системы новыми клетками, т. е. процесс созревания лимфоцитов в центральных органах — костном мозге и тимусе — отнюдь не ограничивается периодом эмбрионального развития, но продолжается, хотя и с разной интенсивностью, в течение последующей жизни.

II.1. Общий предшественник Т- и В-клеток

Хорошо известно, что все лимфоидные клетки, включая В- и Т-лимфоциты, являются потомками полипотентной стволовой кроветворной клетки (СКК) костного мозга, т. е. имеют единого предшественника, общего с предшественником всех кроветворных клеток — эритроидных, гранулоцитарных и мегакариоцитарных [30]. Этот факт, установленный с помощью сохранения у всех потомков СКК радиационного маркера хромосомы облученных клеток колоний селезенки мыши (потомков единичной СКК костного мозга), в некоторых случаях не подтверждается: выявляются СКК с ограниченными потенциями [34]. В действительности такие ограничения могут быть вызваны функциональными дефектами, возникшими в клетках после облучения. В связи с этим существенно, что никаких ограниченных потенций у СКК не найдено, если их потомки идентифицированы у человека по образованию колоний и дифференцировке в культуре [556], а у мыши — с помощью аллотрансплантации клеток эмбриональной

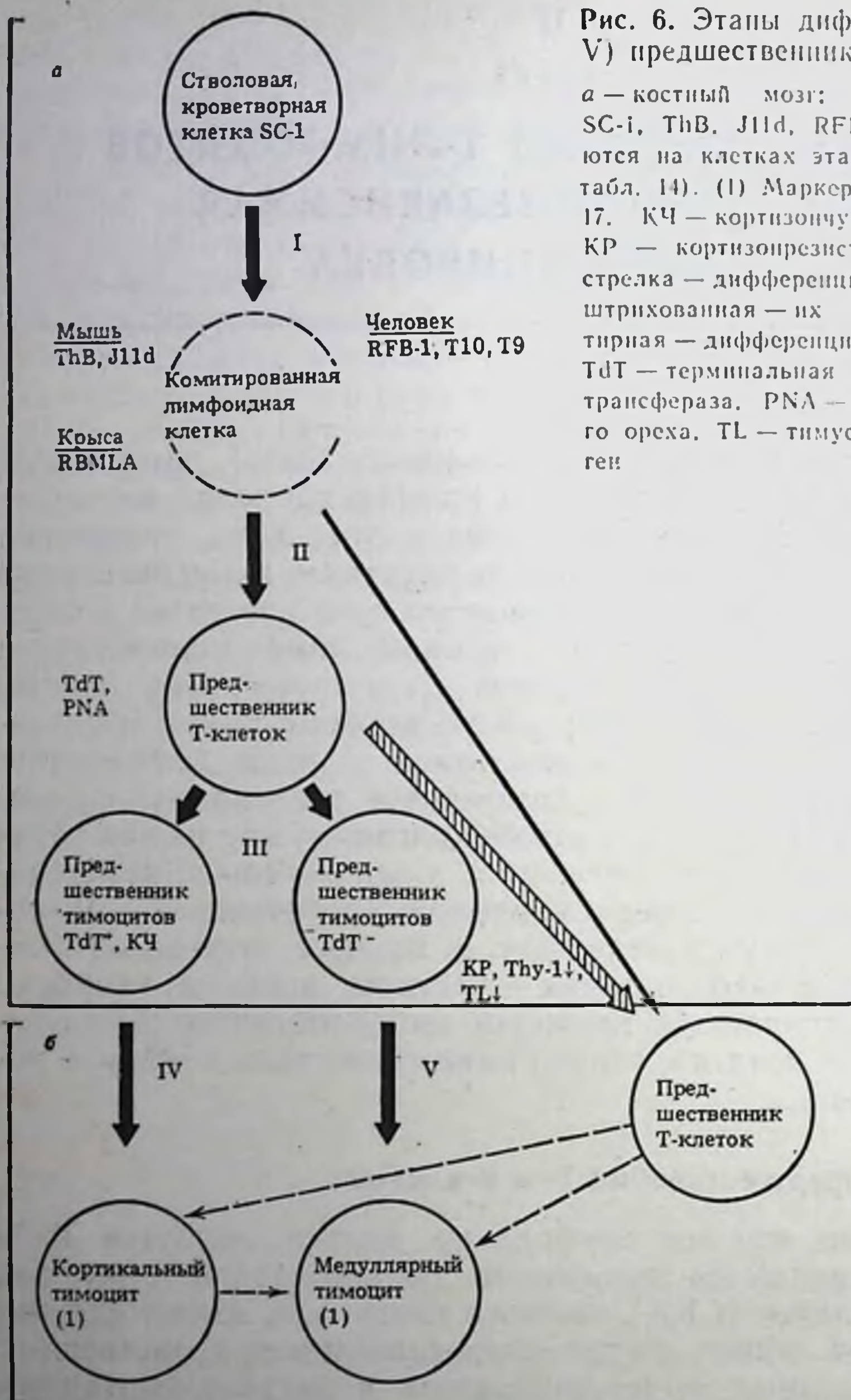


Рис. 6. Этапы дифференцировки (I—V) предшественников Т-клеток

а — костный мозг; б — тимус. Маркеры SC-i, ThB, J11d, RFB-1, T10, T9 сохраняются на клетках этапов II, III и IV (см. табл. 14). (1) Маркеры см. рис. 8 и табл. 17. КЧ — кортизончувствительные клетки, КР — кортизонрезистентные. Сплошная стрелка — дифференцировка клеток, заштрихованная — их перемещение, пунктирная — дифференцировка не доказана, TdT — терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза, PNA — агглютинин земляного ореха, TL — тимус-лейкемический антиген.

печени 11-дневным эмбрионам, генетически дефектным по развитию собственных СКК [585].

До настоящего времени не идентифицирован самый ранний этап лимфоидной дифференцировки — возникновение общей для Т- и В-лимфоцитов комитированной лимфоидной клетки (КЛК, рис. 6), которое должно предшествовать дальнейшему созреванию, подобно тому как это происходит в ходе дифференцировки других кроветворных клеток костного мозга. В пользу существования КЛК свидетельствуют данные о наличии общих маркеров предшественников Т- и В-лимфоцитов. Впервые такой маркер.

Обозначенный ThB, был выявлен на тимоцитах мыши с помощью кроличьей антисыворотки, а затем идентифицирован МкАТ крысы [504], выделен и очищен [1305].

Данные о клеточной локализации общих маркеров предшественников Т- и В-лимфоцитов сведены в табл. 14. ThB, локализованный в претимоцитах костного мозга и 56% кортикальных (незрелых) тимоцитов — (гл. II.4.1), сохраняется лишь на 3% медуллярных тимоцитов и полностью исчезает из периферических Т-клеток. Вместе с тем ThB найден на В-клетках (костного мозга и селезенки), хотя и в меньшем количестве, чем на кортикальных тимоцитах, причем его содержание уменьшается с возрастом и в ходе дифференцировки В-клеток, но сохраняется на В-блестах, индуцированных ЛПС. Эти данные, так же как отсутствие антигена ThB на СКК и иных кроветворных клетках (а также в головном мозге, печени и почке), означают, что этот белок с молекулярной массой 16 кДа — стадиоспецифический маркер раннего этапа дифференцировки исключительно Т-лимфоцитов, который появляется на КЛК и исчезает только в тимусе при дальнейшем созревании Т-лимфоцитов, по-видимому заменяясь на их поверхности белком Lu6 (гл. II.4.2).

Маркер, общий для предшественников Т- и В-клеток крысы, — антиген RBMLA¹ — обнаружен с помощью кроличьей сыворотки против очищенных «нулевых» лимфоцитов (т. е. лишенных признаков зрелых Т- и В-клеток) костного мозга. Эти антитела инактивировали (в присутствии комплемента) не только предшественников Т-(ПТ) и В-клеток, но и СКК (угнетали возникновение кроветворных колоний в селезенке, репопуляцию эритроидных, миелоидных и лимфоидных клеток в организме облученных мышей) [684]. Таким образом, в отличие от ThB, RBMLA — маркер СКК, который сохраняется при ее дифференцировке не только в КЛК, но и в другие кроветворные клетки, хотя так же как ThB, исчезает при дальнейшем созревании Т-лимфоцитов.

Из анализа специфичности набора МкАТ, направленных к общим предшественникам кроветворных клеток (табл. 14), следует, что в зависимости от степени дифференцировки СКК их ближайшие потомки могут сохранять, утрачивать или приобретать отдельные антигенные маркеры.

Например, МкАТ J11d крыс, иммунизированных тимоцитами мышей, реагируют с клетками тимуса и с 90% В-клеток (исчезая с их поверхности только после повторной активации антигеном), а также с ранними потомками СКК, но вовсе не реагируют с самими СКК [281]. Маркер M1/69.16 кортикальных тимоцитов мышей, так же как ThB, исчезает при их созревании и сохраняется на В-лимфоцитах, но в отличие от ThB он найден не только на лимфоидных, но и на иных кроветворных клетках, сохраняясь при их дифференцировке [2031].

¹ Rat bone marrow lymphocyte antigen — антиген лимфоцитов костного мозга крыс.

Таблица 14. Общие маркеры предшественников Т- и В-лимфоцитов

Маркер	М. м., кДа	Источник антител	Иммунизирую- щие клетки	Локализация														
				костный мозг						тимоциты		периферические лимфоциты		активированные лимфоциты				
				СКК	прети- моциты	пре-В- клетки	пре-КК (Э и М)*	зрелые КК (Э и М)*	кортикаль- ные	медул- лярные	Т	В	Т	В				
ThV мыши	16	Крыса	Плазматиче- ма МОРС- 104-E	+	+	+	—	—	+	—	+	—	—	+	—	+	(ЛПС- бласты)	
RBMLa крысы		Кролик	«Нулевые» лимфоциты костного моз- га	+	+	+	+	—	+	+	—	±**	—	±**	—	—	—	—
M1/69.16 мышь		Крыса	Т-лимфоциты мышь	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—
J11d мышь		»	Тимоциты СЗН	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—
RFB-1 человека		Мышь	Клетки ост- рого Т-лей- коза	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
T10 чело- века	45	»	Тимоциты	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
T9 чело- века	190	»	»	—	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

* КК — кроветворные клетки; Э — эритроидные; М — миелоидные.

*** Слабая экспрессия на 50% Т-лимфоцитов.

** Экспрессируется на 16% клеток селезенки и 1% клеток лимфоузлов.

(+) Маркер присутствует; (—) отсутствует.

То же касается белков RFB-1, T10 и T9 человека, выявляемых МкАТ мышей, которые иммунизированы клетками острого Т-лейкоза [226] или тимоцитами человека [1661]. Эти МкАТ реагируют не только с ПТ костного мозга и кортикальными тимоцитами, но и с предшественниками миелоидных клеток человека, отменяя возникновение в культуре грануломоноцитарных колоний. Такие маркеры, быстро исчезающие с поверхности клеток обеих линий при их дифференцировке, не выявляются и на зрелых В-лимфоцитах, возможно, в результате экспрессии на их поверхности мембранного IgM.

Таким образом, несмотря на разнообразие маркеров общего предшественника Т- и В-клеток и вариабельность их экспрессии, общее их свойство — исчезновение при созревании клеток в тимусе. Из табл. 14 можно видеть, что все они, как правило, не выявляются на медуллярных тимоцитах и периферических Т-клетках, но могут сохраняться на зрелых «девственных» или даже активированных В-клетках. Очистка и характеристика этих белков, вероятно, позволит установить возникновение КЛК как этапа дифференцировки СКК.

11.2. Специализированные предшественники Т-лимфоцитов и их миграция в тимус

11.2.1. Свойства ПТ костного мозга и резидентных ПТ тимуса

Клетки следующего этапа дифференцировки (ПТ), локализованные в костном мозге, селезенке и тимусе, изучены более детально (см. рис. 6). Эти клетки иммунологически инертны. Основное свойство ПТ — способность дифференцироваться в Т-клетки *in vivo* или *in vitro* под влиянием тимуса, его гормонов или иных веществ. В связи с этим ПТ идентифицируют *in vivo* — при введении сингенным летально облученным мышам популяции клеток, лишенной Т-лимфоцитов, — по возникновению либо функциональных активностей Т-лимфоцитов (способности реагировать на аллоантигены в РТПХ или MLC) [511], либо маркера Т-клеток — антигена Thy-1 донора [967]. В последнем случае различие между линиями донора и реципиента только по аллелю Thy-1 (Thy-1.1 и Thy-1.2) позволяет с помощью соответствующих антител оценить количество ПТ донора, созревающих в тимусе реципиента. Еще одна функциональная особенность ПТ, позволяющая их выявлять, — избирательная миграция клеток костного мозга, меченных изотопом [1069] или изотиоцианатом флуоресценна (ФИТЦ) [1178], в тимус летально облученного реципиента.

Таким образом, было обнаружено, что в костном мозге количество ПТ в 8 раз больше, чем в селезенке (тогда как в лимфоузлах они отсутствуют) [967], а в костном мозге и селезенке бестимусных мышей *nude* ПТ находятся в состоянии полной готовности к дифференцировке [1215]. Судя по доле ФИТЦ-мечен-

Таблица 15

Свойства СКК, предшественников и зрелых Т- и В-клеток костного мозга

Свойства	СКК	Предшественники Т-клеток	Предшественники В-клеток	Зрелые Т- и В-клетки
Радиорезистентность	$D_0=100$ рад	$D_0=210$ рад	?	$T>B$
Плавучая плотность	$1,059^{*3}$ $1,07^{*4}$	$1,064^{*3}$ $1,07^{*4}$?	$1,071^{*,**}$
Скорость спонтанного осаднения в градиенте плотности альбумина, мм/ч	4	3,5	5	3
Рецептор к компоненту	—	—	—	$+^{*2}$
Чувствительность к АЛС	—	—	—	$+^*$
Реактивность в РТПХ и MLC	—	—	—	$+^*$
Маркеры: антигены мозга				
Т-клеточный	—	+	—	$+^*$
стволово-клеточный SC-1	+	+	—	—
антиген Thy-1	—	—	—	$+^*$
Иммуноглобулины	—	—	+	$+^{*2}$
Антиген ThB	?	+	+	—
RBMLA	+	+	+	—
Фермент TdT	?	+	+	—
Рецептор к PNA	—	+	—	—

* Признак Т-клеток.

*³ По данным работы [511].*² Признак В-клеток.*⁴ По данным работы [227].

(—) — отсутствие, (+) — присутствие данного признака или свойства.

 D_0 — доза, оставляющая живыми 37% клеток на экспоненциальной части кривой радиочувствительности.

ных клеток костного мозга, мигрирующих в тимус за 24 ч, доля ПТ не превышает 0,1% клеток костного мозга [1178], причем 60% этих ПТ находятся в S-фазе [1179]. Эти цифры, однако, могут быть занижены ввиду проникновения ПТ мышей в тимус в более поздние сроки (см. ниже). Кроме того, введение костномозговых клеток не внутривенно, а прямо в тимус облученного реципиента приводит к увеличению частоты ПТ в несколько десятков раз [678a].

ПТ костного мозга представляют собой сравнительно большие лимфоциты диаметром 10—15 мкм, резистентные к облучению, а также к гидрокортизону, введенному *in vivo*. Они не прикрепляются к нейлоновой и стеклянной вате [137]. Поскольку в костном мозге присутствуют морфологически сходные, но функционально совершенно различные категории лимфоидных клеток, необходимо иметь в виду критерии, позволяющие отличать и отделять ПТ от других клеток костного мозга (табл. 15).

ПТ отличаются от СКК большей радиорезистентностью [137] и большей плавучей плотностью в линейном градиенте фикола

[511], хотя при разделении в линейном градиенте альбумина их плавучие плотности (1.07) неразличимы [227]. От предшественников В-клеток ПТ можно отделить за счет меньшей плотности в градиенте альбумина [1777] и благодаря присутствию на их поверхности двух маркеров — рецептора к агглютнину земляного ореха (PNA)² [1217] и стволовомклеточного антигена мозга SC-1 [1769]. Антитела к SC-1 позволяют отделить ПТ от других клеток костного мозга с помощью флуоресцентного сортера. В отличие от зрелых Т- и В-лимфоцитов, также присутствующих в костном мозге, ПТ мышей имеют меньшую плавучую плотность и лишены соответствующих маркеров и функциональных активностей: не несут антигенов Thy-1, Lyl-1 и Lyl-2, Ig, рецептора к комплементу (C'3) и других мембранных маркеров В- и пре-В клеток [1179], не реагируют на фитогемагглютинин (ФГА) и аллоантигены в РПТХ и в МЛС. Поскольку зрелые Т-клетки попадают в костный мозг при рециркуляции, они в отличие от ПТ легко элиминируются одной инъекцией антилимфоцитарной сыворотки (АЛС) [295].

Использование особенностей ПТ позволило разработать процедуру их обогащения в 11 (ПТ костного мозга) и в 30 раз (ПТ селезенки), которая включает несколько этапов: выделение лимфоцитов в градиенте плотности фиколл-гипака, удаление зрелых Т- и В-лимфоцитов, фильтрацию через стеклянную вату и фракционирование в градиенте плотности альбумина [138]. ПТ крыс, отличающихся от ПТ мышей наличием антигена Thy-1, удалось сконцентрировать в 112 раз путем отбора Thy-1⁺ клеток (иммунофлуоресцентным сортером), имеющих средний диаметр 10,4 мкм [738].

Рецептор к РНА (*D*-галактоза) появляется на поверхности ПТ очень рано — в эмбриональной печени — и его экспрессия возрастает при дифференцировке ПТ в кортикальной зоне тимуса [1217]. Напротив, антиген SC-1, выявляемый на большинстве клеток эмбрионального тимуса истощенными тимоцитами анти-мозговыми антителами, быстро исчезает с поверхности тимоцитов в ходе их созревания в первые дни жизни мышей, сохраняясь к 10-му дню менее чем на 1% клеток тимуса [189].

У взрослых мышей линий AKR и NZB, склонных к развитию аутоиммунных процессов, доля SC-1⁺ тимоцитов составляет 11—13%. Предполагается, что в ходе дифференцировки ПТ в тимусе антиген SC-1 превращается в антиген Thy-1 тимоцитов в результате его гликозилирования ферментами, активированными в тимусе *in vivo* или в строме тимуса *in vitro* [1769].

Изучение свойств тимоцитов, сохраняющих этот маркер, показало, что они действительно являются ПТ: отличаясь от остальных тимоцитов высокой резистентностью к облучению [968] и кортизону [2128], они интенсивно пролиферируют и обеспечивают полное восстановление структуры тимуса в течение первых дней после облучения мышей (или введения им препаратов кор-

² Peanut agglutinin.

тизона). Предположение о том, что ПТ, локализованные не в костном мозге, а внутри тимуса, служат первым источником его регенерации, следовало вначале из того, что экранирование костного мозга и селезенки во время летального облучения, так же как введение сингенного костного мозга сразу после облучения, не меняет темп регенерации тимуса: она начинается через 48 ч, приводит к восстановлению структуры тимуса через 8—9 дней, и лишь после этого в тимусе начинают пролиферировать хромосомально меченые ПТ костного мозга донора, постепенно замещая потомки радиорезистентных ПТ тимуса хозяина [968]. В последующем эти данные были полностью подтверждены с помощью радиационных химер — либо полуаллогенных (родитель→гибрид F_1), либо сингенных по комплексу H-2, но различающихся аллелем маркера Thy-1, что позволяло четко различать клетки донора и хозяина. Оказалось, что в тимусе присутствуют 10^4 радиорезистентных ПТ, которые до облучения почти не делятся. Их бурная пролиферация после летального облучения приводит к возникновению в тимусе $2 \cdot 10^7$ клеток хозяина, составляющих к 12—16-му дню $2/3$ клеток тимуса, после чего они опять перестают пролиферировать и к 29-му дню замещаются клетками донора [333].

Пролиферирующие тимоциты хозяина — потомки «транзитных» ПТ тимуса — высокоиммунокомпетентны: только они генерируют (на 14-й день после облучения) специфичные к вирусу ЦТЛ, распознающие его в ассоциации с собственными антигенами H-2 (но не антигенами H-2 донора) [1067]. Поскольку их пролиферация и иммунокомпетентность сохраняются при суперлетальной дозе облучения (1200 рад) и предварительном (до облучения) введении мышам антитимоцитарной сыворотки (АТС), которая элиминирует циркулирующие в кровотоке лимфоидные клетки, очевидно, что предшественники «транзитных» ПТ являются резидентными клетками тимуса, составляющими радиорезистентный внутритимусный резерв. Следует полагать, что сигналом для вступления их в цикл является уменьшение количества периферических Т-клеток: достаточно дозы облучения 120 рад, чтобы через 4 дня доля $SC-1^+$ клеток в тимусе увеличилась с 0,7 до 59%, вовсе исчезая к 11-му дню после облучения [189]. Принадлежность клеток $SC-1^+$ тимуса к субклассу ПТ следует также из их избирательной способности, отсутствующей у созревающих тимоцитов, мигрировать в тимус после внутривенного введения летально облученным животным [968].

Еще одна особенность, отличающая «транзитные» ПТ тимуса не только от остальных тимоцитов, но и от ПТ костного мозга, — стабильно низкий уровень антигена Thy-1 у их потомков (в первые дни после облучения), который сменяется высоким уровнем Thy-1 антигена в более поздние сроки. Напротив, характерная особенность первых же потомков мигрирующих в тимус ПТ костного мозга — высокий уровень Thy-1 (свойство незрелых тимоцитов), который постепенно снижается в ходе дифференцировки

клеток в тимусе [228]. Эта особенность «транзитных» ПТ тимуса указывает, во-первых, на независимость их происхождения от ПТ костного мозга, во-вторых, на их сходство с первыми клетками, которые проникают в тимус на 11-й день эмбрионального развития. 2—3 дня спустя первые тимоциты приобретают фенотип зрелых Т-клеток (гл. II.4.3) — низкий уровень антигена Thy-1 (Thy-1↓) и присутствие только антигена Lyt-1 (фенотип Lyt-1⁺2⁻3⁻), который сменяется фенотипом незрелых кортикальных тимоцитов (Thy-1↑, Lyt-1⁺2⁺3⁺) лишь на 17-й день эмбрионального развития при резком возрастании количества тимоцитов [1303]. Таким образом, смена зрелого фенотипа тимоцитов на незрелый в ходе их дифференцировки в эмбриогенезе воспроизводится при замене относительно зрелых «транзитных» ПТ тимуса незрелыми ПТ костного мозга, введенными взрослым облученным мышам.

II.2.2. Экспрессия фермента TdT как показатель неоднородности и степени зрелости претимоцитов костного мозга

Сравнение «транзитных» или «резидентных» ПТ тимуса и ПТ костного мозга указывает на неоднородность ПТ. Более того, ПТ костного мозга (и их ближайшие потомки — претимоциты) также делятся на две категории: одни из них содержат уникальную ДНК-полимеразу — терминальную дезоксинуклеотидилтрансферазу (TdT⁺), а другие лишены ее (TdT⁻) (см. рис. 6). Этот фермент с молекулярной массой 60 кДа [1877] обнаруживается в 3,9% клеток костного мозга и 2,3% клеток селезенки, в 67% кортикальных тимоцитов и отсутствует в лимфоидных тканях, содержащих зрелые Т-клетки (медуллярная зона тимуса, лимфоузлы) [135, 737]. Представление о том, что TdT является маркером претимоцитов костного мозга и исчезает при дифференцировке тимоцитов, подтверждается убедительными фактами. Во-первых, содержащие TdT клетки костного мозга мышей, крыс и человека лишены маркеров и свойств (реактивность к митогенам) зрелых Т-клеток [936, 1540] и могут быть отделены как от СКК, так и от грануло- и моноцитарных предшественников с помощью иммунофлуоресцентного сортера (после обработки анти-TdT антителами) [686]. Во-вторых, TdT⁺ клетки костного мозга человека содержат также антиген T10 — общий маркер ПТ, предшественников В-клеток и миелобластов, исчезающий из всех этих клеток при их созревании [936]. В-третьих, в клетках костного мозга и их мигрантах — крупных тимоцитах субкапсулярной зоны тимуса — TdT содержится в ядре, а при их созревании в тимоциты кортикальной зоны этот фермент перемещается в цитоплазму [736]. В-четвертых, с возрастом TdT⁺ клетки исчезают сначала из костного мозга, а потом из тимуса [1540]. В-пятых, после обработки клеток костного мозга *in vitro* гормонами тимуса — тимопоэтином [1876] или тимозином [687] — на

TdT⁺ клетках возникают маркеры тимоцитов — антигены Thy-1 (в первом случае) и Lyt-1 (во втором). При последующей обработке этих клеток антителами к указанным антигенам и компонентом большая часть TdT из костного мозга исчезает.

Совокупность этих данных означает, что TdT появляется в ядре после комитирования стволовых клеток костного мозга в направлении лимфоидных клеток (КЛК), перемещается в цитоплазму при дифференцировке ПТ в незрелые тимоциты и вновь исчезает при их созревании внутри тимуса (гл. II.4.2). Хотя функция этой ДНК-полимеразы не установлена, предполагается, что вызванные ею соматические мутации способствуют генерации разнообразия антигенсвязывающих рецепторов на ранних стадиях дифференцировки Т-клеток.

Выявление этого фермента не во всех ПТ позволило предположить, что ПТ дифференцируются в претимоциты двух категорий — TdT⁺ и TdT⁻. Судя по соотношению TdT⁺ и TdT⁻ претимоцитов, активированных тимозином *in vitro*, доля TdT⁺ претимоцитов составляет в костном мозге и селезенке нормальных мышей соответственно 80 и 30%, тогда как в костном мозге бестимусных мышей *pude* — лишь 20% [687]. Далее оказалось, что содержащие и лишенные TdT претимоциты различаются по степени зрелости. TdT⁺ претимоциты являются, по-видимому, менее зрелыми клетками: они высокочувствительны к дексаметазону [737, 1768]³ и полностью исчезают из селезенки 7-недельных мышей и крыс, сохраняясь в кроветворных органах, — закономерность, установленная независимо от вида животного и способа определения TdT [737, 1540, 1768].

Сам по себе факт сильного снижения доли TdT⁺ претимоцитов в костном мозге мышей *pude* указывает на регуляторную роль тимуса в дифференцировке ПТ, происходящей в костном мозге взрослых животных, — их превращение в TdT⁺ претимоциты. Зависимость части претимоцитов костного мозга от функции тимуса следует также из того, что количество претимоцитов, сниженное у неонатально тимэктомированных (так же, как у старых) мышей, восстанавливается при введении тимозина *in vivo*. Этот феномен «обратной связи» тимуса с ПТ костного мозга, сопровождающийся переходом покоящихся ПТ в пролиферативный пул [380], проявляется, возможно, в отношении TdT⁺ претимоцитов, хотя этот вопрос специально не исследовался.

Иное проявление этой «обратной связи» обнаруживается при имплантации мышам *pude* доли тимуса (в том числе в непроницаемой для клеток диффузионной камере), что приводит к исчезновению из костного мозга *pude* сравнительно зрелых короткоживущих претимоцитов (идентифицированных по наличию Thy-1 и TL-антигенов в малой концентрации) [1710]. Поскольку эта

³ Этот факт (чувствительность к кортикостероидам) воспроизведен в длительной культуре костного мозга: доля TdT⁺ клеток, находящихся в пролиферативном пуле, снижается в 10 раз после введения в среду 10⁻⁶ М гидрокортизона, не влияющего на функцию СКК [1798].

категория претимоцитов выявляется в костном мозге обычных мышей только после тимэктомии, следует полагать, что сравнительно зрелые претимоциты костного мозга быстро дифференцируются в Т-клетки вне тимуса, но под влиянием выделенного тимусом гуморального медиатора, который в указанных опытах проникает через поры фильтра диффузионной камеры.

Приведенные данные позволяют предположить, что TdT⁻ претимоциты, возникновение которых не зависит от тимуса, являются более зрелыми клетками, чем TdT⁺ претимоциты. Сравнительно высокая зрелость TdT⁻ претимоцитов, составляющих 80% ПТ костного мозга мышей *pude*, следует из их способности подвергаться дифференцировке в отсутствие тимуса: уже в возрасте 2 месяцев часть клеток селезенки этих мышей несет фенотип тимоцитов (хотя слабо выраженный) — Thy-1⁺, TL⁺, Lyt-1, 2, 3. Спустя еще 2—4 недели они утрачивают антиген TL и разделяются на клетки Lyt-1⁺2⁻ и Lyt-1⁺2⁺ [1244] — процесс, который обычно происходит внутри тимуса (гл. II.4.2). Введение в этом случае мышам больших доз синтетического фрагмента тимопоэтина лишь ускоряет этот процесс, который без тимуса и его продуктов приводит к спонтанному росту у *pude* числа Thy-1⁺ клеток, составляющих в возрасте 6 месяцев около 10% клеток селезенки, 20% клеток лимфоузлов, а после удаления В-лимфоцитов — 22—67% оставшихся клеток селезенки [1244, 1647].

Таким образом, в отличие от TdT⁺ претимоцитов, сравнительно более зрелые TdT⁻ претимоциты костного мозга возникают и частично созревают вне тимуса, экспрессируя в его отсутствие маркеры медуллярных (зрелых) тимоцитов.

Наличие у мышей *pude* рудиментарных фрагментов тимуса не противоречит этому заключению: в таких рудиментах, культивированных несколько дней, признаки лимфопоэза не появляются (при полном развитии структуры эпителиальных цист) [958], тогда как в тех же условиях органной культуры эмбрионального тимуса обычных мышей тимоциты полностью развиваются и заселяют тимус [1694]. В связи с этим оправдано предположение, что два независимых типа претимоцитов костного мозга (TdT⁺ и TdT⁻) дифференцируются в различных направлениях: TdT⁺ претимоциты служат предшественниками кортикальных тимоцитов и созревают только внутри тимуса, а TdT⁻ претимоциты — предшественники медуллярных тимоцитов — могут созревать как в тимусе, так и вне его [687] (см. рис. 6).

II.2.3. Функциональное созревание претимоцитов без тимуса

Дифференцировка претимоцитов костного мозга в отсутствие тимуса проявляется не только в возникновении на их поверхности маркеров Т-клеток, но и в способности осуществлять функции Т-клеток. В возрасте 4 месяцев и более у мышей *pude* обнаруживаются пЦТЛ, которые, будучи активированы аллогенными клетками в МЛС, дифференцируются в ЦТЛ, разрушающие соответ-

ствующие КМ [1295]. По своему фенотипу (Thy-1⁺, Lyl-2⁺) эти пЦТЛ не отличаются от пЦТЛ нормальных мышей, и, хотя их частота в 50—200 раз ниже, чем у нормальных мышей, она возрастает в 10 раз после удаления иных клеток фильтрацией через нейлоновую вату.

Для дифференцировки пЦТЛ *nude in vitro* в ЦТЛ под действием аллоантигенов или модифицированных гаптенем сингенных антигенов необходима помощь — добавление в культуральную среду интерлейкина-2 (ИЛ-2), синтезированного Т-хелперами нормальных мышей [663, 895, 75]. Такая же помощь неделящихся нормальных Т-лимфоцитов в присутствии малой концентрации Кон А достаточна для бласт-трансформации культивированных совместно с ними претимоцитов селезенки *nude* (не имеющих антигена Thy-1, но чувствительных к антимозговым SC-1 антителам). Поскольку возникающие из клеток *nude* бласты несут маркер Т-лимфоцитов Thy-1 [1207], очевидно, что как созревание мембранных маркеров, так и функциональная дифференцировка происходят в претимоцитах *nude* в отсутствие тимуса одновременно — либо спонтанно (в течение нескольких месяцев *in vivo*), либо под действием ИЛ-2 (в течение нескольких дней *in vitro*).

Описанные данные касаются дифференцировки главным образом пЦТЛ. Однако и другие Т-субпопуляции — амплифайеры, продуцирующие ИЛ-2 и несущие обычный для этих клеток фенотип (Thy-1⁺, Lyl-2⁻) [1248], а также хелперы, способствующие образованию антител [924], спонтанно созревают у «старых» мышей *nude*, хотя их частота у 11-месячных мышей *nude* в 10 раз ниже, чем у обычных [1249]. Этот процесс — дифференцировка как пЦТЛ [2161], так и предшественников Т-хелперов [1961] — может быть быстро индуцирован не только *in vitro*, но и *in vivo* — с помощью введения мышам *nude* ИЛ-2. Указанный факт может оказаться существенным при создании новых подходов к терапии иммунодефицитных заболеваний (гл. III.5.1).

Поскольку претимоциты эмбриональной печени и костного мозга нормальных мышей (из которого удалены зрелые Т-клетки) также довольно быстро (за 2 месяца) созревают *in vivo* в отсутствие тимуса (в сингенных тимэктомированных радиационных химерах) [627, 491], возникает вопрос: какова роль тимуса в дифференцировке претимоцитов? Этот вопрос будет детально обсуждаться в связи с возникновением разнообразия репертуара Т-лимфоцитов (гл. II.4.8). Здесь следует указать, что дифференцировка претимоцитов в отсутствие тимуса, во-первых, замедлена, а во-вторых, неполноценна в качественном и количественном отношении: а) ИЛ-2 продуценты, созревающие у «старых» *nude*, отличаются от амплифайеров обычных мышей не только меньшей частотой, но и ограниченной (индивидуальной для каждой мыши) реактивностью на продукты МНС лишь некоторых гаплотипов, что, возможно, связано с медленной дифференцировкой этих Т-клеток [1249]; б) ЦТЛ мышей *nude*, которые дифферен-

цируются *in vitro* (в присутствии аллоантигена или модифицированного гаптенем сингенного антигена H-2) из соответствующих предшественников, созревающих под действием добавленного извне ИЛ-2, хотя и специфичны к иммунизирующему антигену, а также рестриктированы по комплексу H-2, тем не менее отличаются по своей ПР и тонкой избирательности рестрикции от таких же ЦТЛ — потомков обычных Т-клеток [895]. Таким образом, присутствие тимуса необходимо для быстрого созревания претимоцитов, а также полноценного и разнообразного функционирования их потомков.

II.2.4. Миграция претимоцитов костного мозга и их идентификация внутри тимуса

Этот процесс связан с тропностью претимоцитов к тимусу, которая проявляется в избирательной их миграции в тимус после внутривенного введения летально облученным животным. Проникновение претимоцитов из кровотока в периваскулярные синусы локально облученного тимуса можно наблюдать в световом и электронном микроскопе [330]. Только претимоциты, выявляемые по наличию антигена SC-1 [968] и антигенов комплекса H-2 донорской линии, но не зрелые (Thy-1^+) Т-лимфоциты обладают этой способностью [1688, 1980]. Скорость этой миграции не идентична у разных видов млекопитающих. У крыс клетки костного мозга донора обнаруживаются в тимусе облученного реципиента на 4-й день после их введения и спустя еще 4 дня структура тимуса восстанавливается [1516]. Напротив, основная масса костномозговых мигрантов мышей выявляется в их тимусе не ранее 10—12-го дня и полностью восстанавливает его структуру лишь к концу месяца, поскольку, как выше указано, уже в первые дни после облучения тимус заселяется потомками собственных «транзитных» ПТ.

Срок заселения тимуса мышей претимоцитами ускоряется, если его не подвергают облучению: пересаженный под капсулу почки гибрида F_1 эмбриональный тимус родительской линии начинает заселяться клетками хозяина в первые же дни после пересадки, хотя и в этом случае их пролиферация и дифференцировка в Thy-1^+ клетки начинается лишь через 9—14 дней после проникновения в тимус [1688].

Окончательно не установлено, мигрируют ли в тимус только претимоциты или также и СКК костного мозга. Поскольку в течение первых часов и дней после введения клеток костного мозга летально облученным мышам из их тимуса не удается извлечь СКК, образующие колонии в селезенке при повторном введении [227], или количество таких клеток минимально [1069], следует думать, что если СКК и проникают в тимус, они подвергаются в нем быстрой дифференцировке.

Для оценки последующих событий внутри тимуса понадобилась характеристика проникших в тимус, а затем выделенных из него претимоцитов, которые синтезируют ДНК (22% митозирую-

щих клеток по сравнению с 1% остальных тимоцитов) и могут быть отделены от остальных тимоцитов за счет большого размера (11—19 мкм), низкой плотности в градиенте альбумина, отсутствия антигена Thy-1 [1187], [330]. Выделенные таким образом клетки с фенотипом Thy-1⁻, Pgp-1⁺, составляющие 2% клеток тимуса, оказались способными репопулировать тимус облученного реципиента [1182]. Первый же этап дифференцировки этих претимоцитов в клетки с фенотипом Thy-1⁺, L3T4⁻, Lyt-2⁻, Lyt-1[±] [обозначенные как «двойные отрицательные», или dLyl (d—dull — тусклые) и составляющие менее 5% клеток тимуса], хотя и сохраняет их способность заселять тимус реципиента и даже созревать внутри него, приводит к ограничению их самообновления, т. е. к исчезновению в течение 23 дней, после того как они повторно заселили тимус [606a]. Следующие этапы дифференцировки тимоцитов вовсе лишают их способности репопулировать тимус реципиента.

Охарактеризованные выше клетки тимуса Thy-1⁻ расцениваются как претимоциты на основании ряда иных данных: 1) если на поверхность доли тимуса 5-дневных мышей, получивших инъекцию «холодного» тимидина, наносят ³H-тимидин, то в течение нескольких часов метятся только субкапсулярные клетки, тогда как их меченые потомки появляются в кортикальной и медуллярной зонах тимуса лишь спустя 2—4 дня [2212]; 2) наименее плотные фракции тимоцитов в ступенчатом градиенте альбумина, лишенные антигена Thy-1, исчезают, если перед фракционированием мышам была введена АЛС, которая избирательно элиминирует циркулирующие лимфоциты; указанные фракции вновь появляются в тимусе при внутривенной инъекции наименее плотных фракций костного мозга, содержащих претимоциты и, напротив, не появляются при инъекции более плотных фракций костного мозга, лишенных претимоцитов, но содержащих зрелые Т-лимфоциты [1187]; 3) при культивировании этих выделенных из тимуса бластов (через 8 дней после его локального облучения) на монослое эпителия тимуса они за 3 дня превращаются в малые кортикальные тимоциты, несущие соответствующие маркеры, в том числе TdT [330]. Таким образом, источником субкапсулярных бластов тимуса действительно являются циркулирующие претимоциты костного мозга; их проникновение в тимус сопряжено с быстрым возникновением новых свойств: реактивности к митогенам и чувствительности к низким (физиологическим) концентрациям кортизона.

Остается неясным, чем определяется избирательная тропность к тимусу претимоцитов костного мозга и селезенки и каковы механизмы регуляции этого процесса. Снижение числа тимоцитов (после облучения тимуса или введения гидрокортизона) приводит к усилению синтеза эпителиальными клетками тимуса гормонов, стимулирующих переход покоящихся ПТ костного мозга в пролиферативный пул, и их дифференцировке с последующим выходом из костного мозга [2128, 380]. Данные о периодичности за-

заселения претимоцитами эмбрионального тимуса птиц (в виде циклов с 5—6-дневными интервалами) косвенно указывают на выделение эпителием тимуса привлекающего клетки (хемотактического) фактора; это выделение тормозится при контакте эпителиальных клеток с проникшими претимоцитами [960].

Вместе с тем с помощью модели *in vitro* миграции ПТ мыши (клеток селезенки *pude* или тимэктомированных летально облученных мышей) было установлено, что привлекающий их фактор вырабатывается только самими активированными зрелыми (медуллярными) тимоцитами, но не Т-клетками селезенки [1553]. Не исключена возможность, что именно эта функция — секретиция хемотактического лимфокина — осуществляется зрелыми клетками *Ly1*, когда они первыми появляются в тимусе на 14-й день эмбрионального развития (гл. II. 4. 2. 2.).

Еще одна перспективная модель для изучения тропности претимоцитов к тимусу — заселение тимуса 10-дневного эмбриона лимфоидными клетками другого органа (желточного мешка, эмбриональной печени, костного мозга, тимуса 18-дневного эмбриона), которые проникают в тимус через поры (5 мкм) разделяющего их фильтра за 6 дней совместного культивирования [594]. Интересно, что, хотя нормальные зрелые Т-клетки в тимус не проникают, специфичные к антигену активированные Т-клетки после их повторного контакта с антигеном мигрируют в тимус и долго сохраняются в нем *in vivo* [1461]. Эти данные указывают на возможность двунаправленного потока лимфоидных клеток в тимусе иммунизированного животного.

II.3. Гуморальные медиаторы и дифференцировка предшественников Т-клеток *in vitro*

Описано несколько типов факторов, обеспечивающих дифференцировку ПТ костного мозга. По-видимому, наибольший вклад в эту дифференцировку вносят гормоны, которые вырабатываются эпителиальными клетками тимуса, но не других лимфоидных органов [1771]. Эти гормоны можно разделить на не гомологичные по первичной структуре молекулы четырех категорий (каждая из которых также неоднородна): тимозин (фракция 5), очищенный в виде 11 вариантов α -пептидов (25—30 остатков АК, М.м. 3000—3200) и β -пептидов (43—74 остатка АК, М.м. β_1 — 8450); тимопоэтины I и II (49 остатков АК, М.м. около 7000) с активной фракцией — пентапептидом TP-5 (остатки 32—36 тимопоэтина II—Arg—Lys—Glu—Val—Tyr); тимусный гуморальный фактор (THF) (М.м. 3220); тимостимулин (несколько активных фракций с М.м. от 5600 до 12 000). Помимо этих четырех категорий полипептидов, полученных из ткани тимуса [2096], из сыворотки крови содержащих тимус мышей выделен и очищен синтезированный эпителием тимуса «сывороточный тимусный фактор» (FTS) — нанопептид с молекулярной массой 900 Да [120].

Предполагается, что эти гормоны можно разделить по мень-

шей мере на две категории в зависимости от объектов их действия: дальнедистантные, т. е. действующие вне тимуса на этапе III, и короткодистантные, т. е. действующие внутри тимуса на этапе IV в соответствии с рис. 6 [687]. Оба эффекта — первый, описанный выше как феномен «обратной связи» между тимусом и ПТ костного мозга, и второй (экспрессия маркеров тимоцитов) — воспроизводятся при подсадке мышам nude (или неонатально тимэктомированным мышам) тимуса в непроницаемой для клеток диффузионной камере.

Хотя многие феномены, связанные с усилением иммунореактивности и восстановлением регуляции иммунитета, получены при введении тимусных гормонов *in vivo* [1148], для изучения механизмов и объектов их действия важно, что те же эффекты воспроизводятся *in vitro* — после 1—3 ч инкубации при 37°С с претимоцитами костного мозга или кортикальными (незрелыми) тимоцитами. При этом объекты действия разных категорий гормонов не вполне совпадают: по-видимому, β -пептиды тимозина действуют на наиболее ранний этап дифференцировки ПТ, способствуя экспрессии на них фермента TdT [2096]. Хотя α -пептид тимозина также индуцирует возникновение TdT в ПТ костного мозга [1244], этот фактор, так же как тимопоэтин и его пентапептид TP-5, индуцирует и более поздний этап дифференцировки — экспрессию на претимоцитах маркеров Т-клеток — антигенов Thy-1, TL (тимус-лейкемический антиген), Lyt-1, 2, 3 [687, 1058, 136]⁴. Индуцибельными в этом процессе являются 5—10% клеток костного мозга, в том числе мышей nude, а также клетки эмбриональной печени, которые за счет низкой плотности могут быть сконцентрированы в градиенте альбумина до 25—30% [1058].

Действие других факторов — TNF и тимостимулина — на незрелые PNA⁺ тимоциты связано с возникновением иммунокомпетентных Т-лимфоцитов (этап V, см. рис. 6), что проявляется как в изменении мембранных маркеров (уменьшение Thy-1 и увеличение H-2, исчезновение TL, разделение экспрессии Lyt-1 и Lyt-2, 3 на разных клетках), так и в появлении функциональных активностей (реакция на митогены и аллоантигены в MLC, способность превращаться *in vivo* в Т-хелперы и вызывать РТПХ).

По-видимому, FTS — наиболее универсальный фактор, способствующий дифференцировке ПТ *in vivo* [1542] и *in vitro*: 3 дней инкубации клеток селезенки nude с FTS достаточно не только для экспрессии фенотипа зрелых Т-лимфоцитов (Thy-1⁺, Lyt-1⁺2⁻), но и для возникновения важнейшей функции одного из Т-субклассов — секреции ИЛ-2 после стимуляции митогеном (Кон А) или форболовым эфиром (PMA) [1548]. Кроме того,

⁴ Замена в TP-5 лишь одной из пяти АК (Glu³⁴→Asp) приводит к образованию в селезенке иного пентапептида — спленопептина, который не только не влияет на дифференцировку ПТ, но подавляет дифференцировку зрелых Т-клеток [107].

индуцированные FTS Т-лимфоциты приобретают чувствительность к другому фактору — интерлейкину-3 (ИЛ-3) (который обеспечивает поддержание их роста в культуре), хотя в отличие от зрелых Т-клеток того же фенотипа они не способны этот фактор производить.

Как правило, дифференцировка претимоцитов под действием гормонов связана с активацией аденилатциклазы, что сопровождается увеличением внутриклеточного пула циклического аденозинмонофосфата (сАМР) и стимуляцией синтеза белка (процесс блокируется циклогексимидом), но не требует синтеза ДНК [1065]. Ведущая роль сАМР в этом процессе подтверждается тем, что такие же эффекты можно получить и без гормонов — при инкубации клеток с сАМР или его стимуляторами — двуспиральной РНК и эндотоксином. Однако при активации гормонами более поздних этапов дифференцировки в клетках растет пул циклического гуанозинмонофосфата (сGMP), а содержание сАМР падает [1778, 1992].

Из приведенных данных очевидно, что в костномозговых ПТ уже заложена вся программа их дифференцировки, которая реализуется быстро, в отсутствие клеточного деления, выражается прежде всего в реконструкции клеточной поверхности и является результатом специфического действия низкомолекулярных гормонов тимуса. Эти гормоны не влияют на дифференцировку В-лимфоцитов или оказывают такое влияние лишь в 100-кратной концентрации, способствуя экспрессии Ia-белков на их поверхности [775].

Однако гормоны тимуса — не единственный фактор дифференцировки тимоцитов. Те же эффекты на претимоциты костного мозга — индукция Thy-1 и TL-антигенов — наблюдаются после их более длительной инкубации (24—48 ч) с Т-митогенами (ФГА и Кон А), что сопровождается их трансформацией в бласты несколько дней спустя [1621]. Эти бласты действительно являются потомками претимоцитов, а не зрелых Т-клеток, поскольку они возникают из клеток, лишенных антигена Thy-1 (в том числе мышей nude) и несут не только Thy-1, но и TL-антиген, который никогда не экспрессирован на активированных митогенами зрелых Т-клетках селезенки (гл. II. 4. 2).

Экспрессия маркеров Т-клеток наблюдается на претимоцитах костного мозга мышей nude [450], обычных мышей [956] и человека [2098] после их культивирования без Т-митогенов — в кондиционированной среде, полученной после инкубации клеток селезенки с теми же митогенами. В этих случаях ИЛ-3, который секретируется зрелыми Т-клетками после их активации митогеном, прямо вызывает созревание ПТ в Т-лимфоциты, синтезирующие тот же ИЛ-3 спонтанно, т. е. без митогенов [786]. Эта особенность дифференцированных под влиянием ИЛ-3 Т-лимфоцитов, связанная также с возникновением рецепторов к ИЛ-3 на их поверхности [1551], обеспечивает их самоподдержание, что ведет к возникновению в культуре стабильной линии Т-клеток оп-

ределенного (хелперного) фенотипа (Thy-1⁺, Lyl-1⁺2⁻, Ia⁻, Ig⁻, TdT⁻, 20 α SDH⁺)⁵, рост которых не требует добавления ИЛ извне. Поскольку ИЛ-3 может синтезироваться зрелыми Т-клетками при их активации не только митогенами, но и антигенами [906], следует думать, что взаимодействия иммунных Т-клеток с антигеном, если оно происходит в костном мозге, достаточно для стимуляции дифференцировки претимоцитов. Способность миелоидных клеток костного мозга [629] и даже миеломоноцитарной опухоли WENI-3 [1158] секретировать ИЛ-3 означает, что дифференцировка претимоцитов может быть индуцирована в отсутствие тимуса и Т-клеток, что действительно наблюдается *in vivo* у зрелых «старых» мышей *nude*. Выраженная чувствительность претимоцитов к ИЛ-3, видимо, связана с экспрессией на их поверхности рецепторов к ИЛ-3, которые исчезают на кортикальных (PNA⁺) тимоцитах и не появляются на зрелых (PNA⁻) тимоцитах даже после их активации Кон А и экспрессии рецепторов к ИЛ-2 [1015a].

Очищенная молекула ИЛ-3 — единичная пептидная цепь с молекулярной массой 28 кДа — служит универсальным ростовым фактором для многих типов клеток костного мозга и фетальной печени [907], включая пре-В-клетки [1550], но не вызывает их дифференцировку.

Особенно быстро и надежно функции Т-клеток, в том числе способность генерировать ЦТЛ в МЛС, проявляются у претимоцитов костного мозга *nude* [1769] и обычных мышей [704] после их культивирования на «тимусном фидере» — фрагментах тимуса, обработанных трипсином, коллагеназой и ДНКазой и содержащих эпителиальные клетки — стабильный источник гормонов тимуса. В действительности в состав «тимусного фидера» могут входить не только эпителиальные клетки, но и макрофаги тимуса, которые, будучи очищенными от всех остальных клеточных элементов, способствуют возникновению тех же функциональных активностей не в претимоцитах, а в незрелых тимоцитах [160]. В этом случае дифференцировка претимоцитов на «тимусном фидере» может оказаться по меньшей мере двухэтапным процессом, имеющим разные объекты на каждом из этапов (см. след. раздел). Это предположение подтверждается тем, что надосадочная жидкость культур как макрофагов тимуса [159], так и его эпителиальных клеток [1092] вызывает дифференцировку незрелых тимоцитов за несколько дней культивирования. Фактор с молекулярной массой 50 кДа, ответственный за этот эффект, выделен из среды культуры тимусного эпителия [151].

⁵ 20 α SDH-20 α -гидроксистероиддегидрогеназа — фермент, который отсутствует у ПТ и экспрессируется только при их созревании (маркер дифференцировки кроветворных клеток).

II.4. Дифференцировка клеток внутри тимуса

II.4.1. Физико-химические свойства субпопуляций тимоцитов

Перемещение костномозговых ПТ мигрантов из субкапсулярной зоны тимуса в кортикальную и медуллярную зоны сопровождается двумя этапами дифференцировки — возникновением незрелых (кортикальных) и зрелых (медуллярных) тимоцитов, составляющих, как известно, соответственно 90% и около 10% клеток тимуса.

Кортикальные и медуллярные тимоциты различаются физическими свойствами, чувствительностью к различным агентам и воздействиям (табл. 16), а также антигенными маркерами клеточной мембраны (табл. 17) и поэтому могут быть легко отделены друг от друга. Кортикальные тимоциты — самые маленькие, плотные и хрупкие клетки тимуса, высоко чувствительные к низким дозам облучения, быстро разрушающиеся при введении препаратов кортизона [220], имеющие низкий заряд клеточной поверхности в связи с малым содержанием сialовых кислот [455]. С последним свойством связана способность большинства кортикальных тимоцитов реагировать с РНА за счет обнаженной на клеточной поверхности D-галактозы [1670].

Эти особенности кортикальных тимоцитов позволяют отделять их от медуллярных за счет высокой плотности в градиенте альбумина [1187], малой подвижности при электрофорезе клеток [455], агглютинации в присутствии РНА [391]. В последнем случае агглютинированные клетки отделяют от свободных тимоцитов с помощью спонтанного осаждения в градиенте плотности сыворотки, а последующее добавление D-галактозы вызывает диссоциацию агглютинатов и позволяет получить чистую фракцию кортикальных тимоцитов [1670]. Другие способы выделения кортикальных тимоцитов связаны с их контактом с РНА, фиксированном на эритроцитах [192], или с адсорбцией клеток, связавших РНА, антителами к РНА, фиксированными на сорбенте [921].

Важная особенность кортикальных тимоцитов — их интенсивная пролиферация и быстрая гибель внутри тимуса: в S-фазе находится 11—12% тимоцитов (по сравнению с 0,9% в селезенке и 0,3% в лимфоузлах) [1597], и большая часть лимфоцитов обновляется за 5—7 дней. Поскольку тимус покидают лишь 1% ($2 \cdot 10^6$) клеток за сутки [1813], очевидно, что около 95% тимоцитов разрушаются внутри тимуса каждую неделю. В этом смысле тимус — интенсивно работающая «фабрика обреченных». Также быстро кортикальные тимоциты погибают при их внутривенном введении сингенным животным: в отличие от медуллярных тимоцитов и других лимфоидных клеток, мигрирующих преимущественно в лимфоузлы («инстинкт дома»), большая часть кортикальных тимоцитов мигрирует в селезенку, затем перераспределяется в печень и быстро разрушается [1788]. Механизмом этой гибели, по-видимому, является реакция мембранного липопротеида гепатоцитов на остатки D-галактозы [99], обнаженные на поверхности только кортикальных тимоцитов.

Таблица 16

Свойства кортикальных (К) и медуллярных (М) тимоцитов

Свойства	К	М
Объем	90 мкм ³	125 мкм ³
Чувствительность к кортизону	Есть	Нет
Плавучая плотность	Высокая	Низкая
Заряд и содержание сialовых кислот	Низкое	Высокое
Миграция	Селезенка и печень	Лимфоузлы
Реактивность к		
ФГА	—	+
Кон А	+	++
PNA	+++	—
Функции		
лЦТЛ	+	++
хелперы/амплифайеры	—	++

Кортикальные тимоциты, в свою очередь, не однородны. Их можно разделить по меньшей мере на четыре фракции (рис. 7) и отделить одну от другой по различиям плавучей плотности в линейном градиенте фикола и интенсивности синтеза ДНК [135].

Из табл. 16 следует, что медуллярные тимоциты отличаются от кортикальных большим диаметром, низкой плавучей плотностью в градиенте альбумина, резистентностью к кортизону и большой электрофоретической подвижностью за счет высокого отрицательного заряда поверхности, связанного с высоким содержанием сialовых кислот [455]. Кортикальные и медуллярные тимоциты так же четко различаются по чувствительности к условиям культивирования: малые и «плотные» клетки, несущие маркеры кортикальных тимоцитов, полностью разрушаются за 70 ч культивирования в условиях полного выживания и даже увеличения в количестве больших клеток тимуса с маркерами медуллярных тимоцитов [876].

II.4.2. Антигенные маркеры субпопуляций тимоцитов

Объективным критерием каждого этапа дифференцировки клеток внутри тимуса является возникновение и (или) количественное изменение экспрессии определенных антигенных маркеров на клеточной поверхности тимоцитов. За последние годы множество таких гликопротеидов было идентифицировано с помощью обычных антител и МкАТ на тимоцитах мышей, крыс и человека, часть их очищена и охарактеризована и даже получены данные о функциональной активности некоторых из них.

Маркеры клеток тимуса можно разделить на два типа: 1) возникшие в костном мозге на СКК или ПТ (см. табл. 14), представленных на «ранних» тимоцитах — клетках субкапсулярной

Таблица 17. Антигенные маркеры кортикальных и медуллярных тимоцитов мыши, крысы и человека, возникающие в тимусе *

Маркер		Источник	Локализация на тимocyтax **			М. м., кДа
особенность экспрессии	обозначение		кортикальных	медуллярных	всех	
Экспрессия на всех Т-клетках уменьшается при их созревании	Thy-1	Мышь	++	+	(98)	18,7
	W3/13	Крыса	++	+	(ок. 100)	95
	T11 _{1,2,3} /Leu5	Человек	++	+	(ок. 100)	50
	ThB → → [Ly6] ^{*3} [T30]	Мышь	++ (60) ± (единич- ные клетки)	— +	(11,4)	16 33,5 25
	TL → Qa-2 T6(HTA-1) ^{*4} TL → —TQ1	Мышь	++ — ++ (70) —	— + — +	(5—10) (7)	45+12 (β ₂ M) 40+12 (β ₂ M) 49+12 (β ₂ M) 43+12 (β ₂ M)
Увеличение экспрессии при созревании (функциональные маркеры)	RBMLA → —RMTA ^{*5} Lyt-1,2,3 Lyt-1 [Lyt-2] ^{*3} [Lyt-3] L3T4	Крыса	— — + (90) + (4—5) + (4—5)	— + + (50) + (45) + (2)	(95) (83)	67 34+38 ^{*6} 30
	T4/Leu3 T5/T8, 8A/ [Leu2a] ^{*3} [Leu2b]	Человек	— + (80) + (70) + (70)	— + + +	(87) (75—78) (75)	52 55 31+33 ^{*6} 31+33
	MRC OX19 W3/25 MRC OX8	Крыса	— + —	— + —	(ок. 100) (90) (90)	69 53 35+39
	T1/Leu1 T3/Leu4	Человек	— + (10) —	— + —	(20) (10)	67—69 20+20+25 ^{*7}

* ThB и RBMLA возникают в костном мозге (см. табл. 14).
 ** Данные в редуцирующих условиях при мембранной метке ¹²⁵I с лактопероксидазой; при биосинтетической метке (³⁵S-метионин) субъединицы — 28 кДа и 32 или 37 кДа.
 *³ Маскированный антиген тимоцитов.
 *⁴ Маскированный антиген тимоцитов.
 *⁵ Данные в редуцирующих условиях при мембранной метке ¹²⁵I с лактопероксидазой; при биосинтетической метке (³⁵S-метионин) субъединицы — 28 кДа и 32 или 37 кДа.
 *⁶ Субъединицы сцеплены нековалентно.
 *⁷ Субъединицы сцеплены нековалентно.

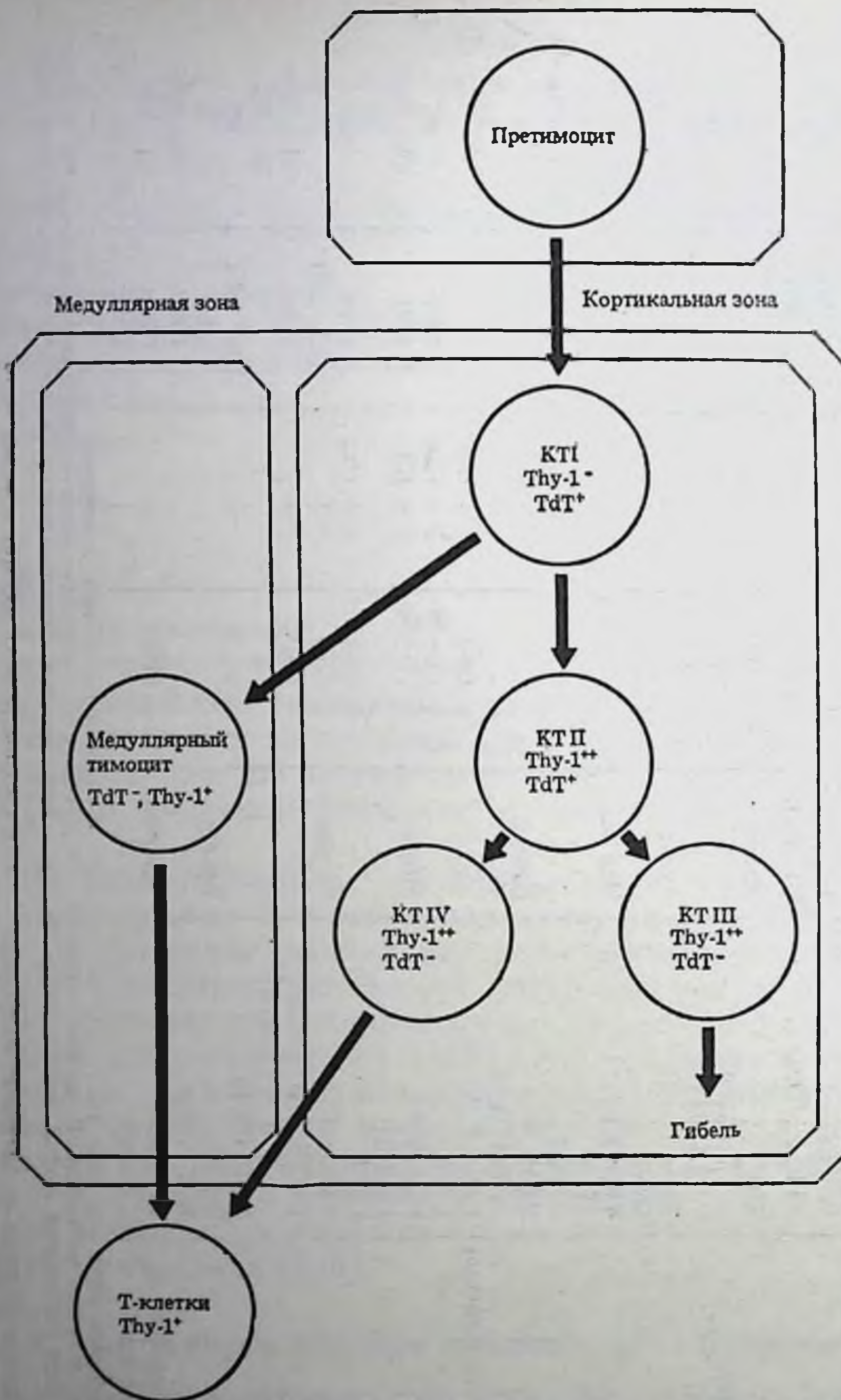


Рис. 7. Дифференцировка клеток в тимусе (по: [135])
 Фракции кортикальных тимоцитов (КТ):
 I — расположены под капсулой 3—5% КТ с низкой плотностью и интенсивным включением ^3H -тимидина;
 II — 65% КТ с промежуточной плотностью и средней интенсивностью включения ^3H -тимидина;
 III — терминальные клетки, погибающие в тимусе, с высокой плотностью и слабым включением ^3H -тимидина;
 IV — созревающие тимоциты с низкой плотностью и интенсивным включением ^3H -тимидина

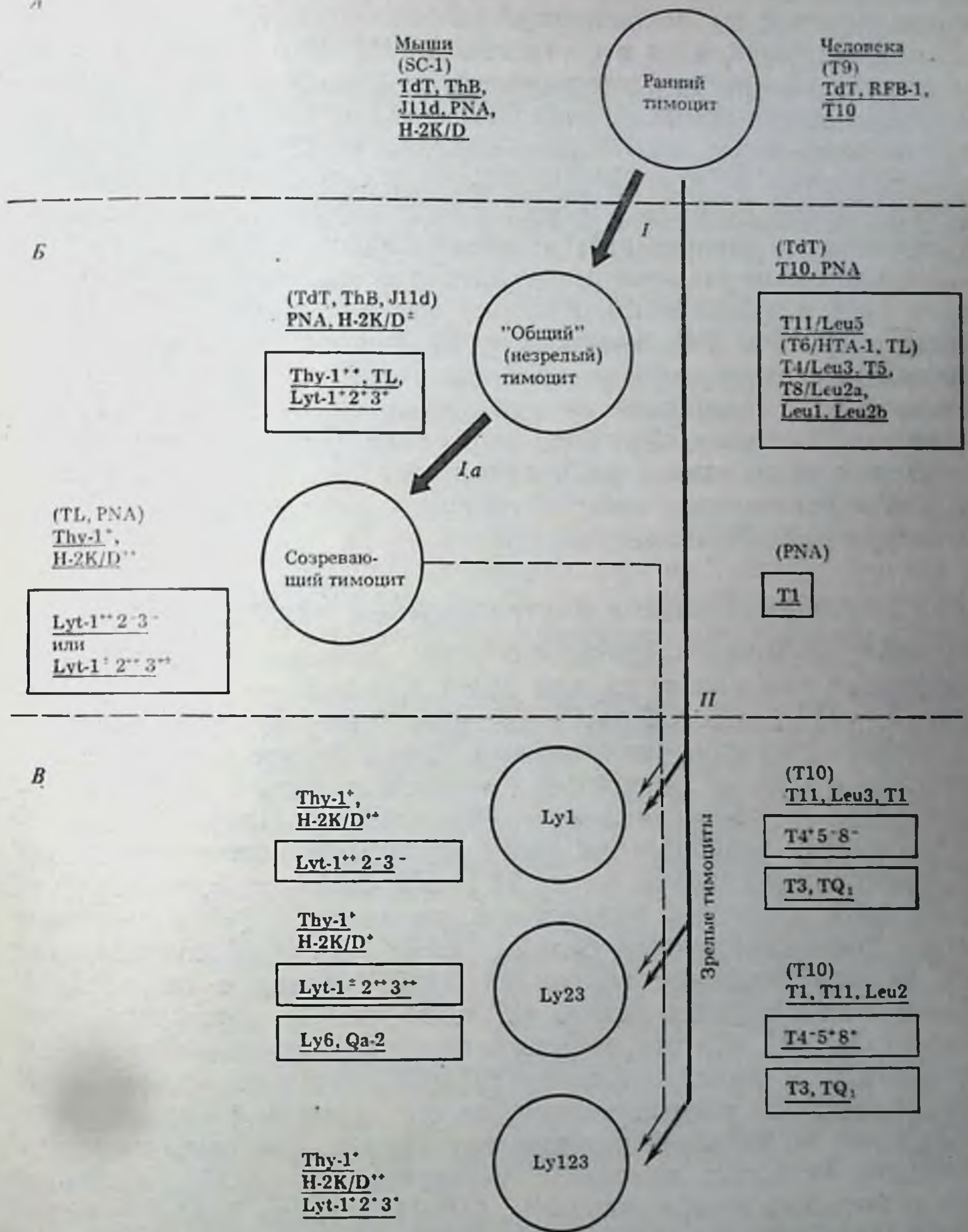


Рис. 8. Этапы дифференцировки (I, Ia, II) клеток в тимусе

А — субкапсулярная, Б — кортикальная и В — медуллярная зоны тимуса. В скобках — маркер, исчезающий, подчеркнут — маркер, сохраняющийся на следующем этапе. Заключен в квадрат маркер (или комбинация маркеров), возникающий на данном этапе. (±), (+), (++) — количественная экспрессия маркера на клетках; пунктирные стрелки — дифференцировка не доказана

зоны (рис. 8) — и быстро исчезающие в ходе внутритимусной дифференцировки; 2) возникающие только при дифференцировке клеток в тимусе, хотя в отсутствие последнего (у мышей nude) они могут возникать и вне тимуса⁶. По характеру распределения маркеры второго типа делятся на несколько категорий (табл. 17): а) универсальные для Т-клеток, позволяющие отличать их от других клеток; б) исчезающие в кортикальном тимусе и заменяемые на новый маркер в медуллярном тимусе (внутритимусное переключение экспрессии); в) увеличивающие свою экспрессию как при созревании клеток в тимусе, так и при выходе их из тимуса (эти маркеры обычно важны для функциональной активности различных Т-субклассов); г) возникающие в тимусе мышей на позднем этапе дифференцировки и поэтому представленные в малой доле (наиболее зрелых) тимоцитов, но на всех периферических Т-клетках. Маркеры еще одной (наименее изученной) категории, представленные в малой доле не только тимоцитов, но и периферических Т-клеток, обычно характеризуют узкоспецифическую субпопуляцию.

II.4.2.1. Универсальные и внутритимусные маркеры тимоцитов

Из табл. 17 можно видеть, что универсальными Т-клеточными маркерами для мышей служат Thy-1, для крыс — W3/13, для человека — T11/Leu 5. Общим свойством этих маркеров является их раннее возникновение в эмбриональном тимусе и количественное уменьшение их экспрессии в ходе созревания Т-клеток (кортикальные → медуллярные → периферические). Наиболее детально изученный гликопротеид Thy-1 кодируется геном хромосомы IX, имеет молекулярную массу 18,7 кДа, 32% которой приходится на долю углеводов (манноза и глюкозамин) [314], и не является трансмембранным белком [2237]. Он обильно представлен на кортикальных тимоцитах ($4 \cdot 10^5$ молекул на клетку) [1155] в менее зрелой форме (27 кДа), чем на периферических Т-клетках, хотя оба эти варианта несут идентичные антигенные детерминанты, выявляемые МкАТ [1864]. Одна из особенностей Thy-1 — высокая степень гомологии его первичной структуры и совпадение по антигенным детерминантам с некоторыми «посторонними» белками: доменами V-участка Ig [2237], включая идиотипические детерминанты V_x [1601], а также белками цитоскелета (актином, виментином) [421]. Наиболее существенно, что Thy-1 служит самым ранним маркером Т-клеток в онтогенезе: он возникает на клетках тимуса на 13—14-й день эмбриогенеза, т. е. через 2—3 дня после их проникновения в тимус из эмбриональной печени [2129]. Хотя природа сигнала, индуцирую-

⁶ Маркер 3-го типа — гликопротеид с молекулярной массой 225 кДа, названный «макромолекулярный нерастворимый холодовой глобулин», — экспрессируется на всех Т-клетках и их предшественниках независимо от этапов их дифференцировки. Он выявляется на СКК, претимоцитах эмбриональной печени (10—15% клеток на 11-й день эмбрионального периода), клетках тимуса и периферических Т-лимфоцитах [145].

щего возникновение Thy-1, остается неизвестной, очевидно, что он появляется на поверхности клеток до их массовой пролиферации, которая начинается в тимусе не ранее 17-го дня эмбрионального развития.

Два аллельных варианта этого антигена — Thy-1.2 (у большинства линий мышей) и Thy-1.1 (у мышей AKR), будучи идентичными по химической структуре, экспрессированы на клетках по-разному: в отличие от антигена Thy-1.2 антиген Thy-1.1 обнаружен не только на Т-лимфоцитах мышей, но и на СКК, а также на части других кроветворных клеток и их предшественников (в том числе предшественников В-клеток), выявляясь на 30—40% клеток костного мозга крыс [685] и мышей [139]. В последнем случае количественная экспрессия антигена Thy-1.1 очень низка, так что он может быть выявлен только с помощью МкАТ и высокочувствительного теста.

Универсальный маркер Т-клеток крыс (W3/13) представляет особый интерес, поскольку 60% его молекулярной массы (95 кДа) составляют углеводы, отличающиеся от углеводов Thy-1 мыши, — нейраминовая кислота, галактоза и галактозамин [422]. Особенность универсальных маркеров Т-клеток человека T11_{1,2,3} состоит в том, что три детерминанты одной молекулы (50 кДа) ответственны за разные функции: T11₁ функционирует как рецептор к эритроцитам барана (тест на Т-клетки человека), тогда как T11₂ и T11₃, возникающие в эмбриогенезе после T11₁, по-видимому, обеспечивают последующую пролиферацию тимоцитов [1667].

В отличие от универсальных маркеров, на части тимоцитов выявляются антигены, которые исчезают на определенных этапах их дифференцировки внутри тимуса. В частности, из описанных выше (см. табл. 14) маркеров претимоцитов человека белки T10 (45 кДа) и T9 (190 кДа) меняют свою экспрессию по-разному: T10 представлен на всех тимоцитах, в том числе медуллярных, а T9 — только на «ранних», наименее зрелых больших тимоцитах (составляющих 10% клеток тимуса), быстро исчезая при их дифференцировке внутри тимуса (см. рис. 8). При дальнейшем созревании и выходе Т-клеток из тимуса оба эти антигена могут быть выявлены не более чем на 2% Т-клеток, но вновь экспрессируются на Т-блестах, индуцированных митогенами [1661]. Особенно обильно представлен на мембране Т-бластов антиген T9, состоящий из двух сцепленных —S—S— мостиком субъединиц по 94 кДа, выполняющих функцию рецептора к трансферрину [1996].

Быстрая реэкспрессия антигена T9 на поверхности активированных клеток связана не с синтезом его *de novo*, а с его сохранением внутри мембраны малых (покоящихся) Т-лимфоцитов и изменением его внутримембранной ориентации при активации клеток: такую же реэкспрессию антигена T9 можно вызвать на поверхности малых тимоцитов в результате перестройки их мембраны после обработки клеток антителами к маркеру T6, присутствующему на их поверхности [1384].

Другая категория маркеров тимоцитов, общих с претимоцитами и предшественниками кроветворных клеток костного мозга, — это те, исчезновение которых при созревании тимоцитов в кортикальной зоне сопровождается возникновением альтернатив-

ного маркера на зрелых тимоцитах. У мышей типичным маркером такого типа является ThV (см. табл. 14), который, по-видимому, заменяется антигеном Lyb, экспрессированным главным образом на медуллярных тимоцитах (см. табл. 17 и рис. 8). Эти два антигена четко различаются по молекулярной массе [1305] (см. табл. 17), локализации на неидентичных тимоцитах и клетках селезенки, присутствию Lyb, в отличие от ThV, в печени, почке, мозге в двух аллельных вариантах (Lyb.1 и Lyb.2). Тем не менее экспрессия этих двух белков находится, по-видимому, под единым генетическим контролем: высокая плотность обоих антигенов на клеточной поверхности сцеплена с экспрессией аллеля Lyb.2 [504]; кроме того, гены, кодирующие эти два, а также еще восемь белков (в том числе β_2M , входящий в состав молекулы МНС класса I), настолько тесно сцеплены в одном «локусе Lyb» II хромосомы, что они не сегрегируют при множественных возвратных скрещиваниях мышей линий, различающихся экспрессией этих белков [2030, 1339].

Продукты указанного семейства генов экспрессируются преимущественно на активированных эффекторных Т-лимфоцитах, Т-, В-бластах и антителообразующих клетках (АОК), хотя некоторые из них — Lyb, H9/25, T30 — выявляются на медуллярных тимоцитах, причем молекулы Lyb и T30 сцеплены на клеточной мембране (см. табл. 17).

Предполагается, что переключение экспрессии ThV на Lyb при созревании тимоцитов связано с высокой степенью гликозилирования (если ген Lyb кодирует гликозил-трансферазу) — процесс, который сопровождается экранированием рецептора к РНА и увеличением заряда клеточной поверхности, что является сигналом для выхода клеток из тимуса [504, 1218]. Сходное явление описано для тимуса крысы: смена общего маркера претимоцитов и кортикальных тимоцитов RBMLA (см. табл. 14) на маркер медуллярных тимоцитов RMTA (см. табл. 17), который экспрессирован на поверхности большинства периферических Т-лимфоцитов, а на медуллярных тимоцитах выявляется лишь после их обработки нейраминидазой, а также при спонтанном созревании *in vitro* или выходе из тимуса [683].

В отличие от описанных выше антигенов, общих для тимоцитов и предшественников кроветворных клеток костного мозга, специфические для тимоцитов маркеры мыши и человека возникают только в тимусе и характеризуют определенные этапы внутритимусной дифференцировки. Наиболее известный маркер такого типа — TL-антиген мыши — продукт МНС класса I (локус Tla, см. рис. 1), представленный у разных (но не у всех) линий мышей в виде одного из четырех аллельных вариантов. Экспрессия TL-антигена одновременно с Thy-1 антигеном на клетках тимуса отражает начальный этап внутритимусной дифференцировки претимоцитов, мигрирующих как из костного мозга взрослых, так и из печени эмбрионов [2129]. TL-антиген синтезируется лишь в малой доле (больших наименее зрелых) клеток кортикальной зоны, сохраняясь на мембране их потомков — малых тимоцитов

той же зоны тимуса. Поскольку другие антигены тех же тимоцитов (Thy-1, Lyt-1, 2, 3, см. ниже), в отличие от TL-антигена, синтезируются во всех клетках кортикальной зоны, именно синтез TL-антигена служит уникальным свойством самого раннего этапа внутритимусной дифференцировки [1731].

Подобно паре альтернативных маркеров ThV и Ly6, TL-антиген — один из гликопротеидов класса I МНС, высокомолекулярный продукт Qa-1-5 семейства сцепленных генов Tla-локуса МНС (см. рис. 1) — не только не сосуществует с Qa-антигенами на клеточной поверхности, но, по-видимому, заменяется ими при созревании Т-клеток: исчезновение TL-антигена сочетается с возникновением антигена Qa-2 на медуллярных тимоцитах, а также антигенов Qa-1, 3, 4, 5 на периферических Т-лимфоцитах [773]. При этом TL- и Qa-антигены действительно являются не альтернативными производными одной молекулы, а независимыми продуктами разных, но тесно сцепленных генов: они различаются как по молекулярной массе и первичной структуре молекулы, так и по ее посттрансляционным модификациям [1730, 1355].

Сходные события наблюдаются в тимусе человека: два аналога TL-антигена мыши — TL-антиген человека и антиген Т6 (ранее обозначенный НТА-1, см. табл. 17) — представлены на 70—80% тимоцитов и состоят из двух субъединиц — тяжелой и легкой ($\beta_2\text{M}$). Тяжелые цепи, выявляемые МкАТ в молекулах TL и Т6, имеют молекулярную массу соответственно 43 [1049] и 49 кДа [2061]. Оба эти маркера кортикальных тимоцитов человека четко отличаются по серологическим свойствам не только один от другого и от антигенов HLA-A, В, С (каждый из них осаждается соответствующим МкАТ), но и от маркера TQ1, который, по-видимому, заменяет их в медуллярном тимусе (см. табл. 17), экспрессируясь также на части периферических Т-клеток [1665]. Оказалось, что только несущие TQ1 Т-лимфоциты пролиферируют при реакции на аутологичные Ia-белки — активность, которая приобретается тимоцитами мыши также только при их созревании в медуллярной зоне и весьма существенна для их регуляторной функции в иммунитете (гл. II. 4. 4. и II. 4. 5).

II.4.2.2. Функциональные маркеры зрелых Т-клеток в тимусе

Наиболее детально изучена третья группа маркеров, экспрессия которых (в расчете на клетку) возрастает в ходе созревания клеток в тимусе (см. табл. 17 и рис. 8). Четыре маркера мыши такого типа — Lyt-1, Lyt-2, Lyt-3 и L3T4 — возникают в кортикальном тимусе на большинстве мигрирующих из костного мозга претимоцитов одновременно или вскоре после экспрессии антигенов Thy-1 и TL, т. е. около 90% кортикальных тимоцитов имеют фенотип Lyt-1, 2, 3 (клетки Ly123) и почти все они несут антиген L3T4. При созревании тимоцитов в медуллярной зоне наблюдается частичное разделение локализации маркеров: доля клеток Ly123 снижается вдвое, сильно возрастает доля клеток Ly1 (с феноти-

Таблица 18

Зависимость свойств тимоцитов мыши от распределения Lyt-антигенов

Маркеры и свойства	Категория тимоцитов		
	Ly1(Lyt-1 ⁺⁺ 2 ⁻ 3 ⁻)	Ly2(Lyt-1 [±] 2 ⁺ 3 ⁺)	Ly123(Lyt-1 ⁺ 2 ⁺ 3 ⁺)
Рецептор к PNA	Нет	Есть	Есть
Плотность *	Низкая	Высокая	Высокая
Диаметр, мкм	9,5—10	6—8	6—8
Чувствительность к кортизону	КР	КЧ	КЧ
Концентрация антигенов			
Lyt-1	Высокая	Очень низкая	Низкая
Thy-1	Низкая	Высокая	Высокая
H-2	Высокая	Низкая	Низкая
TL ⁺ , % клеток	5	4—5	69—95
День возникновения в эмбриогенезе	14	16	17

- Плавающая плотность в линейном градиенте альбумина.
 КР — кортизонрезистентные; КЧ — кортизончувствительные.

пом Lyt-1⁺⁺2⁻3⁻) и возникают клетки (около 10% всех тимоцитов), несущие антиген L3T4, но лишенные антигена Lyt-2. Лишь малую долю (не более 5% тимоцитов) составляют клетки Ly2 (с фенотипом Lyt-1[±], L3T4⁻, Lyt-2⁺3⁺) [316, 334].

Разделение трех типов тимоцитов (Ly1, Ly2 и Ly123) с помощью МкАТ и флуоресцентного сортера подтвердило предположение о том, что клетки Ly123 — наименее зрелые, а Ly1 и Ly2 представляют собой разные направления дифференцировки, причем наиболее зрелой популяцией являются клетки Ly1. Это следует из сопоставления их физических свойств, количественного изменения экспрессии Lyt-антигенов, соотношения их с другими маркерами и изучения функциональных активностей. Из табл. 18 видно, что клетки Ly1 отличаются от других тимоцитов отсутствием рецептора к PNA, низкой плавучей плотностью, большим диаметром, высокой резистентностью к кортизону [2128, 2129]. Хотя антиген Lyt-1 выявляется почти на всех клетках тимуса (за исключением субкапсулярных претимоцитов с фенотипом Thy-1⁻, TL⁻, Lyt⁻), его концентрация на мембране варьирует так сильно, что анти-Lyt-1 антитела, адсорбируясь на клетках Ly2, не могут их убить в присутствии комплемента ввиду низкой концентрации Lyt-1. Увеличение концентрации Lyt-1 четко коррелирует с уменьшением концентрации антигена Thy-1 и увеличением концентрации антигена H-2 на мембране тех же клеток [1155].

Совокупность приведенных данных указывает на высокую зрелость тимоцитов Ly1, содержащих также антиген L3T4 и локализованных преимущественно в медуллярной зоне. Тем не менее из табл. 18 видно, что среди кортикальных тимоцитов (TL⁺)

можно выявить малую долю (4—5%) клеток Ly1 или Ly2 [1035], что, по-видимому, отражает их частичное созревание в кортикальной зоне (см. след. раздел). Обнаружение двух аллельных вариантов каждого из *Lyt*-генов (*Lyt*-1.1 и *Lyt*-1.2; *Lyt*-2.1 и *Lyt*-2.2; *Lyt*-3.1 и *Lyt*-3.2) позволило получить МкАТ к продуктам этих генов путем реципрокной иммунизации мышей линий, различающихся их аллелями, а с помощью таких антител — очистить белки и изучить их свойства.

В отличие от гликопротеида *Lyt*-1 (одна цепь 67 кДа, кодируемая локусом хромосомы XIX) гликопротеиды *Lyt*-2 и *Lyt*-3 представляют собой сцепленные —S—S— мостиками на плазматической мембране ди- и тетра- или гексамеры (гомо- и гетерологичные), которые кодируются локусом хромосомы VI и в редуцирующих условиях включают три типа меченных ^{125}I молекул — 34, 38 (антиген *Lyt*-2) и 30 кДа (антиген *Lyt*-3) [1157]⁷.

В связи с различием в структуре между молекулами *Lyt*-1 и комплексом *Lyt*-2/3 только первые под действием добавленных извне МкАТ формируют на мембране агрегаты (patching) и скапливаются на одном полюсе клетки (capping); у молекул *Lyt*-2/3 эти процессы наблюдаются лишь в случае одновременной обработки клеток антителами к обоим маркерам и при условии, что эти два типа молекул не были предварительно разобщены на мембране за счет разрыва —S—S— связи [879]. Хотя они ковалентно сцеплены, их локализация и связь с мембраной не идентичны: при мягкой обработке клеток трипсином они не только разъединяются, но в отличие от антигена *Lyt*-2, 80% которого сохраняется на мембране, молекулы *Lyt*-3 слущиваются [1157].

Функциональное значение антигенов *Lyt*-1, 2, 3 мыши вытекает из консервативности не только их функции и локализации в клетках, но и химической структуры, полностью воспроизведенных у крысы и человека (см. табл. 17 и рис. 8). Аналогами молекулы *Lyt*-1 являются антигены крысы MRC OX19 [1296] и человека T1 [2123] и Leu1 [528], выявляемые с помощью разных МкАТ и имеющие сходную с *Lyt*-1 молекулярную массу (67—69 кДа).

Аналогами молекул T4/Leu3 человека (55 кДа) являются антигены W3/25 крысы (53 кДа) [261] и L3T4 мыши (52 кДа) [467]. Антигены *Lyt*-2 мыши, OX8 крысы и T5/T8/Leu2a человека также сходны по химической структуре и молекулярной массе ковалентно сцепленных субъединиц, а *Lyt*-3 мыши и Leu2b человека идентичны даже по высокой чувствительности к трипсину и характеру экспрессии на мембране [1156].

Особенно поразительно общее свойство генов *Lyt*-2, 3 мыши и их аналогов T8/Leu2a, b человека: все эти гены прочно сцеплены с одним и тем же геном L-цепи Ig, хотя последний локализован в разных хромосомах мыши и человека — соответственно VI [710] и II [1987]. Тем не менее аллельное исключение, характер-

⁷ Варианты молекул *Lyt* 2/3 (32, 35, 38 кДа) связаны с разной степенью гликозилирования гомогенной молекулы (31 кДа), происходящего в течение 30 мин после ее синтеза [1732].

ное для генов Ig, не проявляется в отношении генов *Lyt-2/3* у гибрида F_1 , экспрессирующего различные аллели этих генов каждого из родителей [1157]. Смысл сцепления генов *Lyt-2/3* и цепи Ig остается непонятным.

Подобно антигенам *L3T4* и *Lyt-2* мыши, антигены *T4* и *T8* человека экспрессированы почти на всех кортикальных тимоцитах, но разъединяются при их созревании в медуллярной зоне тимуса (см. рис. 8), где одни клетки несут маркер *T4*, а другие — *T8* [1661]. Это разделение маркеров при созревании тимоцитов не случайно, поскольку после выхода из тимуса клетки с фенотипами $T4^+T8^-$ (аналог клеток *Ly1* (*L3T4*⁺) мыши) и $T4^-T8^+$ (аналог клеток *Ly2* мыши) выполняют неидентичные функции — соответственно хелперов/индукторов и киллеров/супрессоров (гл. III.2.2).

Разделение экспрессии маркеров этих двух типов в зрелых тимоцитах сочетается с возникновением гликопротеида *T3* (из трех нековалентно сцепленных субъединиц 20, 20 и 25 кДа) [238], выявляемого только на медуллярных тимоцитах и на всех периферических Т-клетках человека [1661, 2123, 1662]. Этот маркер отличается от остальных мембранных гликопротеинов Т-лимфоцитов быстрым (в течение 1 ч при 37°C) формированием «кэпа» и слущиванием с мембраны после обработки клеток соответствующими *МкАТ* [1664]. Экспрессия антигена *T3* на мембране Т-клеток оказалась исключительно важной для реализации их функций (гл. V.5.4).

В тимусе мыши идентифицирована *МкАТ* еще одна группа маркеров, которые выявляются либо в малом количестве, либо на малой доле тимоцитов (от 5 до 30%), но на большой доле периферических Т- и В-лимфоцитов и обычно представлены у мышей разных линий в виде продукта одного из двух альтернативных аллелей. К числу таких маркеров относятся *Ly7* [1618], *Ly11*, *Ly15* [1619], *Ly22* [1340]. Ген одного из них (*Ly11*) входит в «локус *Ly6*» II хромосомы (т. е. сцеплен с генами *Ly6*, *ThB*, β_2M и др.) [1339], а его продукт оказался мишенью для вируса радиационной лейкемии (*Rad LV*): доля *Ly11*⁺ клеток в тимусе возрастает от 5 до 45% уже через неделю после введения этого вируса мыши.

II.4.3. Этапы и критерии дифференцировки клеток в тимусе

Из приведенных данных следует, во-первых, что свойства клеток тимуса определяются условиями микроокружения данной зоны тимуса, а их дифференцировка является результатом перемещения из одной зоны в другую. Во-вторых, в кортикальной зоне, где клетки интенсивно пролиферируют, массовая их гибель, приводящая к замещению 95% тимоцитов за 5—7 дней, сочетается не только с исчезновением старых маркеров, но и с возникновением множества новых. В-третьих, приобретение медуллярными тимоцитами всех важнейших для иммунитета функций Т-клеток сочетается со следующими основными изменениями их фенотипа по сравнению с кортикальными тимоцитами у мышей: исчезновением *TL*-антигена и рецептора к РНА, уменьшением количества *Thy-1*, увеличением и стабилизацией экспрессии *H-2K/D*, разобщением экспрессии на клетках *L3T4* (так же как *Lyt-1* в высо-

кой концентрации) и Lyt-2,3 и приобретением Ly6 и Qa-2 (см. рис. 8).

В связи с этими фактами возникают вопросы: 1) отражают ли кортикальные и медуллярные тимоциты последовательные или независимые линии дифференцировки; 2) связано ли возникновение в кортикальной зоне каких-либо функций Т-клеток с их пролиферацией и изменением экспрессии мембранных маркеров; 3) каковы те условия в каждой из зон тимуса, которые определяют функциональную дифференцировку тимоцитов; 4) почему большая часть кортикальных тимоцитов быстро погибает внутри тимуса и каково функциональное значение этого феномена; 5) являются ли источником зрелых периферических Т-клеток мигрирующие из тимуса медуллярные тимоциты или также и часть кортикальных тимоцитов.

Хотя эти вопросы интенсивно изучаются в последние годы, однозначных ответов на них нет. Тем не менее на рис. 8 изображена модель, из которой следует, что две основные популяции тимоцитов — кортикальные и медуллярные — дифференцируются независимо одна от другой. На такую возможность указывают приведенные выше данные о неоднородности их предшественников — претимоцитов костного мозга (TdT⁺ и TdT⁻) (см. рис. 6), о независимой кинетике включения ³H-тимидина в эти две популяции, разделенные за счет различия в содержании антигена Thy-1 [1859], о независимости возникновения тимоцитов со зрелым фенотипом (Ly1 и Ly2) от активно пролиферирующих незрелых тимоцитов (Ly123) — как в эмбриогенезе, так и в тимусе взрослых мышей.

Последний факт особенно важен для понимания связи между пролиферацией и дифференцировкой в кортикальной зоне. При изучении последовательности экспрессии Lyt-маркеров в тимусе эмбриона оказалось, что первым из них (на 14-й день) возникает антиген Lyt-1 — на малой доле Thy-1⁺ клеток; возрастание его экспрессии на 16-й день сочетается с возникновением антигена Lyt-2 на других клетках тимуса; и только после 17-го дня, когда наступает массовая пролиферация тимоцитов, возникают наименее зрелые тимоциты [1303, 2129].

Таким образом, зрелые тимоциты Ly1 и Ly2 возникают в эмбриогенезе неодновременно, независимо друг от друга при слабой пролиферации и вовсе не являются потомками незрелых клеток Ly 123, возникновение которых сопряжено с высокой пролиферативной активностью их предшественников (Thy-1⁺, Lyt⁻, L3T4⁻), обусловленной, возможно, экспрессией рецепторов к ИЛ-2 на 50% тимоцитов 15-дневного эмбриона со снижением их доли до 2—3% у новорожденных [757]. По-видимому, сходный процесс происходит в кортикальной зоне тимуса взрослых латентно облученных мышей: уже через несколько часов после их защиты костным мозгом в тимусе реципиента, несмотря на отсутствие пролиферации клеток, обнаруживаются клетки Ly1 и Ly2 — потомки костномозговых мигрантов [1179]. Эти данные

означают, что в кортикальной зоне тимуса происходят по меньшей мере два независимых процесса: бурная пролиферация, дифференцировка и гибель одних клеток (незрелых, короткоживущих, хрупких Ly123) и созревание других — иммунокомпетентных Ly1 и Ly2.

Предшественниками первой категории клеток, возможно, служит та часть костномозговых мигрантов-бластов субкапсулярной зоны тимуса, которые, будучи лишены тимоцитарных маркеров (Thy-1⁻, Lyt-1-2⁻, L3T4⁻), тем не менее экспрессируют на своей поверхности рецептор к ИЛ-2, отсутствующий на большинстве кортикальных тимоцитов, несущих все указанные маркеры [335]. Именно эта особенность предшественников может послужить механизмом их бурной пролиферации в кортикальной зоне.

Воспроизведение указанных процессов *in vitro* — в длительных культурах эмбрионального тимуса — не является полноценным. Доля клеток Thy-1⁻ и Lyt-1⁻ существенно выше, а клеток Lyt-1⁺2⁺ — ниже в культуре, чем в самом тимусе, хотя зрелые клетки Ly1 и Ly2 хорошо образуются (и функционируют) *in vitro* [2129]. Таким образом, в культурах тимуса дефектны только те этапы внутритимусной дифференцировки, которые требуют активной пролиферации и сопровождаются возникновением наименее зрелых тимоцитов.

Не исключена, однако, возможность, что источником медуллярных тимоцитов, помимо ранних тимоцитов-предшественников, могут служить если не все кортикальные тимоциты, то по меньшей мере их часть, как это показано на рис. 8. Действительно, кортикальные тимоциты Ly123, отделенные от медуллярных по способности связывать PNA [921, 1092, 2160, 789] или по высокой плотности в ступенчатом градиенте альбумина [902] и культивированные *in vitro* в присутствии содержащих антиген клеток-стимуляторов и ИЛ-2 (или эпителия тимуса), приобретают фенотип и функциональные активности зрелых Т-клеток. Изменения фенотипа проявляются в уменьшении количества Thy-1, увеличении количества H-2, исчезновении антигена Lyt-1 (возникают клетки типа Ly2). Одновременно эти тимоциты приобретают способность пролиферировать в реакции на ФГА и аллоантигены в MLC, а также генерировать ЦТЛ любой специфичности в зависимости от того, какой антиген представлен на клетках-стимуляторах — аллоантиген H-2K или H-2D, мутантный антиген H-2 или собственный антиген H-2, ассоциированный с гаптеном или вирусом [2160]. Более того, такие ЦТЛ — потомки «незрелых» тимоцитов — оказались идентичными ЦТЛ, образовавшимся без помощи ИЛ-2 из зрелых Т-лимфоцитов селезенки, по тонкой специфичности и ПР [902].

На «незрелых» тимоцитах до их активации в MLC были даже найдены предсуществующие антигенсвязывающие рецепторы, позволяющие разделить эти клетки (с помощью адсорбции на клеточных монослоях) на клоны, реактивные к алло- и собственному антигену H-2 ассоциированному с гаптеном [1958]. Остает-

ся сделать вывод, что в кортикальном тимусе присутствуют зрелые пЦТЛ, которые не дифференцируются в ЦТЛ только из-за отсутствия помощников — Т-амплифайеров, вырабатывающих ИЛ-2 (гл. III.2). Поскольку для возникновения последних из кортикальных (PNA^+) тимоцитов достаточно 24 ч их инкубации с супернатантом тимусного эпителия, следует полагать, что среди PNA^+ тимоцитов присутствуют не только зрелые пЦТЛ, но и незрелые предшественники Т-амплифайеров [1093].

Можно было бы усомниться в этих данных, после того как оказалось, что PNA -рецептор (галактоза), присутствие которого использовали как критерий для разделения незрелых и зрелых тимоцитов, в действительности выявляется не только на незрелых тимоцитах, но и обнажается на зрелых Т-клетках после их активации антигеном, по-видимому, в результате слияния нейраминовой кислоты [1799]. Кроме того, при использовании для разделения этих клеток иного критерия (различия плотности в градиенте альбумина), а для реагирующих клеток в MLC — лимитирующих разведений кортикальных тимоцитов (вместо массовой культуры) не удалось подтвердить способность незрелых тимоцитов генерировать ЦТЛ в MLC [332].

Среди кортикальных тимоцитов действительно присутствует наиболее зрелая фракция (около 20% кортикальных клеток), отделенная с помощью иммунофлуоресцентного сортера от остальных клеток по высокому содержанию антигена Н-2К, способная генерировать ЦТЛ в MLC даже методом лимитирующих разведений [1036]. По-видимому, именно эта фракция тимоцитов кортикальной зоны (TL^+), содержащая только один из Lyt -антигенов (Lyt-1 или Lyt-2), служит источником большинства тимом — спонтанных или индуцированных канцерогенами [1302]. Такая же фракция, составляющая 10—20% кортикальных клеток, отделена от остальных кортикальных тимоцитов человека (все они содержали рецептор к PNA) за счет экспрессии антигена зрелых тимоцитов T1 ; только эта часть кортикальных тимоцитов (PNA^+ , T1^+) реагировала в присутствии ИЛ-2 на аллоантигены в MLC и митогены, причем их реакция не отличалась по интенсивности от реакции медуллярных тимоцитов (PNA^- , T1^+) [2118].

Хотя эта фракция «созревающих» или «промежуточных» кортикальных тимоцитов до сих пор не имеет собственного маркера, по-видимому, она может быть отделена от остальных тимоцитов вследствие сialiрирования не всех (как у медуллярных тимоцитов), а части остатков галактозы на клеточной поверхности: указанная фракция клеток, в отличие от остальных кортикальных тимоцитов, связывает не только PNA (за счет свободных остатков галактозы), но и другой лектин — Лобстер-агглютинин 1 (LAg1), который взаимодействует с N-ацетил-нейраминовой кислотой [837]. В соответствии с этими данными тимоциты действительно удалось разделить на три категории: незрелые кортикальные — PNA^+ , LAg1^- , промежуточные кортикальные — PNA^+ , LAg1^+ и медуллярные — PNA^- , LAg1^+ , причем только LAg1^+ тимоциты способны реагировать на Кон А.

Эти данные о функциональном созревании части тимоцитов внутри кортикальной зоны, представленные на рис. 8, соответст-

вуют установленной ранее возможности разделения кортикальных тимоцитов в градиенте плотности фиколла на четыре фракции и созданной на этом основании модели дифференцировки кортикальных тимоцитов (см. рис. 7): фракция II (TdT⁺ незрелых тимоцитов) дифференцируется в двух направлениях — «терминальных» тимоцитов (фракция III), погибающих внутри тимуса (имеют высокую плавучую плотность и низкое включение ³H-тимидина), и «промежуточных» тимоцитов (фракция IV), отличающихся менее высокой плотностью и интенсивным включением ³H-тимидина [135]. Условия созревания последней фракции в кортикальном тимусе (гл. II.4.4) и возможность их миграции на периферию (гл. II.5) описаны ниже.

Хотя причина массовой гибели незрелых тимоцитов не выяснена, данные об изменениях количественных соотношений ферментов пуринового метаболизма на разных стадиях дифференцировки предшественников Т-клеток указывают на возможность летальной комбинации этих ферментов в «поздних» кортикальных тимоцитах, соответствующих «терминальной» фракции III. Резкое снижение уровня TdT при низкой активности пуриноклеозидфосфорилазы (PNP) и 5-нуклеотидазы и высоком содержании аденозиндезаминазы приводит к возникновению в клетках токсического уровня пуриндезоксинуклеотидов, в частности, дезоксигуанозинтрифосфата (dGTP), который убивает пролиферирующие клетки [1237].

Предполагается, что этой гибели избегает только малая фракция тимоцитов, которая приобретает либо фермент PNP, расщепляющий dGTP [1804], либо дезоксинуклеозиды (дезоксицитидин) — конкуренты dGTP [1569a]. Оба указанных реагента действительно продуцируются клетками стромы тимуса и могут проникать в тимоциты в результате метаболической кооперации, возникающей при их прямом контакте с клетками стромы тимуса, что ведет к следующему этапу дифференцировки (см. след. разд.). Логично предположить, что биологический смысл массовой гибели остальных кортикальных тимоцитов связан именно с этим — необходимостью освободить место для размножения только той малой селектированной фракции выживших клеток, которые подлежат дифференцировке. В связи с этим выдвигаемое ранее предположение о наличии в тимусе «запрещенных» аутоиммунных клонов и их спонтанной гибели после «стерильной» активации аутоантигенами представляется неоправданным.

II.4.4. Роль элементов стромы и Ia-белков тимуса в дифференцировке Т-клеток

Поскольку внутритимусную дифференцировку можно разграничить на два основных этапа — «кортикальный» и «медуллярный», — вопрос о том, какие именно условия каждой из этих зон контролируют эти этапы, обсуждается в течение многих лет. Общепринятым является представление о том, что дифференци-

ровка кортикальных тимоцитов зависит от функции эпителиальных клеток тимуса, синтезирующих множество специальных факторов (гл. II.3). Под капсулой тимуса и в наружной области кортикальной зоны найдены гигантские (диаметр 50 мкм) эпителиальные "клетки-няньки" (nurse cells), которые могут быть выделены в количестве 16 тысяч на тимус с помощью обработки ткани коллагеназой и последующего спонтанного осаждения клеток в градиенте плотности эмбриональной телячьей сыворотки [2214, 1112]. Эти клетки (или их конгломераты) с фенотипом Thy-1^- , Ig^- , H-2K/D^{++} , I-A/E/C^+ , Lyt-1-2^- , PNA^- содержит в своей цитоплазме множество живых, митозирующих тимоцитов, каждый из которых полностью секвестрирован, т. е. отделен от окружающей цитоплазмы участком мембраны "няньки", прилегающей к собственной плазматической мембране тимоцита; последние отличаются от самой "няньки" фенотипом незрелых лимфоидных Т-клеток: Thy-1^{++} , Ig^- , H-2K/D^+ , I-A/E/C^- , Lyt-1,2,3^+ , PNA^+ , TL^+ , ThB^+ .

Внутри данной "няньки" находятся тимоциты разного происхождения, т. е. не потомки одного клона: "няньки" летально облученных гибридов F_1 , защищенных смесью клеток костного мозга двух родителей, которые различаются аллелями Thy-1 , содержат тимоциты обоих доноров. Поскольку такие смеси не обнаруживаются при совместном культивировании "нянек", выделенных из тимусов мышей разных линий, очевидно, что их клеточная структура возникает *in vivo*, а не является артефактом. Так как сами "клетки-няньки" у аллогенных радиационных химер несут антигены H-2 донора тимуса, а не костного мозга, следует полагать, что они и являются теми радиорезистентными эпителиальными элементами стромы тимуса, которые обеспечивают этап Ia внутритимусной дифференцировки (см. рис. 8). На такую возможность указывают особенности тимоцитов, извлеченных из "нянек" с помощью их деструкции анти-I-A антителами. Хотя такие тимоциты, составляющие 2—3% всех клеток тимуса, идентичны остальным кортикальным тимоцитам по незрелому фенотипу, они отличаются высокой иммунокомпетентностью (не только функционируют как пЦТЛ, но секретируют ИЛ-2 и стимулируют продукцию Ig В-клетками), причем их функция связана с рестрикцией по МНС при сохранении толерантности к собственным белкам [576, 2122]. Только эта малая часть кортикальных тимоцитов экспрессирует рецепторы (гликопротеиды с М. м. 80 кДа), ответственные за прикрепление клеток к эндотелию посткапиллярных венул, что обеспечивает их оседание в лимфоузлах после миграции из тимуса *in vivo* [577].

Этап II (возникновение зрелых тимоцитов медуллярной зоны), по-видимому, связан с функцией МФ и дендритических клеток (ДК) стромы, обильно представленных в участках соединения кортикальной и медуллярной зон: культивирование незрелых тимоцитов на МФ тимуса (не содержащих эпителиальных клеток и фибробластов) приводит к созреванию тимоцитов (мар-

керному и функциональному) за 48 ч [160]. Созревание не происходит при культивировании незрелых тимоцитов на цельной строме тимуса, из которой удалены клетки макрофагального типа.

Можно полагать, что важную роль в этом процессе играет экспрессия Ia-белков (гл. I.3.1) на МФ и ДК тимуса: хотя количество МФ в тимусе в 12 раз меньше, чем в селезенке (0,25% по сравнению с 3%), Ia-белки возникают на их поверхности уже на 14-й день эмбрионального развития и обильно экспрессированы у новорожденных, тогда как на клетках того же типа в других органах (селезенка, кожа, кишечник), так же как на клетках другого типа, в том числе на медуллярных тимоцитах, Ia-белки выявляются лишь на второй неделе жизни и медленно достигают уровня взрослых животных [1229, 1462].

В пользу важной роли Ia-белков тимусной стромы в дифференцировке медуллярных тимоцитов свидетельствуют и более прямые данные: медуллярные тимоциты (со "зрелым" фенотипом Lyt-1^+ , 23^- , PNA^-) пролиферируют в культуре при взаимодействии с Ia-антигенами, представленными на сингенных МФ и ДК тимуса, в присутствии которых данные тимоциты созревали *in vivo* [236]. По-видимому, для приобретения способности реагировать на сингенные Ia-молекулы необходимо прочное прикрепление незрелых тимоцитов к Ia^+ МФ тимуса — свойство, которое действительно отличает некомпетентные тимоциты от созревших тимоцитов, реагирующих как на аллогенные, так и на сингенные Ia-молекулы в MLC [2262].

Определяющая роль Ia-молекул стромы тимуса в приобретении созревающими тимоцитами способности на них реагировать следует из того, что если претимоциты костного мозга радиационных аллогенных химер или мышей *pude* созревают в аллогенном тимусе, то у тимоцитов возникает способность пролиферировать в реакции на аллогенный Ia-антиген данного тимуса как на собственный Ia-белок, тогда как способность реагировать на Ia-белок собственного генотипа не развивается [676]. Подобный результат получен при введении претимоцитов костного мозга *pude* $F_1(P_1 \times P_2)$ облученному родителю P_1 : созревшие в его тимусе Т-лимфоциты пролиферируют в реакции на антигены только при условии их ассоциации с молекулой I-A реципиента P_1 , но не донора P_2 [1099]. Эти факты означают, что необходимым элементом созревания внутри тимуса Т-клеток хелперной группы (реагирующих на Ia-белки) является их обучение распознавать Ia-белки только тимусной стромы, независимо от того, идентичны или не идентичны эти белки продуктам собственного генотипа Т-клеток.

Такое представление получило экспериментальные подтверждения.

1. Введение MkAT анти-Ia мышам в течение первых 3 недель жизни элиминировало не только содержащие Ia МФ из их тимуса и селезенки, но и Т-амплифайеры — продуценты ИЛ-2 (с

фенотипом L3T4⁺, Lyt-2⁻), необходимые для образования ЦТЛ в MLC при реакции на аллоантигены или модифицированные гаптенем сингенные продукты МНС [1097, 1100]. При этом никакого дефекта пЦТЛ не наблюдалось, поскольку количество клеток Lyt-2⁺, L3T4⁻ не снижается, а для восстановления их способности превращаться в ЦТЛ достаточно добавить ИЛ-2 в культуральную среду. Наиболее вероятное объяснение этого феномена состоит в том, что контакт предшественников Т-амплифайеров с Ia-молекулой стромы тимуса является необходимым условием для сохранения их жизнеспособности (и одновременной дифференцировки), независимо от того, на какие Ia-молекулы (сингенные или аллогенные) они будут в последующем реагировать.

2. Прямого контакта *in vitro* тимоцитов с I-A молекулой А-клеток собственного тимуса достаточно для амплификации развивающихся тимоцитов вследствие цепи последовательных событий: индукции секреции интерлейкина 1 (ИЛ-1) А-клетками (с пиком через 96 ч после начала контакта), возникновения чувствительности тимоцитов к ИЛ-1 и пролиферации тимоцитов 20 ч спустя после пика секреции ИЛ-1 в связи с приобретением ими способности секретировать ИЛ-2 [1705].

3. Способность клонов Т-гибридомы, полученной с помощью слияния тимомы с медуллярными (PNA⁻) тимоцитами, секретировать ИЛ-2 при взаимодействии с сингенными А-клетками в отсутствие антигена обусловлена реакцией каждого клона на определенную сингенную Ia-молекулу (или их комбинацию) — либо на I-A, либо на I-E, либо на обе (с разной степенью перекреста с определенными аллогенными Ia-молекулами). Этот подход дает возможность детально анализировать внутритимусный репертуар к сингенным продуктам МНС [2285].

II.4.5. Реакция Т-клеток на сингенные Ia-белки и ее функциональная роль

Возникновение реактивности у созревающих в тимусе лимфоцитов к собственным Ia-белкам представляет собой весьма необычное явление: в то время как дифференцировка Т-клеток в эмбриогенезе, как известно, сопряжена с возникновением их иммунологической толерантности к собственным белкам, Ia-белки, напротив, индуцируют внутри тимуса аутореактивные Т-клетки. Такие специфичные к собственным Ia-белкам Т-лимфоциты выявляются не только в тимусе новорожденных [1902, 1147] и взрослых мышей [236], а также в крови новорожденных детей [1546], но и в периферической лимфоидной ткани мыши [1147, 2272], морской свинки [2271] и человека [1068, 966, 1665]. Они составляют малую долю зрелых Т-лимфоцитов (имеют фенотип Thy-1⁺, Lyt-1⁺, 23⁻, Qa-1⁻ у мыши и T4⁺, 5⁻, 8⁻ у человека), отличаются низкой плавучей плотностью [966] и могут быть избирательно элиминированы бромдезоксинуридином и светом при обработке клеток, пролиферирующих в сингенной MLC (реакция на алло-

антигены в MLC полностью сохраняется после такой обработки). Напротив, удаление Т-лимфоцитов, реагирующих на аллоантигены у мыши [606], морской свинки [481] и человека [1752], не влияет на реактивность к сингенному Ia-белку, несмотря на то, что частота аллореактивных Т-клеток в 12 раз выше, чем аутореактивных [1068]. Пролиферация Т-клеток в сингенной MLC представляет собой истинную иммунологическую реакцию, поскольку она имеет память (вторичный иммунный ответ в культуре отличается от первичного по кинетике и интенсивности).

Хотя Т-лимфоциты, пролиферирующие в сингенной MLC, не отличаются по своему фенотипу от Т-клеток хелперной группы, они составляют лишь малую долю (6—9%) Т-клеток и могут быть отделены от остальных Т-клеток человека за счет экспрессии белка TQ1 [1665], а также иных маркеров, МкАТ к которым избирательно устраняют реакцию Т-клеток на сингенный Ia-белок, но не влияют на пролиферацию в аллогенной MLC [806, 518].

Пролиферация в сингенной MLC отличается от аллогенной меньшей интенсивностью, более медленной кинетикой (пик на 6—8-й день по сравнению с 4-м днем в аллогенной MLC), высокой чувствительностью к малым (физиологическим) концентрациям гидрокортизона [912] и требует высокой концентрации Ia-содержащих стимуляторов. Истинным активатором пролиферации в сингенной MLC, по-видимому, действительно служит сингенная Ia-молекула, а не какие-либо иные сцепленные с ней чужеродные детерминанты.

Такое заключение основано на ряде фактов: интенсивность реакции прямо зависит от содержания сингенного Ia-белка на клетках-стимуляторах (лучшим активатором реакции служат ДК) [1489], а блокировка этого белка МкАТ анти-Ia отменяет пролиферативную реакцию клеток морской свинки [2271], мыши [2272] и человека [1378, 1547], а также секрецию ИЛ-2 клонами Т-гибридомы мыши [2285]; гибриды F₁ содержат два типа Т-клеток, каждый из которых реагирует на Ia-антиген одного из родителей и может быть положительно селектирован в первичной MLC Ia-антигеном соответствующего родителя; использование вариантов рекомбинантных линий в качестве стимуляторов вторичной MLC указывает на то, что реакция активируется продуктом только сингенного I-A субрайона; дополнительная стимуляция чужеродными белками и вирусами, так же как замена в культуре сингенной сыворотки на ксеногенную, не влияет на интенсивность реакции [1147, 2272].

Способность Т-лимфоцитов пролиферировать на саму по себе сингенную Ia-молекулу подтверждается тем, что специфичные к ней Т-клоны полностью сохраняют эту реакцию в сингенной MLC, несмотря на отмену «процессинга» антигена в МФ с помощью их обработки хлорохином (гл. III.6.1); та же процедура приводит к отмене реакции Т-клонов, специфичных к комплексу той же сингенной Ia-молекулы с чужеродным антигеном [577a].

При изучении физиологической функции этой уникальной аутореактивности Т-клеток оказалось, что избирательная элими-

нация или, напротив, положительная селекция Т-клеток, реагирующих на данный сингенный Ia-белок, приводит соответственно к отмене или усилению реакций Т-клеток на комплекс чужеродных белков или гаптенов с продуктами собственного МНС. Этот факт был установлен при индукции ЦТЛ *in vitro* комплексом гаптена с сингенными молекулами H-2K/D [2246] или пролиферативной реакции иммунных Т-клеток на белки, представленные на сингенных МФ [480], и даже *in vivo* — при трансплантации аденокарциномы молочной железы между линиями, идентичными по МНС и различающимися минорными H-антигенами [605]. В последнем случае опухоль, не несущая Ia-антигенов, но содержащая нормальные Ia⁺ лимфоциты, отторгалась только при условии предварительной иммунизации реципиента сингенными Ia-антигенами, представленными на нормальных лимфоцитах донора (обработка последних МкАТ анти-Ia отменяла эффект иммунизации).

Таким образом, иммунизация сингенным Ia-антигеном способствует проявлениям Т-клеточного иммунитета на различных его уровнях. Этот феномен (иммунная реакция на «свою» молекулу Ia) обусловлен по меньшей мере двумя функциональными свойствами субкласса Т-хелперов. Во-первых, реакция таких Т-клеток на сингенную молекулу I-A приводит к выделению ИЛ-2 [1147], который способствует генерации ЦТЛ, реагирующих на иной антиген, не имеющий отношения к данной I-A молекуле, т. е. осуществляется неспецифическая помощь (гл. III); во-вторых, наблюдается частичная (или полная) идентичность Т-клеток, реагирующих на данную детерминанту сингенной молекулы I-A независимо от того, интактна ли она или ассоциирована с чужеродным антигеном.

Последнее утверждение носит фундаментальный характер: если оно верно, то этот факт может оказаться решающим для понимания не только дифференцировки клеток в тимусе, но и функционирования Ig-генов (гл. I.4), т. е. механизмов возникновения или отсутствия иммунореактивности к данному антигену.

Представление об идентичности Т-лимфоцитов, реагирующих на нативный и модифицированный чужеродным антигеном сингенный Ia-белок, возникшее, как выше указывалось, в результате отрицательной или положительной селекции на уровне популяции клеток, было прямо подтверждено при изучении клонов Т-гибридом, синтезирующих ИЛ-2 в реакции на полипептид GAT в комплексе с определенным Ia-белком [1699]. Оказалось, что часть клонов, реагирующих на ассоциированную с GAT сингенную молекулу IA (I-A^a или I-A^b), реагирует и на ту же самую нативную молекулу I-A. Поскольку обе реакции отменяются одним и тем же МкАТ анти-Ia, очевидно, что за активацию специфичных к антигену и аутореактивных к I-A молекуле Т-клеток данного клона ответственна одна и та же детерминанта этой молекулы.

Таким образом, выше представлены доказательства двух фактов: 1) при дифференцировке Т-клеток в медуллярной зоне тимуса у них вместо толерантности развивается физиологическая способность реагировать (пролиферировать и выделять ИЛ-2) на детерминанты тех I-A молекул, которые присутствуют в строме тимуса в момент созревания Т-клеток; 2) одни и те же Т-лимфоциты способны распознавать "свои" I-A молекулы — интактные или ассоциированные с чужеродным антигеном, тогда как аллогенные Ia-белки распознаются иной популяцией Т-клеток.

II.4.6. Роль I-A молекул тимуса в адаптивной дифференцировке и ее значение для функционирования Ig-генов

Если приведенные факты сопоставить, то следует ожидать, что Т-лимфоциты способны распознавать чужеродный антиген в комплексе с I-A молекулой только того аллеля, который представлен в строме тимуса в момент созревания данных Т-лимфоцитов независимо от их собственного I-A генотипа. Иначе говоря, в тимусе имеет место "адаптивная дифференцировка" созревающих Т-клеток: отбор детерминант I-A молекулы как "своих" структур, служащих для распознавания чужеродных белков, определяется генотипом не самих Т-клеток, а того микроокружения, в котором они созревают. Это означает, что если Т-клетки созревают не в сингенном тимусе, они "переучиваются", т. е. приобретают способность распознавать в качестве "своего" (ассоциированного с чужеродным белком) экспрессированную в данном тимусе аллогенную I-A молекулу.

Для изучения этой возможности за период с 1978 г. было разработано несколько экспериментальных моделей, одна из которых представлена в табл. 19. Клетки костного мозга гибрида $F_1(P_1 \times P_2)$, обработанные анти-Thy-1 антителами (для удаления зрелых Т-лимфоцитов), введены летально облученному реципиенту одной из родительских линий (P_1 или P_2); созревшие в тимусе данного родителя Т-клетки-хелперы гибрида F_1 утрачивают способность реагировать на антиген (и обеспечивать дифференцировку образующих антитела В-лимфоцитов), представленный на МФ иного родителя, несмотря на то, что продукты МНС обоих родителей по-прежнему экспрессированы на Т-клетках гибрида F_1 . Напротив, активность тех же Т-хелперов полностью сохраняется в присутствии МФ гибрида F_1 или той родительской линии, которая служила реципиентом для клеток костного мозга F_1 . Способность МкАТ к молекуле $I-A^k$ отменять эту реакцию Т-хелперов F_1 ($B10.A \times B10$), только при условии, что они созревали в родительской линии $B10.A$, содержащей $I-A^k$, но не в родителе $B10(H-2^b)$, означает, что именно I-A молекула микроокружения реципиента «диктует» генетическую рестрикцию созревающих в этом окружении Т-лимфоцитов-хелперов [866].

Таблица 19

Зависимость адаптивной дифференцировки Т-клеток от I-A фенотипа стромы тимуса, в котором они созревают

Химера: источник Т-клеток	Источник А-клеток в тесте *	Образование АОК к ТНФ**	Подавление образования АОК к ТНФ анти-I-A ^k антителами**
F ₁ →B10(I-A ^b)* ⁴	B10	+	—
	B10.A	—	
	F ₁	+	
F ₁ →B10.A(I-A ^k)* ⁴	B10	—	+
	B10.A	+	
	F ₁	+	

* Первичное образование антител при инкубации *in vitro* клеток селезенки: Т-клеток данной химеры F₁(B10×B10.A)→P (родитель), В-клеток мыши F₁, А-клеток различного происхождения и комплекса гомоцианина (ГЦ)—ТНФ.

** Клетки, образующие антитела к ТНФ.

*** МКАТ добавлены в культуральную среду.

**** В скобках — аллель I-A субрайона реципиента химеры; донор химеры — F₁(B10×B10.A).

Этот факт, воспроизведенный независимо от способа тестирования Т-хелперов — *in vitro* при совместной инкубации клеток с антигеном [985, 533] или *in vivo* при введении их облученным животным [1926], — был установлен также при создании радиационных химер иных типов: P₁→F₁ или P₁→P₂ (аллогенные химеры). В первом случае Т-хелперы мыши P₁, "воспитанные" в реципиенте F₁(P₁×P₂), состоят, как выяснилось, из двух популяций, одна из которых сохраняет способность взаимодействовать с клетками собственного генотипа, а другая эту способность утрачивает, но взаимодействует с клетками генотипа P₂ [1928]. Эти две популяции Т-хелперов химер P₁→F₁ могут быть разделены с помощью позитивной селекции в присутствии антигена в организме облученного промежуточного хозяина — соответственно P₁ и P₂. Напротив, у аллогенных химер (P₁→P₂) обнаруживается только вторая ("переученная") популяция Т-хелперов P₁ [1889]. Данные о "переучивании" Т-клеток при их созревании в аллогенном или полуаллогенном окружении относятся не только к Т-хелперам, способствующим антителообразованию, но и к иным Т-субпопуляциям, реагирующим *in vivo* на чужеродный антиген в комплексе с Ia-белком: амплифайерам, способствующим генерации ЦТЛ к секс (Y)-антигену [2148]; пролиферирующим Т-лимфоцитам [1219]; эффекторам ГЗТ [1359]. Это означает, что "адаптивная дифференцировка" — не частный случай, а универсальный феномен, свойственный Т-лимфоцитам, реагирующим на продукты I-района МНС.

Этот феномен, однако, может быть воспроизведен у химер только при строгом соблюдении определенных условий (нарушение их в ряде работ является причиной противоречивых резуль-

татов и ошибочных интерпретаций). Ошибки в экспериментах такого рода связаны в первую очередь с функцией А-клеток. Во-первых, через несколько дней после летального облучения МФ селезенки реципиента утрачивают функцию А-клеток и постепенно замещаются МФ донора — потомками стволовых клеток костного мозга [1220], т. е. у химер меняется не только рестрикция Т-лимфоцитов, но и генотип А-клеток. В связи с этим, для того чтобы выявить изменение генетической рестрикции Т-клеток радиационных химер, эти клетки должны быть иммунизированы антигеном не в организме дефектной по А-клеткам химеры, а в присутствии полноценных А-клеток нормального гибрида F_1 , несущих Ia-белки обоих родителей. Во-вторых, поскольку Т-хелперы химер реагируют на I-A молекулу А-клеток, а не В-лимфоцитов (предварительная обработка МкАТ анти-I-A именно А-, но не В-клеток отменяет реакцию [866]), в тест-системе должны быть использованы очищенные Т-лимфоциты химер и разделенные А- и В-клетки известных I-A генотипов. В противном случае может возникнуть путаница, поскольку Т-хелперы химер активируют В-клетки любого генотипа, если антиген представлен на А-клетках, несущих I-A молекулу реципиента [1889].

Если действительно генетическая рестрикция созревающих в тимусе Т-клеток зависит от I-A генотипа не самих Т-клеток, а радиорезистентного микроокружения, в котором они созревают, следует полагать, что именно строма тимуса выполняет эту функцию. Это предположение было экспериментально подтверждено с помощью двух подходов. Во-первых, оказалось, что в тимусе радиационной химеры, в отличие от селезенки, А-клетки облученного реципиента сохраняются в течение по меньшей мере двух месяцев после облучения, и только после этого срока заменяются А-клетками донора. Если такую химеру повторно облучить и защитить теми же клетками костного мозга, вновь созревающие Т-хелперы распознают антиген в комплексе с I-A молекулой, представленной на МФ тимуса в данный момент, т. е. не реципиента (как это было после первого облучения), а донора [1220]. Это означает, что дифференцировка Т-клеток внутри тимуса действительно адаптивная, т. е. зависит только от того I-A белка, который представлен в МФ тимуса в данный момент.

Такое заключение подтверждено тем, что адаптивная дифференцировка Т-клеток исчезает (т. е. пролиферативная реакция их рестриктирована по гаплотипу МНС не реципиента, а донора химеры $F_1 \rightarrow P_1$, если однократная доза облучения реципиента увеличена с 975 до 1200 рад. Быстрое размножение в этом случае (за 3 недели после облучения) А-клеток донора в тимусе химеры приводит к сохранению рестрикции его Т-клеток по собственному гаплотипу МНС [1222].

Второй подход состоял в том, что тимус самих радиационных химер (сингенных $F_1 \rightarrow F_1$) был удален и заменен тимусом (пересаженным под капсулу почки) одного из родителей (P_1 или P_2). Из табл. 20 можно видеть, что созревающие Т-клетки гибрида F_1 способны реагировать на антиген той родительской линии, из которой был взят тимус, тогда как в присутствии клеток иной ро-

Таблица 20

Зависимость взаимодействия Т-хелперов и эффекторов ГЗТ с клетками различных генотипов от генотипа МНС тимуса, в котором они созрели

Бестимусная мышь	Источник тимуса: родитель (Р) или линия мышей	Происхождение и генотип нормального реципиента (in vivo) • или клеток (В+А) (in vitro) **	Тесты	
			реакция ГЗТ к ГЦ in vivo •	образование АОК к ТНФ in vitro **
Гибрид $F_1 \rightarrow F_1$ (ТЭ) * ³	P ₁	P ₁	+++	+++
		P ₂	±	±
Гибрид $F_1 \rightarrow F_1$ (ТЭ) * ³	P ₂	P ₁	±	±
		P ₂	+++	+++
Nude BALB/c (H-2 ^d) * ⁴	C57BL(H-2 ^b)	H-2 ^d		±
		H-2 ^b		+++
	C3H(H-2 ^k)	H-2 ^d		±
		H-2 ^k		+++

• ГЗТ к ГЦ перенесена in vivo иммунными к ГЦ лимфоцитами химер ($F_1 \rightarrow F_1$) на нормального реципиента каждого из родительских генотипов [1359].

** Т-лимфоциты химер $F_1 \rightarrow F_1$ или nude (H-2^d) инкубировали in vitro с конъюгатом ГЦ—ТНФ в присутствии смеси В- и А-клеток (Thy-1⁺) линий указанного происхождения и определяли АОК к ТНФ [2171, 1890].

*³ Мышей гибридов F_1 тимэктомировали, облучали, защищали сингенным костным мозгом F_1 (лишенным зрелых Т-лимфоцитов), трансплантировали тимус одного из родителей и иммунизировали ГЦ.

*⁴ Мышам nude пересаживали аллогенный тимус и через 2—3 месяца получали Т-клетки селезенки, имеющие генотип nude (H-2^d).

Сокращения: ТЭ — тимэктомия; АОК — антителообразующие клетки.

дательской линии реакция Т-лимфоцитов оказалась существенно слабее. Этот факт был установлен как при переносе Т-клетками ГЗТ in vivo [2148], так и при их использовании в качестве хелперов in vitro [2171, 993]. Сходные результаты получены, если вместо тимэктомированных химер использовали бестимусных мышей nude, которым был пересажен аллогенный тимус (табл. 20): Т-хелперы этих мышей с генотипом nude (H-2^d), созревшие в аллогенном тимусе, реагировали на антиген, представленный на (В+А)-клетках не сингенного гаплотипа (H-2^d), а того, который служил донором тимуса, — H-2^b или H-2^k [1890]⁸.

Можно было бы предположить, что во всех описанных выше экспериментальных системах замена рестрикции Т-лимфоцитов с собственного на аллогенный гаплотип связана не с адаптивной дифференцировкой, а либо с возникновением в аллогенном тимусе Т-супрессоров, подавляющих реакцию на отсутствующий в данном тимусе собственный I-A антиген, либо с развитием иммунологической толерантности созревающих Т-клеток к I-A алло-

⁸ Противоположные данные Сингер и сотр. [1030] связывают с указанными выше техническими погрешностями.

антигену стромы тимуса, что позволяет им распознать этот алло-антиген в комплексе с чужеродным белком. Обе эти возможности были экспериментально отвергнуты: супрессоры, специфичные к продуктам МНС созревающих Т-клеток, не обнаружены [867], а индукция толерантности к продуктам МНС тимуса не обеспечивает генетической рестрикции Т-клеток [1889]. Таким образом, можно считать установленным существование адаптивной дифференцировки Т-клеток, распознающих антиген в комплексе только с той Ia-молекулой, которая представлена в МФ и ДК стромы тимуса, независимо от собственного I-генотипа Т-клеток⁹.

В связи с этим возникает вопрос: какое значение эта адаптивная дифференцировка Т-лимфоцитов, происходящая в тимусе независимо от антигенных воздействий, имеет для их последующих функций при взаимодействии с антигеном в периферической лимфоидной ткани? В частности, поскольку функция Ig-генов также связана с Ia-молекулой, «презентирующей» этот антиген А-клетки (гл. I.4.5), то отражается ли адаптивная дифференцировка Т-клеток на их иммунореактивности?

Данные по изменению реактивности у радиационных химер, хотя и не однозначны, позволяют ответить на этот вопрос утвердительно: во многих случаях Т-клетки ареактивной линии приобретают способность реагировать на данный антиген, а Т-клетки реактивной линии утрачивают эту способность при их дифференцировке в тимусе соответственно реактивной и ареактивной химеры. Для того, чтобы выявить эти изменения реактивности, необходимо иметь в виду экспериментальные требования при работе с химерами, связанные с тем, что, как указывалось выше, в организме самой химеры меняются генотип и функция не только Т-, но и А-клеток, причем изменения А-клеток происходят в разные сроки в ее тимусе и периферических лимфоидных органах. В связи с этим информативными следует считать те результаты, которые получены не при иммунизации самой химеры, а при вычленении каждого из ее клеточных компонентов.

Из табл. 21 можно видеть, что на два полипептида — GLPhe и GAT — слабо реагируют мыши двух линий, различающихся только комплексом H-2 — соответственно B10.A и B10.Q; те же линии высокореактивны по отношению к альтернативному полипептиду, а гибрид F₁ между ними хорошо реагирует на оба полипептида в связи с доминантной функцией Ig-генов (гл. I.4.1). В обоих случаях Т-клетки каждой из низкореактивных линий после их созревания в тимусе высокореактивной химеры F₁ (B10.A × B10.Q) приобретают способность реагировать на соответствующий полипептид, если он представлен на А-клетках высокореактивной линии (B10.Q для GLPhe и B10.A для GAT).

⁹ Хотя эта дифференцировка феноменологически адаптивна, возможно, что в действительности она происходит только в той фракции претимоцитов, germ-line гены которых обеспечивают реакцию (кодируют рецепторы) к данному Ia-белку, независимо от того, является ли он аллогенным или сингенным по отношению к данным претимоцитам.

Таблица 21

Реактивность Т-хелперов низкореактивной линии после их созревания в тимусе высокореактивных гибридов F₁

Иммунизирующий комплекс		Источник Т-хелперов (аллель I-A)	Добавление моноклональ- ных антител к I-A	Реактивность
антиген	макрофаги ВР • линии (аллель I-A)			
GLPhe	B10.Q(I-A ^q)	B10.A(I-A ^k) **	—	Низкая
		B10.Q(I-A ^q) **	—	Высокая
		Химера: B10.A→F ₁ (B10.A×B10.Q)	—	Высокая
			анти-I-A ^q	Низкая
			анти-I-A ^k	Высокая
GAT	B10.A(I-A ^k)	B10.Q(I-A ^q) ***	—	Низкая
		B10.A(I-A ^k) ***	—	Высокая
		Химера: B10.Q→F ₁ (B10.A×B10.Q)	—	Высокая
			анти-I-A ^q	»
			анти-I-A ^k	Низкая

• Высокореактивная.

** B10.A — низкореактивная, B10.Q — высокореактивная к GLPhe линия.

*** B10.Q — низкореактивная, B10.A — высокореактивная к GAT линия.

Из табл. 21 следует, что «воспитанная» у Т-клеток реактивность вновь отменяется, если в тест-системе присутствуют МкАТ к I-A молекуле презентирующих антиген МФ, но не самих Т-клеток. Эти данные означают, что приобретенная реактивность связана с возникновением способности Т-клеток реагировать на ассоциированную с антигеном (на поверхности МФ) I-A молекулу, которая присутствовала в радиорезистентном микроокружении реактивной к этому антигену мыши при созревании ареактивных Т-лимфоцитов. Отсюда следует, что ареактивность Т-лимфоцитов в этих случаях обусловлена не их генетическим дефектом, а тем, что они созревали в окружении сингенных МФ тимуса, I-A молекулы которых ареактивны к эпитопам данного антигена; устранение этого дефекта при созревании тех же Т-лимфоцитов в окружении реактивных МФ обусловлено, по-видимому, тем, что они приобретают способность реагировать на нативный I-A белок МФ реактивной к данному антигену линии (гл. 1.4.3) [1219]. В пользу этого предположения указывает обратный феномен — исчезновение реактивности Т-клеток после их созревания в ареактивном окружении радиационной химеры. Все эти данные получены при использовании различных полипептидов, варьировании линий мышей и функциональных Т-клеточных тестов [985, 866, 1359, 1889].

Тем не менее при некоторых сочетаниях антигенов и линий мышей не наблюдалось возникновения реактивности у ареактивных Т-лимфоцитов после их дифференцировки в окружении ре-

активных к данному антигену гибридов F_1 [1279]. Более того, введение в таких случаях смеси клеток костного мозга реактивного и ареактивного родителя облученному гибриду не изменяло реактивности Т-клеток каждого из родителей, разделенных после созревания в организме гибрида F_1 : Т-клетки высокореактивного родителя сохраняли, а Т-клетки низкореактивного родителя не приобретали способность сильно реагировать на соответствующий антиген (лизоцим курицы) [848].

Эти результаты заставляют предположить неоднородность механизмов функционирования I α -генов: по-видимому, в большинстве случаев ареактивность связана с тем, что I-A молекула Мф не ассоциируется с данным антигеном, который поэтому не может быть распознан реагирующими на интактную сингенную I-A молекулу Т-клетками (в этих случаях созревание Т-клеток в окружении аллогенного I-A белка стромы тимуса, способного ассоциироваться с данным антигеном, меняет реактивность Т-клеток); однако ареактивность к определенным антигенам Т-клеток мышей некоторых линий обусловлена собственным генетическим дефектом Т-клеток, связанным с неспособностью их рецепторов распознавать антиген в комплексе с I-A белком (такой дефект не устраняется при созревании Т-клеток в окружении реактивного I-A белка стромы тимуса).

II.4.7. Отсутствие адаптивной дифференцировки периферических ЦТЛ: интерпретации противоречивых результатов

Во всяком случае, изменение реактивности к чужеродному антигену в зависимости от продуктов МНС, в окружении которых клетки созревают (адаптивная дифференцировка), отражает уникальное свойство Т-лимфоцитов: реактивность как В-, так и А-клеток не меняется после их дифференцировки из СКК в аллогенных или полуаллогенных химерах [1927, 2104]. Однако, как упомянуто в гл. I и детально обсуждено в гл. III, Т-лимфоциты можно разделить на две основные категории, каждая из которых преимущественно распознает чужеродные антигены в ассоциации с молекулами МНС либо класса II (пролиферирующие Т-клетки, индукторы, хелперы, амплифайеры, эффекторы ГЗТ), либо класса I (ЦТЛ). В связи с этим возникает вопрос: происходит ли адаптивная дифференцировка только в 1-й или также и во 2-й категории Т-лимфоцитов, т. е. меняется ли генетическая рестрикция ЦТЛ после их созревания в аллогенном окружении тимуса?

Этот вопрос тем более интересен, что концепция адаптивной дифференцировки возникла на основании экспериментов, проведенных у химер именно с ЦТЛ. Оказалось, что Т-клетки радиационных химер — аллогенных ($P_2 \rightarrow P_1$) или полуаллогенных ($F_1 \rightarrow P_1$) — генерируют ЦТЛ, специфичные к чужеродным антигенам, при условии, что иммунизация производится в комплексе с клетками-стимуляторами гаплотипа H-2 не собственного (P_2),

а реципиента (P_1). Напротив, такая же иммунизация собственными белками H-2 донора химеры (гаплотипа P_2), модифицированными теми же чужеродными антигенами, не индуцировала ЦТЛ, предшественники которых (пЦТЛ) созрели в аллогенном окружении (гаплотипа P_1).

В первых работах такого типа указанные различия носили абсолютный характер — при иммунизации минорными H-антигенами [195], вирусом осповакцины или гаптенем [2317] — и были воспроизведены в таких экспериментальных аранжировках, которые демонстрировали определенную роль МНС тимуса в изменении генетической рестрикции ЦТЛ. В частности, пЦТЛ, созревающие в тимэктомированных радиационных химерах $F_1 \rightarrow F_1$ или $P_1 + P_2 \rightarrow F_1$ после трансплантации им тимуса одного из родителей (P_1 или P_2) или обоих тимусов ($P_1 + P_2$), реагировали на антиген в комплексе с белком H-2 тимусного источника независимо от собственного [573, 2318].

Позднее оказалось, что эти различия в реакции ЦТЛ на модифицированные антигены H-2 — не абсолютные, а количественные в пользу реципиента химеры [1096], а в ряде работ они не были обнаружены вовсе [1146, 1308, 1957, 2163]. Более того, частота пЦТЛ оказалась в 3—5 раз выше при реакции на модифицированный вирусом свой антиген H-2, чем на аллоантиген тимуса химеры [2164]. Клоны пЦТЛ, реагирующие на модифицированные вирусом сингенный и аллогенный (тимусный) белки H-2, не идентичны и активируются в равной мере у сингенных и аллогенных химер, причем степень их активации зависит от гаплотипа H-2 иммунизирующих клеток-стимуляторов.

Сходные результаты были получены, если вместо химер использовали мышей *pude*, которым трансплантировали полуаллогенный или аллогенный тимус, обеспечивающий созревание пЦТЛ. Эти клетки, несущие гаплотип H-2 мышей *pude*, реагировали на ассоциированный с вирусами [1123, 2319] или гаптенами [1095] как собственный антиген H-2, так и аллоантиген H-2 тимусного происхождения — в зависимости от гаплотипа H-2 иммунизирующих клеток (при иммунизации как *in vivo* самих *pude*, так и *in vitro* в MLC). Еще более демонстративной оказалась зависимость созревания пЦТЛ у новорожденных мышей *pude* (после трансплантации им тимуса) от генетической рестрикции ЦТЛ, возникших после иммунизации. ЦТЛ, рестриктированные по молекуле МНС класса I или II (при иммунизации соответственно вирусом Сендай или антигеном H-Y), требуют разных условий для своего возникновения: в первом случае пЦТЛ созревают независимо от источника тимуса, в том числе нереактивной к вирусу Сендай мутантной линии *bm1*, во втором — только если тимус взят от реактивной к H-Y линии B6, но не от нереактивного к H-Y мутанта *bm12* [991].

Таким образом, хотя Ia-белки — продукты МНС тимуса — действительно определяют генетическую рестрикцию созревающих в нем тех категорий Т-лимфоцитов, которые распознают ан-

тигены в комплексе с I-A молекулой (и такая адаптивная дифференцировка оказывает влияние на иммунореактивность), рестрикция ЦТЛ, распознающих антигены в комплексе с молекулой МНС класса I, как правило, зависит от гаплотипа МНС не тимуса, а иммунизирующих клеток-стимуляторов. Показанный в ряде работ обратный факт — зависимость рестрикции ЦТЛ от тимусного гаплотипа H-2 — обусловлен, по-видимому, не адаптивной дифференцировкой в тимусе, а иными причинами.

Если для создания химер используют нестерильных мышей, большая их часть погибает от инфекции. Выживают (и, следовательно, используются в опытах) только те из них, у которых элиминируются (в результате антиидиотипической супрессии) Т-клетки реципиента с рецепторами, направленными к антигену H-2 клеток костного мозга донора. Следствием этого процесса является исчезновение рестрикции к сингенному антигену H-2 пЦТЛ, созревших из клеток костного мозга донора химеры [50].

Однако более существенным представляется иное обстоятельство: для дифференцировки ЦТЛ необходима помощь Т-амплифайеров (см. гл. III). Поскольку последние в результате адаптивной дифференцировки в тимусе химеры реагируют только на Ia-белок, в окружении которого они созрели, амплифайеры не могут способствовать генерации ЦТЛ в отсутствие I-A молекулы реципиента. Следствием этого дефекта является резкое снижение или исчезновение реакции ЦТЛ, если на стимуляторах не представлена I-A молекула реципиента, т. е. тимуса химеры.

Последняя возможность была четко доказана экспериментально (табл. 22): если к модифицированным ТНФ стимуляторам, идентичным донору химеры по гаплотипу H-2, добавлен дополнительный стимулятор — интактные (не обработанные ТНФ) А-клетки, идентичные реципиенту (т. е. тимусу) химеры только по I-A белку, дефект в генерации ЦТЛ к модифицированным сингенным белкам H-2K/D (строка 2) устраняется (строка 3) [251]. Тот же результат получен, если вместо дополнительных стимуляторов, активизирующих амплифайеры химеры, в МЛС добавляют либо "готовые" предварительно иммунизированные ТНФ (и облученные) амплифайеры нормальной мыши, сингенные реагирующим Т-клеткам химеры, либо продуцированный амплифайерами фактор — ИЛ-2 [1098]. Таким образом, добавленные извне помощники (или их фактор) устраняют кажущийся дефект пЦТЛ.

Из приведенных данных следует, что адаптивная дифференцировка под влиянием продуктов МНС тимуса происходит не во всех предшественниках Т-лимфоцитов, а только в тех из них, которые реагируют на Ia-белки стромы тимуса. Разделение незрелых тимоцитов человека ($T4^+T8^+$) на две категории (гл. II.4.2.2) подтверждается тем, что в зависимости от наличия или отсутствия стромальных Ia⁺ клеток в культуре эти тимоциты превращаются в разные субклассы — соответственно $T4^+T8^-$ (хелперные) или $T4^-T8^+$ (источник пЦТЛ) [221a]. Даже та малая доля

Таблица 22

Образование ЦТЛ, специфичных к ассоциированному с ТНФ сингенному антигену Н-2, из Т-клеток аллогенной химеры *

Донор химеры— источник Т-кле- ток В10.Т(6R)	Реципиент химеры В10.А(2R)	Стимуляторы в МЛС для генерации ЦТЛ анти-ТНФ		Клетки-мишени, ассоциированные с ТНФ	Лизис клеток- мишеней
		ассоциирован- ные с ТНФ	интактные В10.АQR		

Аллели районов комплекса Н-2

К	I-A	D	К	I-A	D	К	I-A	D	К	I-A	D	К	I-A	D	
q	q	d	k	k	b	<u>k</u>	<u>k</u>	<u>b</u>		—		<u>k</u>	<u>k</u>	<u>b</u>	+
q	q	d	k	k	b	q	q	d		—		q	q	d	—
q	q	d	k	k	b	q	q	d	q	<u>k</u>	d	q	q	d	+

- Т-клетки аллогенной химеры В10.Т(6R)→В10.А(2R) иммунизированы в МЛС обработанными ТНФ стимуляторами, которые идентичны реципиенту (строка 1) или донору химеры (строка 2); в третьем варианте (строка 3) в качестве дополнительных стимуляторов в МЛС добавлены интактные (не обработанные ТНФ) А-клетки, идентичные реципиенту химеры только по аллелю I-A субрайона (курсив). Подчеркнуты аллели Н-2, идентичные реципиенту химеры. Выделены полужирным шрифтом аллели Н-2, идентичные донору химеры.

(5—10%) пЦТЛ, которая подобно Т-хелперам реагирует на гап-тен в комплексе с молекулой МНС класса II, не приобретает рестрикцию по Ia-молекуле тимуса химеры, в отличие от Т-хелперов, специфичных к тому же гаптену [681a]. Это означает, что Ia-молекула стромы тимуса необходима для адаптивной дифференцировки и одновременного созревания только предшественников Т-клеток хелперной группы.

Напротив, пЦТЛ, функция которых рестриктирована по молекуле МНС класса I и II, как правило, реагируют на аллельные варианты этих молекул независимо от гаплотипа МНС тимуса, в котором созрели их предшественники. Тем не менее, если пЦТЛ извлекают не из селезенки, а прямо из тимуса «ранней» (одномесячной) химеры $F_1 \rightarrow P_1$ (в ее тимусе еще сохранены А-клетки самого тимуса), они оказываются рестриктированными преимущественно к антигенам Н-2К/D не своим, а тимуса. Это следует из того, что после их активации в МЛС (в присутствии ИЛ-2) они генерируют ЦТЛ, которые лизируют значительно эффективнее ассоциированные с ТНФ клетки-мишени реципиента P_1 , чем донора P_2 [1094]. Тот же факт установлен после созревания претимоцитов костного мозга мышей nude в пересаженном им аллогенном тимусе: только пЦТЛ самого тимуса, но не селезенки этих мышей имеют преимущественную рестрикцию к К/D-белкам тимусного происхождения, хотя на самих пЦТЛ, взятых из обоих этих источников, экспрессирован один и тот же гаплотип Н-2 мышей nude [1095].

Можно предположить, что в тимусе удерживается (не выселяется в периферические лимфоидные органы) та небольшая

доля созревающих внутри тимуса клонов пЦТЛ, которые наиболее высоко рестриктированы к белкам МНС класса I тимуса, т. е. способны реагировать с этими белками с особенно высоким сродством. Остается неясным: а) возникли ли эти клоны в результате экспрессии зародышевых (germ line) генов Т-клеток или адаптивной дифференцировки под действием H-2K/D-окружения тимуса; б) созревают ли пЦТЛ только в тимусе (после чего часть их покидает тимус и заселяет лимфатическую ткань) или часть их созревает (или «дозревает») в периферической лимфатической ткани.

II.4.8. Концепция дифференцированного и ограниченного влияния тимуса на созревание разных категорий Т-клеток

Таким образом, в настоящее время мало известно о том, какие именно функциональные качества приобретаются Т-клетками при их созревании в тимусе. Гипотезы, предложенные Ерие [949] и позднее развитые в других работах [2148, 382], исходили из того, что дифференцировка в тимусе обеспечивает иммунокомпетентность Т-клеток, разнообразие их репертуара, иммунологическую толерантность к собственным белкам, способность распознавать чужеродные антигены в ассоциации с собственными антигенами H-2 (генетическая рестрикция по МНС). Внутритимусные мутации пролиферирующих претимоцитов, несущих низкоаффинные рецепторы к представленным в строме тимуса продуктам собственного МНС, приводят к возникновению высокой доли Т-клеток, реагирующих на аллогенные продукты МНС.

Некоторые из этих предположений могут быть справедливыми в отношении Т-клеток хелперной группы, реагирующих на нативные и модифицированные Ia-молекулы: клетки этой категории действительно возникают только внутри тимуса, а их генетическая рестрикция определяется, как выше описано, I-районом стромы тимуса (хотя и в этом случае в тимусе возникает не толерантность, а, напротив, реактивность к сингенным Ia-белкам). Что же касается остальных Т-субклассов (в первую очередь пЦТЛ), то данные об их дифференцировке вовсе не соответствуют указанным гипотезам.

Факты, изложенные в разделе о предшественниках Т-клеток (гл. II.2.1), указывают на то, что пЦТЛ созревают без участия тимуса — как у мышей nude, так и у обычных мышей, тимэктомизированных, летально облученных и защищенных претимоцитами костного мозга или клетками эмбриональной печени. Развивающиеся в отсутствие тимуса пЦТЛ не отличаются от пЦТЛ обычных мышей в отношении разнообразия репертуара клонов и способности распознавать антигены (гаптены или вирусы) в контексте продуктов МНС класса I. Хотя частота пЦТЛ в 10—20 раз ниже в селезенке nude, чем обычных мышей, такая же низкая их частота наблюдается и в тимусе, причем их рестрикция по анти-

генам H-2K/D (выявляемая в активированных ЦТЛ) зависит от продуктов тех аллелей, которые представлены не в тимусе, а на клетках-стимуляторах [1958, 2164]. Количественным различием между пЦТЛ селезенки обычных мышей и nude является соотношение частоты клонов, реагирующих на сами аллоантигены H-2K/D, модифицированные гаптенем или вирусом сингенные антигены H-2K/D и аллоантигены H-2K/D: эти соотношения, составляющие в селезенке обычной мыши 50:5:1, выравнены в селезенке мышей nude (так же, как и в тимусе).

Приведенные данные означают, что, во-первых, разнообразие репертуара пЦТЛ возникает не в тимусе, а во-вторых, «дозревание» части клонов пЦТЛ происходит в периферических лимфоидных органах и выражается прежде всего в увеличении частоты Т-клеток, реагирующих на антигены H-2 класса I. В пользу такого представления свидетельствует выращивание пЦТЛ без тимуса — в колониях *in vitro* под действием интерлейкинов и в присутствии А-клеток. пЦТЛ данной колонии, дифференцированные из единичного предшественника с фенотипом Thy-1^+ , Lyt-1-2- [363], реагируют как на аллоантигены H-2, так и на гаптен ТНФ, ассоциированный либо с сингенным, либо с аллогенным H-2, причем частота пЦТЛ последней категории самая низкая — так же, как среди пЦТЛ селезенки. Таким образом, единичная Т-клетка-предшественник способна в отсутствие тимуса генерировать *in vitro* спектр потомков пЦТЛ, который не отличается от обычных пЦТЛ ни по генетической рестрикции, ни по разнообразию репертуара.

Возникновение иммунологической толерантности — как естественной, т. е. к собственным антигенам комплекса H-2, так и индуцированной аллоантигенами — также, как оказалось, не зависит ни от присутствия тимуса, ни от его фенотипа и происходит в предшественниках Т-клеток при их контакте с соответствующими антигенами до проникновения в тимус. Этот факт установлен при использовании не только мышей nude — бестимусных или с пересаженным сингенным или аллогенным тимусом [194, 2319], но и обычных мышей [2249], а также тимэктомированных химер гибридов F_1 , которым пересажен тимус одной из родительских линий (P_1 или P_2), а после летального облучения — костный мозг той же линии, лишенный зрелых Т-клеток. Оказалось, что у таких химер возникает специфическая толерантность претимоцитов донора костного мозга одного родителя к аллоантигенам другого родителя гибрида F_1 , несмотря на отсутствие этих антигенов в тимусе, причем толерантность в равной степени выражена у Т-клеток, пролиферирующих [252] и созревающих в ЦТЛ [1416] при реакции в той же MLC на аллоантигены соответственно класса II и I ¹⁰.

Из этого следует, что рецепторы к аллоантигенам обоих

¹⁰ В отличие от толерантности к продуктам MHC толерантность к минорным H-антигенам возникает внутри тимуса [1417].

классов экспрессированы на претимоцитах до их созревания в тимусе. Такое предположение подтверждено с помощью адсорбции незрелых кортикальных тимоцитов на монослое КМ [1958]. Таким образом, вопреки указанным выше гипотезам, функции тимуса, во-первых, ограничены, а во-вторых, не идентичны при дифференцировке разных категорий Т-клеток. По-видимому, основная его функция — созревание Т-субклассов, реагирующих на Ia-молекулы МНС самого тимуса и обеспечение, таким образом, способности этой категории Т-клеток распознавать антигены в комплексе с Ia-молекулами не их собственного генотипа, а клеток стромы тимуса. Напротив, другие субклассы, распознающие молекулы МНС класса I (интактные аллогенные или модифицированные сингенные), дифференцируются главным образом вне тимуса, причем их компетентность, разнообразие репертуара, генетическая рестрикция по определенным продуктам МНС и толерантность к собственным белкам возникают до их проникновения в тимус, определяются их собственными *germ line* генами и не зависят от фенотипа тимуса.

Функция тимуса в этом случае состоит, по-видимому, в размножении прекомитированных претимоцитов, что сопровождается увеличением разнообразия и тонкой перекрестной специфичности ЦТЛ. В частности, в отсутствие тимуса — у ЦТЛ мышей *pude*, индуцированных аллоантигенами, — ПР к "посторонним" аллоантигенам или ассоциированным с ТНФ сингенным молекулам H-2K/D значительно снижена по сравнению с ЦТЛ обычных мышей. Кроме того, у мышей *pude*, иммунизированных ТНФ в комплексе с сингенными клетками, отсутствует выявляемое у обычных мышей количественное преобладание ЦТЛ, рестриктированных по H-2K, по сравнению с ЦТЛ, рестриктированными по H-2D [895]. Возникновение этих особенностей специфичности рецепторов ЦТЛ обычных мышей в тимусе следует из того, что они выявляются при иммунизации в МЛС не только клеток селезенки, но и самого тимуса (в присутствии ИЛ-2) [902]. Еще одна функция тимуса, связанная с дифференцировкой пЦТЛ, состоит, как выше указывалось, в возникновении малой внутритимусной популяции пЦТЛ, распознающих чужеродные антигены в контексте белков H-2K/D тимусного гаплотипа.

II.5. Миграция клеток

из тимуса и их посттимическая дифференцировка

Созревающие в медуллярной зоне тимуса две категории Т-клеток — $Ly1$ ($L3T4^+$) и $Ly23$ мыши, $T4/Leu3$ и $T8/Leu2$ человека — мигрируют из тимуса и заселяют лимфоидную ткань не только вскоре после рождения, но и у взрослых животных. Этот факт установлен экспериментально: часть тимоцитов мышей, меченных *in situ* путем введения в тимус ФИТЦ, покидает тимус в течение 3 ч и выявляется в крови, лимфоузлах и селезенке [1813]. Из тимуса мигрирует 1% клеток ($2 \cdot 10^6$) в сутки, около 70% кото-

рых — зрелые Т-лимфоциты Ly1, около 30% — клетки Ly123 и лишь 1—2% — клетки Ly23. Поскольку не более 2—4% мигрантов несут маркеры незрелых тимоцитов (ThB, рецептор к РНА и высокое содержание Thy-1), очевидно, что основная масса клеток, мигрирующих из тимуса взрослых животных, — зрелые Т-клетки медуллярной зоны [1814]. В связи с этим отобранные из лимфоузлов ФИТЦ-меченные мигранты тимуса не отличаются от остальных Т-клеток по частоте пЦТЛ и пролиферативной реакции в MLC [1815], хотя некоторые маркеры медуллярных тимоцитов исчезают после их оседания в лимфоузлах [1816].

По-видимому, иная картина наблюдается при миграции клеток из тимуса новорожденных, в котором отсутствуют клетки с фенотипом зрелых тимоцитов [753]. В первые 5 дней жизни селезенка и лимфоузлы мыши заселяются незрелыми тимоцитами, несущими рецепторы к РНА и фенотип $\text{Lyt-1}^+2^+3^+$, имеющими такую же высокую митотическую активность, как кортикальные тимоциты (11—12% клеток в S-фазе) и низкую иммунокомпетентность [1597]. Изучение последней показало, что она развивается в первые дни жизни асинхронно в разных субклассах Т-клеток и в разных лимфоидных органах.

Если в тимусе мышей некоторых линий способность пролиферировать и генерировать ЦТЛ в реакции на аллоантигены как в MLC *in vitro*, так и в РТПХ *in vivo* полностью развивается в течение нескольких часов после рождения [688, 2229], то в селезенке и другой периферической лимфоидной ткани это развитие существенно задерживается. В любом случае способность пролиферировать в MLC возникает раньше — в первые 3 дня жизни мыши [688, 2260] и после 12-й недели эмбрионального развития человека [713], — чем генерировать ЦТЛ — на 5—7-й день жизни мыши и после 28 недель эмбриогенеза у человека. Хотя между 2-й и 3-й неделями жизни способность генерировать ЦТЛ к аллоантигенам достигает у мыши уровня взрослого животного, та же функция по отношению к ассоциированным с гаптенами сингенным молекулам H-2 только начинает появляться в этот период и достигает максимума лишь в возрасте 4—6 недель [1982]. Такая задержка в развитии способности образовывать ЦТЛ (так же, как антитела), специфичные к чужеродным антигенам, связана с медленным созревaniem Т-клеток хелперной группы, которые производят ИЛ-2 и другие факторы, способствующие антигензависимой дифференцировке пЦТЛ и В-лимфоцитов (гл. III.3).

Особенно интересно, что в селезенке 2-недельных мышей, содержащей лишь 5—10% Thy-1^+ клеток (по сравнению с 30% у взрослых), выявляется полный набор клеток взрослых мышей с фенотипами Ly1, Ly23, Ly123 [753]. Эти данные, так же как полноценное созревание Т-клеток у мышей, тимэктомированных в возрасте 5 дней (когда лимфоидная ткань, как выше указывалось, заселена только незрелыми потомками тимуса), означают, что Т-клетки дозревают в лимфоидной ткани вне тимуса и

без участия его гормонов [1597]. Зависимость такого "дозревания" от присутствия тимуса в первые дни жизни может быть не идентичной для разных функций Т-клеток: тимэктомия, произведенная до 3-го дня жизни, не уменьшает способность Т-клеток селезенки взрослой мыши пролиферировать, но угнетает их способность генерировать ЦТЛ при реакции на аллоантигены в МЛС (обе функции сохраняются при тимэктомии на 7-й день жизни) [1000].

Тот же процесс тимуснезависимой дифференцировки Т-клеток происходит в селезенке не только в постнатальном периоде, но и у взрослых животных. Об этом свидетельствует группа фактов: нарастающая с возрастом дифференцировка Т-клеток мышей *pude* (гл. II.4.3); обнаружение в селезенке множества категорий пЦТЛ, отсутствующих в тимусе, поскольку в отличие от пЦТЛ тимуса, рестриктированных к антигенам H-2K/D только самого тимуса, пЦТЛ селезенки не имеют этого ограничения (гл. II.4.7); регенерация пЦТЛ селезенки (после введения мышам циклофосфамида), специфичных как к аллогенным, так и к ассоциированным с гаптенем сингенным антигенам H-2 и возникающих (хотя и с разной скоростью) в отсутствие тимуса и без функционирования костного мозга [1869]; способность пЦТЛ с разнообразным репертуаром и обычной рестрикцией по антигенам H-2 класса I возникать в отсутствие тимуса из единичной Т-клетки-предшественника, потомки которой образуют колонии *in vitro* (гл. II.4.8). Последний факт указывает на то, что внетимусное созревание пЦТЛ, связанное с функцией их *germ-line* генов, не требует воздействия антигенов.

Следует полагать, что реализации этой функции, т. е. обеспечению посттимической (независимой от тимуса) дифференцировки Т-клеток способствует (хотя и не обязательно — у мышей *pude*) некий «дифференцировочный сигнал», ранее полученный клетками при их пребывании в тимусе. Природа этого сигнала остается неисследованной. Во всяком случае, становится очевидным, что тимус покидают не только созревшие Т-лимфоциты, но и их незрелые предшественники, которые при этом не погибают, а заселяют лимфоидную ткань, выполняя в ней определенные функции (такая возможность, по-видимому, возникает для малой доли созревающих в кортикальной зоне тимоцитов, которые экспрессируют рецепторы, ответственные за прикрепление к эндотелию посткапиллярных венул [577]). Этот процесс происходит не только в первые дни постнатального периода, но и в течение всей жизни, хотя его интенсивность с возрастом снижается. Клетки такого типа (незрелые потомки тимуса) получили название ПТП — посттимические предшественники, а их главное функциональное отличие от других Т-клеток взрослых животных — способность подвергаться дальнейшей дифференцировке под влиянием гормонов тимуса [1980].

В табл. 23 представлены данные о физических, антигенных и функциональных свойствах ПТП мыши [1981, 1622, 2288] и че-

Таблица 23
Характеристика ПТП мыши и человека

Свойства и маркеры	Мышь	Человек
Маркеры Т-клеток универсальные специальные рецептор к РНА * ¹	Thy-1 ⁺ Lyt-1 ⁺ 2 ⁺ 3 ⁺ ?	Е-розетки * T4 ⁺ T8 ⁺ +
Чувствительность in vivo к гидрокортизону циклофосфамиду АЛС	+ + —	+ ? ?
Локализация	Селезенка, Костный мозг	Кровь
Зависимость от возраста присутствия тимуса * ² эффекта тимусных факторов * ⁴	+ + +	+ ? +
Реактивность к ФГА алло-MLC к Кон А	— — +	? ± +
Функция	Предшественники супрессоров * ³	
Методы очистки ПТП		
Ауторозетки	+	+
Прикрепление к нейлоновой вате	+	+
Рецептор к Fc-фрагменту Ig	—	—
Плотность в градиенте альбумина	Низкая	?
Спонтанное осаждение	5,8 мм/ч	?

* ПТП образуют высокоаффинные розетки с эритроцитами барана.

** ПТП не выявляются у мышей nude и исчезают через 60 дней после тимэктомии взрослых мышей.

*** ПТП, активированные Кон А или в ауто MLC, подавляют синтез Ig, образование антител и пролиферацию Т- и В-лимфоцитов.

*** Свойства незрелых тимоцитов.

ловека [1542, 1104, 1753], которые, во-первых, характеризуют ПТП как прошедшие через тимус незрелые, короткоживущие лимфоциты, высоко зависимые от тимусных факторов, во-вторых, позволяют отделить их от других Т-клеток, и, в-третьих, оценить их функциональное значение в иммунитете.

Тимусное происхождение ПТП следует из того, что они не выявляются у мышей nude и несут общие маркеры Т-клеток, возникающие только в тимусе — Thy-1 у мыши, и высокоаффинные рецепторы к эритроцитам барана у человека. Присутствие на ПТП рецепторов к РНА, трех Lyt-маркеров (Lyt-1⁺2⁺3⁺) мыши

и обоих маркеров Т4 и Т8 человека означает, что эти клетки произошли непосредственно из незрелых тимоцитов кортикальной зоны, где маркеры экспрессированы на одной и той же клетке (гл. II.3.2). Другие свойства ПТП также указывают на то, что они представляют собой незрелые, короткоживущие, нециркулирующие лимфоциты: высокая чувствительность к гидрокортизону и циклофосфамиду, полное их исчезновение через 2 месяца после тимэктомии взрослых мышей, преимущественная локализация у мышей в селезенке и костном мозге и нечувствительность к однократной инъекции мышам АЛС, которая элиминирует только рециркулирующие в кровотоке лимфоидные клетки.

У человека ПТП составляют 5—9% лимфоцитов крови и могут быть отделены от других лимфоцитов за счет их способности образовывать розетки с аутологичными эритроцитами (природа рецепторов к аутоэритроцитам и распознаваемых ими детерминант остается невыясненной). Кроме того, совокупность таких качеств, как способность прикрепляться к нейлоновой вате, отсутствие экспрессии рецепторов к Fc-фрагменту Ig (FcR), большой диаметр и низкая плотность в градиенте альбумина позволяет отделить ПТП от других Т-клеток без использования метода ауторозеток.

Использование этих методов позволило ввести очищенные ПТП с хромосомным маркером мышей СВAT6T6 неонатально тимэктомированным сингенным мышам, не несущим этот маркер, и показать, что при условии подсадки тем же реципиентам тимуса, заключенного в непроницаемую для клеток диффузионную камеру, ПТП донора в течение 40 дней дифференцируются в клетки Ly1 и Ly23 и приобретают способность пролиферировать в реакции на ФГА и аллоантигены в MLC [1981]. Такая же чувствительность ПТП человека к FTS (гл. II.3) была продемонстрирована *in vitro*: инкубация с этим фактором вызывала пролиферацию ПТП, их функциональное созревание и экспрессию на их поверхности FcR [1542].

Наиболее существенно, что ПТП, созревающие под действием не только факторов тимуса, но также Кон А у мышей [1622, 2288] и человека [1753] или аутологичных Ia-антигенов в MLC [1104], оказывают мощный супрессивный эффект в реакциях *in vitro*: подавляют пролиферацию других Т- и В-клеток на митогены и аллоантигены, а также синтез Ig и антител В-лимфоцитами [возникновение таких супрессоров из ПТП не требует синтеза ДНК, а сами супрессоры могут быть отделены от хелперов, образованных в тех же условиях (гл. IV.2.3)]. Способность ПТП регулировать иммунный ответ *in vivo* путем подавления функции Т-хелперов приводит к тому, что сильное снижение концентрации ПТП у мышей NZB [321] или больных волчанкой [1542] сопровождается развитием аутоиммунных процессов (введение тимусных факторов восстанавливает концентрацию ПТП, что коррелирует с лечебным эффектом при аутоиммунных заболеваниях). По-видимому, интенсивная миграция из тимуса именно этих не-

зрелых Т-клеток в первые часы и дни после рождения обуславливает неспецифические супрессорные эффекты клеток селезенки новорожденных, которые снижаются в течение 1—2 недель жизни (гл. IV.2.2). Напротив, инволюция тимуса с возрастом, приводящая к снижению концентрации выделяемых им сывороточных факторов, уменьшает возможность дифференцировки ПТП, что сопровождается нарушением иммунорегуляции и возникновением аутоиммунных процессов при старении [1980, 2174].

* * *

Таким образом, идентифицированы дискретные этапы дифференцировки Т-лимфоцитов из СКК, частично изучены свойства и разнообразие клеток-предшественников на каждом из этих этапов, позволяющие отделять варианты клеток друг от друга, выявлять направления дифференцировки каждого из них и их влияния на этот процесс. С помощью гибридом, синтезирующих МкАТ, описаны маркеры и факторы дифференцировки, позволяющие моделировать некоторые ее фазы *in vitro*. Последовательная смена экспрессии таких маркеров дает возможность не только проследить за ходом созревания Т-клеток, но и в перспективе оказать на него направленное воздействие с помощью МкАТ. Новые экспериментальные подходы позволили получить первые данные о механизмах тропности к тимусу соответствующих предшественников и об изменении их поведения в зависимости от конкретных условий.

Очистка множества факторов, продуцированных эпителием тимуса, в сочетании с созданием радиационных химер привела к выяснению вопросов о том, каков механизм обратной связи между тимусом и костным мозгом, какие именно факторы микроокружения обеспечивают каждый из этапов дифференцировки клеток в кортикальной и медуллярной зонах тимуса, каким образом возникновение иммунокомпетентности связано с проникновением клеток в медуллярную зону и даже каковы закономерности пост-тимической дифференцировки в периферической лимфоидной ткани.

Данные указывают на то, что кортикальные и медуллярные тимоциты могут дифференцироваться независимо друг от друга из соответствующих неидентичных предшественников костного мозга, и обе категории созревающих тимоцитов дают начало разным субклассам периферических Т-лимфоцитов. Более того, получены экспериментальные результаты, касающиеся главной проблемы антигеннезависимой дифференцировки Т-клеток, которая ранее была объектом только умозрительных гипотез: на каких этапах возникают и чем обусловлены иммунокомпетентность и толерантность разных субклассов Т-лимфоцитов и разнообразие их репертуара, генетическая рестрикция их реакций на чужеродные антигены, ассоциированные с продуктами комплекса H-2, а также каким образом сами эти продукты (в первую очередь

(а-молекулы), экспрессированные на клетках стромы тимуса и вне тимуса, оказывают влияние на все эти процессы.

Выявлено уникальное событие, происходящее только внутри тимуса: вопреки традиционным представлениям о возникновении иммунологической толерантности к собственным белкам, в части созревающих в тимусе лимфоцитов имеет место обратное явление — аутореактивность к I-A молекуле (продукту МНС класса II), экспрессированной на макрофагальных клетках тимуса. Следствие этого явления — возникновение способности зрелых (покинувших тимус) Т-клеток хелперной природы реагировать на чужеродные антигены только при условии их ассоциации с I-A молекулой именно того фенотипа, в окружении которого данные Т-клетки созревали, независимо от его совпадения с генотипом самих Т-клеток. Этот феномен «адаптивной дифференцировки» имеет важнейшие следствия: а) для реактивности других лимфоидных (Т- и В-)клеток, зависимых от Т-клеток хелперной группы (в частности, пЦТЛ), даже если дифференцировка их самих, в отличие от Т-хелперов, не зависит от фенотипа МНС стромы тимуса; б) для возникновения реактивности или ареактивности к данному антигену, т. е. реализации функции Ig-генов. Выяснение молекулярных механизмов возникновения рецепторов к аутологичным и аллогенным продуктам МНС на разных субпопуляциях созревающих в тимусе и вне тимуса Т-лимфоцитов сыграет ключевую роль в понимании клонального разнообразия Т-клеток и их генетической рестрикции при распознавании чужеродных антигенов.

III

ГЛАВА

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ Т-ЛИМФОЦИТАМИ В ХОДЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО РАСПОЗНАВАНИЯ

Задача настоящей главы — систематизировать факты, связанные с достижениями последних лет в изучении основ межклеточной кооперации на самых ранних этапах узнавания чужеродного антигена (при использовании современных экспериментальных моделей), а также механизмов антигензависимой дифференцировки основных субклассов Т-лимфоцитов. Рассматриваются биологические и медицинские следствия этих процессов и возможные перспективы их дальнейших исследований.

III.1. Главные положения системы сцепленного распознавания антигенов

Основные открытия в этой области можно суммировать следующим образом. 1. **Что распознается:** объектом распознавания является не сама молекула антигена, т. е. не только определенные ее участки (эпитопы), а комплекс данного эпитопа с определенным собственным продуктом МНС на поверхности клеток распознающего антиген организма. Существуют по меньшей мере два типа объектов, распознавание каждого из которых осуществляется по своим законам: один из них включает продукты МНС класса I (молекулы H-2K/D/L мыши и HLA-A/B/C человека), а другой — класса II (молекулы Ia мыши и HLA-D человека).

2. **Кем распознается:** указанные комплексы чужеродного антигена с молекулами МНС классов I и II распознаются не одной, а по меньшей мере тремя категориями Т-лимфоцитов, которые могут быть отделены одна от другой с помощью антител к маркерам Lyt и L3T4 (гл. II.4.2). Одна из них — Ly1 (фенотип Lyt-1⁺⁺2⁻3⁻, L3T4⁺), другая — Ly2 (Lyt-2⁺, L3T4⁻), которая также делится на две категории: Ly123 (Lyt-1⁺2⁺3⁺) и Ly23 (Lyt-1[±]2⁺3⁺). В действительности каждая из этих категорий Т-клеток неоднородна (их функциональные варианты описаны ниже).

3. **Каскад дифференцировки.** Категории Т-лимфоцитов выполняют неидентичные функции в ходе реакции на антиген: одни из них приобретают способность секретировать гуморальные медиаторы (лимфокины), необходимые для дифференцировки определенного типа клеток, выполняя таким образом функции помощников (обозначаются амплифайерами или хелперами Т-Т,

хелперами Т-В, индукторами); в большинстве экспериментальных систем эти функции выполняются клетками Ly1, которые приобретают чувствительность к секретируемым ими лимфокинам. Ранние этапы дифференцировки других категорий Т-клеток под действием антигена связаны с приобретением ими чувствительности к лимфокинам, ответственным за следующие этапы их дифференцировки — возникновение эффекторных Т-лимфоцитов, в частности, ЦТЛ. Во многих системах мишенью для таких лимфокинов являются клетки Ly123.

4. Средства дифференцировки и пролиферации лимфоцитов при их реакции на антиген — лимфокины, синтезированные Т-клетками хелперной группы, а также факторы, синтезированные А-клетками. Они имеют две главные особенности. А. Их действие на лимфоциты не связано со специфичностью последних к антигену: условием для эффекта лимфокина является его контакт с соответствующим рецептором на поверхности лимфоцита независимо от того, к какому антигену специфичен данный лимфоцит. Это означает, что, несмотря на высокую специфичность каждого клона лимфоцитов к определенному антигену (обусловленную антигенсвязывающими рецепторами, гл. V), их дифференцировка в ходе реакции на антиген реализуется неспецифическим механизмом. Б. Функция лимфокина, независимая от антигенной специфичности лимфоцитов, специализирована: каждый из лимфокинов вызывает только один эффект — либо пролиферацию, либо дифференцировку. Объектом их действия могут быть любые активированные клетки или только одна популяция (Т-амплифайеры, ЦТЛ, В-клетки, синтезирующие Ig данного класса, МФ) в зависимости от экспрессии на их поверхности рецептора к данному лимфокину.

5. Необходимое условие каскада дифференцировки Т-лимфоцитов при распознавании антигена — присутствие специальной категории макрофагоподобных нелимфоидных А-клеток, быстро прилипающих к разнообразным поверхностям, радиорезистентных, лишенных маркера Thy-1 и Ig, но несущих Ia-белок (фенотип Thy-1⁻, Ig⁻, Ia⁺). Избирательное удаление А-клеток отменяет весь процесс иммунологического распознавания.

6. Регуляция этого процесса: специальные категории клеток — Т-супрессоры, МФ и др. — останавливают или ограничивают каскад антигензависимой дифференцировки на разных его этапах, причем в каждом случае это ограничение связано с определенным молекулярным механизмом.

В основе шести указанных положений лежит способность Т-лимфоцита выполнять одновременно две функции — узнавать данную молекулу как чужеродную и обеспечивать межклеточную кооперацию, т. е. реагировать на мембранные продукты МНС иных клеток собственного организма. В связи с этим молекулы МНС обозначаются как «рестриктивный элемент», т. е. фактор, ограничивающий распознавание антигена. Исключением из громадного набора чужеродных антигенов являются аллогенные

продукты тех же двух классов МНС, которые могут быть распознаны сами по себе, т. е. без ассоциации с продуктами МНС хозяина. Кроме того, не только собственные (сингенные), но и аллогенные молекулы H-2K/D могут служить рестриктивным элементом для распознавания какой-либо иной чужеродной структуры — в том случае, когда эта структура представлена на поверхности аллогенных по отношению к реципиенту клеток, где она уже ассоциирована с аллогенным продуктом МНС [1958].

Независимо от того, реагируют ли на чужеродную молекулу и продукт МНС один или два рецептора данного Т-лимфоцита (гл. V.4.5), обе эти структуры распознаются только вместе: сцепленное распознавание, которое является уникальным свойством Т-клеток.

Этот факт установлен с помощью разных подходов в отношении как Т-хелперов, так и ЦТЛ мыши, рестриктированных соответственно по молекулам I-A и H-2K/D. В частности, ЦТЛ мыши, специфичные к вирусу Сендай, могут лизировать клетки лимфомы, лишенные молекул H-2, при условии, что в плазматическую мембрану мишеней инкорпорированы липосомы, в структуру которых включены два типа молекул: H-2K^k и ГА+нейраминидаза вируса Сендай. Поскольку при использовании смеси липосом, содержащих в отдельности молекулы H-2K^k и вируса, КМ не лизируются [764], очевидно, что ЦТЛ, специфичные к белкам вируса Сендай, могут их распознавать (и убить инфицированную тем же вирусом клетку) только при условии тесного разморасположения на мембране КМ белков вируса и соответствующей молекулы H-2.

Сходные данные были получены при использовании не ЦТЛ, а предшественников вторичных ЦТЛ (пЦТЛ-2°) — Т-клеток памяти, иммунных к вирусам везикулярного стоматита [1210] или герпеса [1150]. В обоих случаях эти клетки, лишенные цитотоксической активности, генерировали ЦТЛ в результате культивирования *in vitro* с двумя белками — данного вируса и соответствующей молекулы H-2, — если они были включены в одни и те же, но не в разные липосомы, что указывало на сцепленное распознавание Т-клетками этих двух молекул. Полученные при этом специфичные к вирусу вторичные ЦТЛ (ЦТЛ-2°) гибридов F₁(P₁ × P₂) лизировали инфицированные тем же вирусом КМ только той из родительских линий (P₁ или P₂), чей антиген H-2 был инкорпорирован в липосомы, активирующие *in vitro* пЦТЛ-2° гибрида F₁. Подобный феномен воспроизведен при пролиферативной реакции клона Т-хелперов, специфичных к овальбумину в комплексе с сингенной Ia-молекулой, на интактную молекулу овальбумина, если она интегрирована в синтетическую липидную везикулу вместе с соответствующей Ia-молекулой [2170].

Еще более прямое доказательство сцепленного распознавания двух молекул — чужеродного белка и собственной Ia-молекулы — получено с помощью клонированных линий Т-хелперов, продуцирующих ИЛ-2. Из двух таких клонов один реагировал

(образовывал ИЛ-2) на комплекс овальбумина (ОВА) с $I-A^k$, а другой — на комплекс гемоцианина (ГЦ) с $I-A'$ (в обоих случаях ОВА и ГЦ были представлены Т-хелперам на поверхности МФ, несущих молекулы $I-A^k$ и $I-A'$ соответственно). После слияния этих двух клонов между собой с помощью Т-гибридомы как промежуточного этапа была получена комплексная Т-гибридома, которая реагировала (продуцировала ИЛ-2) на оба указанных комплекса — ОВА/ $I-A^k$ и ГЦ/ $I-A'$. Однако при перестановке компонентов в этих комплексах — ОВА/ $I-A'$ и ГЦ/ $I-A^k$ — никакой реакции не наблюдалось [986]. Этот результат полностью воспроизвелся при гибридизации двух клонов ЦТЛ, специфичных к разным гаптенам, каждый из которых распознавался родительским клоном в ассоциации с определенной молекулой МНС класса I (K^k или D^d) [755].

Принципиально важно, что подобные результаты получены с помощью иного подхода: белковые экстракты двух клонов ЦТЛ, один из которых специфичен к комплексу антигена Н-У с $H-2^b$, а другой — к комплексу вируса лейкемии Молони (ВЛМ) с $H-2^d$, были введены с помощью липосом в мембрану постороннего клона. Двойная специфичность — к Н-У и ВЛМ, возникающая в этом клонированном «ЦТЛ-реципиенте», полностью сохраняла исходную рестрикцию — соответственно по $H-2^b$ и $H-2^d$ [795]. Совокупность этих данных однозначно указывает на отсутствие двух независимых рецепторов на Т-клетке и на возможность для Т-хелперов и ЦТЛ реагировать на антиген только при условии одновременного распознавания сцепленной с этим антигеном определенной молекулы МНС.

Необходимость ассоциации антиген—МНС может быть преодолена искусственно — при использовании антигена (или гаптена) в мультивалентной форме: множество (300—800) идентичных, пространственно разобщенных детерминант флуоресцеина (ФЛ), прикрепленных к структуре полимера, специфически связывается с клоном ЦТЛ анти-ФЛ (и активирует его функцию), по-видимому, за счет резкой стимуляции авидности связывания Т-рецепторов с чистым гаптеном [1871a].

III.2. Т-амплифайеры, предшественники ЦТЛ и их взаимодействие при распознавании антигенов

III.2.1. Экспериментальные системы и кинетика взаимодействия

В отличие от относительно однородной по своим биологическим свойствам популяции В-клеток, субклассы Т-лимфоцитов разнообразны; неоднородность каждого из них обусловлена множеством выполняемых ими функций, каждая из которых реализуется с помощью специального (обычно довольно сложного) механизма (гл. IV.2.5.5 и IV.3.3). Возникновение этих Т-субклассов является результатом антигензависимой дифференцировки, происходящей одновременно в нескольких категориях Т-лимфоцитов. В соответствии с первоначальной гипотезой [1641] менее зрелая

клетка T_1 и более зрелая T_2 функционально не равнозначны: одна из них (T_2) запускает (инициирует) реакцию, а другая (T_1) вовлекается в нее и дифференцируется в эффекторную клетку, реализующую соответствующую функцию.

При изучении первичного распознавания аллоантигенов в РТПХ *in vivo* данные соответствовали указанной гипотезе: клетки-индукторы T_2 долго живут (сохраняются через 6—8 недель после тимэктомии взрослых мышей), рециркулируют (элиминируются одной инъекцией мышам малой дозы АТС), содержат мало антигена Thy-1 и имеют наиболее высокую электрофоретическую подвижность. Напротив, клетки T_1 — короткоживущие, не рециркулируют, содержат много Thy-1 и отличаются меньшим зарядом клеточной поверхности. Эти различия позволяют разделить клетки T_1 от T_2 с помощью электрофореза [74], флуоресцентного сортера [319] за счет разной интенсивности связывания меченых анти-Thy-1 антител или однократного введения *in vivo* малой дозы АТС [117]. Однако в дальнейших исследованиях распределение указанного набора свойств, различающих клетки T_1 и T_2 , не воспроизводилось в регуляторных и эффекторных субклассах Т-лимфоцитов, распознающих антигены в реакциях *in vitro*.

Наибольший вклад в исследование соотношений и механизмов взаимодействия между регуляторной и эффекторной категориями Т-клеток в ходе первичного иммунологического распознавания внесла (и продолжает вносить) модель этого процесса в МЛС [814, 861]. Оказалось, что инкубация смеси лимфоидных клеток двух линий мышей, различающихся только продуктами МНС, приводит к распознаванию Т-лимфоцитами аллоантигенов, которое можно измерить, объективно оценить и даже расчленить на отдельные этапы качественно различающихся процессов.

Для этого необходимо, чтобы реакция в МЛС была однонаправленной: если одна из популяций клеток инактивирована облучением или митомицином С (МС), она теряет способность реагировать, но сохраняет способность стимулировать реакцию второй (интактной) популяции клеток. Таким образом, один из компонентов смеси представляет собой клетки-стимуляторы, а второй — реагирующие лимфоциты. Эта реакция была полностью воспроизведена у человека — при смешивании в культуре лимфоцитов двух особей [1199].

Первичное распознавание аллоантигенов клетками-стимуляторами реагирующими Т-лимфоцитами проявляется в МЛС в виде по меньшей мере двух реакций: трансформации в бласты с последующей пролиферацией (оценивается по включению ^3H -тимидина) и образования специфичных ЦТЛ, лизирующих КМ. Активность ЦТЛ оценивается по освобождению изотопа (как правило, ^{51}Cr) из предварительно меченых КМ после их инкубации с ЦТЛ, а специфичность эффекта ЦТЛ — по разрушению КМ того генотипа Н-2, который был представлен на стимулирующих клетках в МЛС [1240]. Кинетика двух указанных реакций не идентична: пролиферация начинается в конце первых суток и достигает пика на 4-й день культивирования, тогда как ЦТЛ

обнаруживаются к концу 2-х суток, а их активность достигает максимума лишь к 5—6-му дню [2154, 1466].

Позднее столь же специфичные ЦТЛ были идентифицированы при первичном иммунном ответе в MLC мыши, если в качестве стимуляторов использовали не аллогенные, а сингенные клетки, ассоциированные с гаптенем [1835], вирусами SV40 [2185], экстромелии, лимфоцитарного хориоменингита [216], Сендай [1797], а также клетки сингенной опухоли — плазмацитомы [2155] или саркомы [974].

Все эти данные были воспроизведены в первичной MLC человека, если в качестве стимуляторов использовали сингенные клетки, ассоциированные с гаптенем [606], вирусами гриппа [1327], Эпштейна — Барр [1420] или герпеса [239], а также клетки сингенных опухолей — лейкемии [1006], меланомы [693] и др. [1829].

При изучении соотношения между синтезом ДНК и генерацией ЦТЛ оказалось, что первый процесс необходим для развития второго в течение короткого промежутка времени — главным образом между 24 и 48 ч культивирования, а в наибольшей степени — в интервале от 36 до 42 ч, т. е. в течение лишь 6 ч. Эти факты, основанные на отмене генерации ЦТЛ при подавлении синтеза ДНК в MLC бромдезоксимуридином и светом [374], оксимочевинной [1466] или высокометеченным ³H-тимидином [315, 1564], означали, что для «массовой» дифференцировки всех пЦТЛ необходим лишь один пролиферативный цикл именно в этих клетках, а не в иных Т-лимфоцитах, присутствующих в популяции реагирующих клеток.

Такое заключение следовало из того, что пЦТЛ, предварительно отделенные от остальных пролиферирующих в MLC Т-лимфоцитов (с помощью адсорбции на монослое соответствующих КМ), были элиминированы высокометеченным ³H-тимидином, добавленным в данную MLC; при этом пЦТЛ иной специфичности, способные реагировать на антигены стимуляторов, отсутствующих в данной MLC, сохранялись. Напротив, способность амплифайеров, также присутствующих в популяции реагирующих лимфоцитов, помогать дифференцировке пЦТЛ, не требует синтеза ДНК, поскольку их функция не подавляется облучением [1599] или МС [1497].

Хотя, таким образом, один пролиферативный цикл пЦТЛ необходим для их массовой дифференцировки, можно думать, что начальный этап этой дифференцировки вовсе не требует синтеза ДНК, поскольку ингибиторы пролиферации, присутствуя в MLC только в течение первых суток, не влияют на генерацию ЦТЛ. Действительно, образование наиболее ранних ЦТЛ к концу первого дня MLC (такое ускорение генерации ЦТЛ достигалось при удалении из суспензии реагирующих клеток избытка МФ, тормозящих реакцию) не ингибировалось цитозинарабинозидом и оксимочевинной, которые полностью блокировали и синтез ДНК, и образование тех же ЦТЛ в более поздние сроки MLC

[1243]. Данные указывают на то, что для дифференцировки малой («ранней») доли ЦТЛ в MLC их пролиферация не нужна, по-видимому, благодаря помощи других лимфоцитов¹.

III.2.2. Разграничение хелперных и эффекторных Т-лимфоцитов с помощью Lyt-маркеров и стабильных клеточных линий

Присутствие независимых Т-субклассов в популяции реагирующих в первичной MLC клеток и реакция каждого из них на антигены стимуляторов четко установлены с помощью мембранных Lyt-маркеров.

Для разделения трех Т-субклассов — Ly1, Ly123 и Ly23, составляющих соответственно 30—35, 50 и около 10% Т-клеток селезенки (табл. 24), используются несколько способов, основанных на обработке клеток антителами к каждому из Lyt-антигенов. 1. Отрицательная селекция — элиминация клеток Ly1 или Ly23 с помощью обработки в присутствии комплемента антителами к Lyt-1 или Lyt-2; поскольку клетки Ly123 элиминируются в обоих случаях, смесь двух обработанных суспензий отличается от интактной популяции Т-лимфоцитов отсутствием только клеток Ly123, что позволяет выяснять функциональную роль последней категории клеток при сопоставлении активности смеси клеток Ly1 и Ly23 с интактной популяцией [1034]. 2. Положительная селекция — разделение клеток Lyt-2⁻ и Lyt-2⁺, а затем клеток Lyt-2⁺ на Ly123 и Ly23 с помощью флуоресцентного сортера [1155] или «пэннинга» — избирательного прикрепления субпопуляции Т-лимфоцитов, покрытой соответствующими анти-Lyt-антителами, ко дну пластиковой чашки, покрытому антителами к Ig мыши [1256].

Таблица 24

Распределение Lyt-антигенов в субпопуляциях Т-лимфоцитов

Наличие Lyt-2	Категория Т-клеток	Фенотип Lyt-антигенов	Доля Т-клеток в селезенке, %
Lyt-2 ⁻	Ly1	Lyt-1 ⁺⁺ 2 ⁻ 3 ⁻	30—35
Lyt-2 ⁺	Ly123	Lyt-1 ⁺ 2 ⁺ 3 ⁺	50
Lyt-2 ⁺	Ly23	Lyt-1 [±] 2 ⁺ 3 ⁺	10—15

3. Использование смеси клеток, несущих разные аллели данного Lyt-антигена. Например, интактные Т-клетки первого аллеля (смесь клеток Lyt-1.1; 2.1; 3.1) смешиваются с селектированными клетками второго аллеля Lyt-2.2; последующая идентификация аллеля Lyt-антигена данной эффекторной субпопуляции позволяет выяснить, какой из компонентов смеси послужил ее предшественником [1878].

Помимо обработки антителами, для выяснения функциональной роли каждой из «Ly-субпопуляций» был использован метод получения стабильных линий Т-клеток и их клонов, несущих только один из Lyt-фенотипов (см. ниже). Кроме того, поскольку почти все кортикальные тимоциты содержат три Lyt-антигена и в отличие от медуллярных тимоцитов несут рецептор к РНА,

¹ Существенные различия условий дифференцировки и свойств ЦТЛ в зависимости от их активации антигеном *in vivo* или в MLC описаны в гл. IV.3.

клетки тимуса Ly123 могут быть отделены от остальных тимоцитов с помощью обработки PNA, как это описано в гл. II.4.1.

Хотя из табл. 24 видно, что 100% Т-лимфоцитов несут антиген Lyt-1 (установлено с помощью флуоресцентного сортера), количественная экспрессия Lyt-1 настолько варьирует, что не более 75% содержащих этот антиген лимфоцитов могут быть убиты анти Lyt-1 антителами в присутствии комплемента. Это позволяет отделять субпопуляцию Ly23, резистентную к анти Lyt-1 антителам, от большей части остальных Т-лимфоцитов [1155, 338].

После проведения селекции иммунных Т-лимфоцитов, активированных аллоантигенами в MLC, оказалось, что разные Ly-субпопуляции функционально неравнозначны. В табл. 25 суммированы данные, полученные при активации Т-лимфоцитов селезенки или лимфоузлов стимуляторами, которые отличаются от реагирующих лимфоцитов по всему комплексу MHC [316, 65, 2060, 789, 1708, 338, 1444, 2139, 1878, 1879]. Можно видеть, что хотя почти вся пролиферация обусловлена иммунными клетками Ly1 (клетки Ly123 пролиферируют слабо, а клетки Ly23 не пролиферируют вовсе), вся цитотоксическая активность, напротив, осуществляется клетками Lyt-2⁺ (Ly123 и Ly23), тогда как клетки Ly1 не являются ЦТЛ. Из табл. 25 видно, что доля участия клеток Ly23 в цитотоксической активности может быть выше, чем клеток Ly123, судя по большей степени инактивации ЦТЛ антителами к Lyt-2, чем к Lyt-1. Только в более поздние сроки MLC (9-й день) пЦТЛ Ly123 превращаются в однородную популяцию Ly23, поскольку их чувствительность к анти-Lyt-1 антителам исчезает [789, 1878].

Такое превращение Ly123→Ly23, по-видимому, не происходит в лимфоцитах мышей линий CBA и DBA/1, Lyt-антигены которых относятся к первому аллелю: все их ЦТЛ несут антигены Lyt-1.1; 2.1; 3.1, т. е. сохраняют фенотип предшественников Ly123 [1862, 1257].

Для изучения фенотипа предшественников двух субпопуляций иммунных Т-клеток — пролиферирующих и пЦТЛ — была проведена селекция (с помощью тех же методов) нормальных реагирующих Т-лимфоцитов перед их введением в культуру. Из табл. 25 видно, что изолированные клетки Ly1 и Ly123 в равной степени синтезируют ДНК при их активации аллоантигенами в MLC, тогда как клетки Ly1 вовсе не генерируют ЦТЛ, а клетки Ly123 выполняют эту функцию очень слабо. Генерация ЦТЛ полностью восстанавливается при смешивании нормальных лимфоцитов Ly1 и Ly123, но, как правило, не восстанавливается в смеси Ly1 и Ly23.

В связи с необходимостью смешивания в MLC клеток Ly1 и Ly123 для образования ЦТЛ была создана концепция о том, что эффекторы ЦТЛ, несущие антиген Lyt-2, дифференцируются из предшественников Ly123 под действием аллоантигенов и при условии помощи клеток-амплифайеров Ly1, которые также активируются аллоантигенами, но при этом в ЦТЛ не превращаются [317]. Эта концепция была в дальнейшем эксперименталь-

Таблица 25

Участие субпопуляций Т-лимфоцитов в реакциях на аллоантигены
в MLC при различиях по всему MHC

Срок разделения Т-клеток	Категория разде- ленных клеток	Доля сохранения функции, % *	
		пролиферация	активность ЦТЛ **
5-й день после MLC	Ly1	60—90	0
	Ly123	10—25	65—80
	Ly23	0	80—100
Непосредственно перед MLC	Ly1	50	0
	Ly123+Ly23	50	2—10
	Ly1+Ly23	50	0—10
	Ly1+Ly123	100	100

* За 100% принимается реакция тотальной популяции (неразделенных) Т-лимфоцитов (оцениваются после 5 дней MLC).

** Измерено по освобождению ^{51}Cr из меченых КМ после их инкубации с ЦТЛ, полученными из 5-дневной MLC.

но подтверждена; были получены клоны стабильных линий каждой из популяций распознающих Т-клеток, выяснена частота этих популяций в лимфоидной ткани, условия возникновения помощи клетками Ly1, механизмы реализации этой помощи.

Важность функции Т-амплифайеров для дифференцировки пЦТЛ продемонстрирована в разных экспериментальных системах. В частности, значительно более слабое образование ЦТЛ при стимуляции реагирующих лимфоцитов в MLC только аллельной молекулой H-2K или H-2D (I-районы идентичны) по сравнению с мутантным вариантом той же молекулы [601, 863, 2261] выявляется, несмотря на то что частота пЦТЛ одинакова в обоих случаях [1602, 2230]. Это различие обусловлено низкой частотой предшественников амплифайеров, реагирующих на аллельные варианты молекулы K/D [1088], что коррелирует с низким уровнем синтеза ДНК и обеспечивает лишь слабую помощь для дифференцировки пЦТЛ.

Сходные данные получены при индукции ЦТЛ комплексом гаптена с сингенными молекулами H-2. В этом случае интенсивное и слабое образование ЦТЛ во вторичной MLC у мышей разных линий также связано с различием не в частоте пЦТЛ, а в активности Т-амплифайеров, индуцированных при первичной иммунизации *in vivo* модифицированными гаптенем сингенными клетками [625].

Генетическая регуляция уровня Т-амплифайеров не определяется MHC: линии мышей, идентичные по MHC, могут иметь высокую и низкую активность Т-амплифайеров [соответственно линии СЗН/He и В10.BR (обе H-2^k) или СЗН.SW и В10 (обе H-2^b)]. Из этих данных следует, что высокая реактивность Т-амплифайеров на комплекс гаптена с продуктами MHC обеспечивается генами, сцепленными не с MHC, а с «генетической основой» линий СЗН, отсутствующей в линиях В10.

Таким образом, функция Т-амплифайеров была установлена при индукции ЦТЛ, специфичных не только к аллоантигенам, но также к вирусам [98, 2162, 105], гаптенам [2162, 625, 1794], минорным Н-антигенам [1650], растворимому бактериальному белку [776]. Во всех этих случаях чужеродный антиген распознавался в ассоциации с продуктом сингенного МНС, а Т-амплифайеры были отделены от пЦТЛ с помощью γ -облучения *in vitro*: дифференцировка пЦТЛ, требующая, как выше указывалось, синтеза ДНК, отменялась после γ -облучения, тогда как функция Т-амплифайеров сохранялась.

Хотя амплифайеры Ly1 способствуют дифференцировке пЦТЛ, они сами в ЦТЛ не превращаются. Происхождение ЦТЛ из клеток Ly123, но не Ly1 установлено с помощью изучения аллелей Lyt-антигенов этих двух типов Т-клеток и стабильности их функциональных различий. В частности, при смешивании клеток, несущих антиген Lyt-1 второго аллеля (Lyt-1.2) и антиген Lyt-2 первого аллеля (Lyt-2.1), ЦТЛ, образовавшиеся в МЛС (Lyt-2⁺), имеют фенотип только Lyt-2.1, т. е. происходят не из клеток Ly1, а из собственных пЦТЛ Lyt-2⁺ [317].

Сходный результат получен с помощью функционального подхода при использовании медуллярных тимоцитов в качестве реагирующих клеток в МЛС: функцию пЦТЛ выполняют только тимоциты Lyt-2⁺ (5% всех тимоцитов), которые превращаются в ЦТЛ в присутствии добавленного извне ИЛ-2, а продуцентом ИЛ-2 служат только тимоциты Lyt-2⁻ (10% всех тимоцитов), которые обеспечивают дифференцировку клонированных пЦТЛ [332]².

Различие Lyt-фенотипа между амплифайерами/хелперами и ЦТЛ четко воспроизводится на клонированных линиях независимо от распознаваемых ими антигенов. В частности, хелперные (амплифайерные) клоны, специфичные к продукту локуса *Mls*³ или I-A молекуле [669, 1436], I-E молекуле [1590], овальбумину [1802] или эритроцитам барана [1801], вирусу гриппа, ассоциированному с молекулой H-2K/D [249] — несут во всех этих случаях фенотип Lyt-1⁺2⁻. Напротив, клоны ЦТЛ в тех же случаях, в том числе специфичные к вирусу гриппа [1202] или ВЛМ (в комплексе с молекулой H-2K/D) [1606], несут фенотип Lyt-1⁻2⁺, не производят ИЛ-2, но чувствительны к его действию. Эта чувствительность проявляется в том, что только в присутствии ИЛ-2 (и других медиаторов) или продуцирующих их клонированных амплифайеров клетки клонов Lyt-1⁻2⁺3⁺ пролифери-

² В отличие от реакции на антиген при реакции на митоген ИЛ-2 продуцируется Т-лимфоцитами не только Lyt-2⁻, но и Lyt-2⁺, хотя в последнем случае частота ИЛ-2-продуцентов [745, 1364], так же как продуцирующих его клонов [1581], в несколько раз ниже.

³ *Minor lymphocyte stimulation* — минорный локус стимуляции лимфоцитов, независимый от МНС и локализованный в хромосоме I. Его продукты индуцируют сильную пролиферацию и продукцию ИЛ-2 в МЛС, но не дифференцировку ЦТЛ [568].

руют и приобретают способность лизировать КМ⁴, причем их вклад в синтез ДНК при росте в смеси с клоном Ly1 обычно не превышает 20%. У клонов обоих типов (Lyt-2⁻ и Lyt-2⁺) встречаются фенотипические варианты: хелперный клон может быть лишен Lyt-антигенов (Lyt-1⁻2⁻3⁻), а киллерный клон — нести все три Lyt-антигена (Lyt-1⁺2⁺3⁺). В любом случае клоны воспроизводят присущие им функциональные свойства, установленные при селекции иммунных Т-клеток из первичной MLC.

Из этих правил имеется, однако, существенное исключение. Рост цитотоксических иммунных Т-клеток Lyt-2⁺ может быть поддержан без ИЛ-2 — путем периодической их стимуляции соответствующим антигеном: продуктами всего МНС [525, 78], класса I [2231, 2232], минорным Н-антигеном [1719] или Н-У антигеном [2151], ассоциированными с молекулой класса I. Во всех этих случаях большинство выращенных антигенспецифичных клонов Ly2 не только цитотоксичны, но и секретируют ИЛ-2, обеспечивая таким образом самоподдержание. 15% цитолитических клонов человека (Т8⁺) также секретируют ИЛ-2 [1379]. Независимо от того, отражает ли этот феномен селекцию бифункциональных клонов или изменение их свойств в условиях дефицита Т-амплифайеров (и их продукта ИЛ-2), очевидно, что клонированные цитотоксические клетки памяти (аналоги пЦТЛ-2⁰) в отличие от нормальных пЦТЛ не нуждаются в помощи Т-амплифайеров для своего роста и дифференцировки в ЦТЛ. Такое заключение подтверждено при изучении клонов клеток памяти Т-гибридом: активация их цитотоксичности после добавления соответствующего антигена МНС класса I приводит к одновременной секреции ИЛ-2 теми же клетками [996].

III.2.3. Функциональная ранимость, изменчивость Т-амплифайеров и их высокая чувствительность к различным агентам и воздействиям

Четкое разграничение хелперных и эффекторных Т-лимфоцитов с помощью Lyt-маркеров и получение стабильных клеточных линий позволило выяснить биологические особенности Т-субклассов, частоту каждой из них в лимфоидной ткани и закономерности их дифференцировки под действием антигена, варианты их фенотипа в зависимости от иммунизирующего антигена, природу, молекулярную организацию и особенности «презентации» антигена, распознаваемого каждой из этих Т-субпопуляций, способности Т-клеток одного клона выполнять разные функции.

Прежде всего выяснилось, что пЦТЛ являются менее зрелыми и менее «прихотливыми», чем помогающие им клетки Ly1. Это следует из нескольких фактов. 1. пЦТЛ созревают в селезенке мышей nude, т. е. в отсутствие тимуса, когда амплифайеры Ly1 отсутствуют; созревание последних требует присутствия тимуса (они возникают у обычных мышей только в его медуллярной зоне) или его гормонов (для созревания *in vitro*), а также времени (возникают только у старых мышей nude), как это описано в гл. II.2.3.2. Источником пЦТЛ может служить фракция незрелых кортикальных тимоцитов (PNA⁺, Lyt-1⁺2⁺3⁺), у которой

⁴ Исключением являются клоны ЦТЛ, специфичные к молекуле I-A: они несут фенотип Lyt-1⁺2⁻ (гл. III.2.4.).

возникают первые признаки иммунокомпетентности (гл. II.4.3), но вовсе отсутствует способность выполнять функцию амплифайеров. 3. В онтогенезе пЦТЛ возникают в селезенке раньше (к концу первой недели жизни мыши), чем амплифайеры, реагирующие на аллоантигены (2—3 недели жизни), или модифицированные гаптенем сингенные антигены комплекса H-2 (5—6 недель жизни) [1982]. Во всех этих случаях способность пЦТЛ дифференцироваться в MLC выявлялась только при добавлении к реагирующим лимфоцитам зрелых Т-амплифайеров или продуцируемого ими ИЛ-2.

Хотя, судя по этим данным, пЦТЛ (Ly123) — менее зрелые клетки, чем Т-амплифайеры (Ly1), пЦТЛ рециркулируют (элиминируются *in vivo* малой дозой АТС) [2156, 318, 117], что, как выше указывалось, свойственно зрелым клеткам T_2 . Поскольку обе указанные субпопуляции долго живут (не элиминируются после тимэктомии взрослых животных), очевидно, что распределение свойств между амплифайерами и пЦТЛ не укладывается в описанную выше модель клеток T_1 и T_2 .

Большая хрупкость и ранимость Т-амплифайеров по сравнению с пЦТЛ следует из сопоставления их биологических свойств и чувствительности к некоторым агентам и воздействиям. Значительное снижение способности Т-лимфоцитов старых мышей и крыс (в возрасте соответственно более 1 и 2 лет) пролиферировать и генерировать ЦТЛ при реакции в MLC на аллоантигены [2062, 666, 343] или модифицированный гаптенем сингенный продукт МНС [1361] связано в первую очередь с дефектной функцией Т-амплифайеров — 5—10-кратным снижением продукции ИЛ-2, необходимого для дифференцировки пЦТЛ. Напротив, реактивность пЦТЛ к ИЛ-2 сохраняется у старых мышей, так что их реакция может быть восстановлена добавлением в культуру клеток-амплифайеров Ly1 молодых животных или продуцированного ими ИЛ-2.

Сходные явления наблюдаются у человека — при первичных иммунодефицитах [1224], а также вторичных, связанных с хроническим лимфолейкозом [457] или лепроматозной инфекцией [791]. Во всех этих случаях основной дефект Т-лимфоцитов больных заключается в том, что их фракция $T_4^+T_8^-$ (аналог Т-клеток Ly1 мыши) не пролиферирует и слабо производит ИЛ-2 при реакции на митогены и антигены, тогда как реактивность иных Т-лимфоцитов тех же больных к добавленному извне ИЛ-2 полностью сохраняется (в связи с этим введение ИЛ-2 может быть использовано для иммунотерапии).

Более тяжелые патологические процессы, вызванные острой трипаномной инфекцией мыши (аналог болезни Чагаса человека) [792] или генетически обусловленным летальным аутоиммунным поражением у мышей MRL-lpr [2244], связаны с дефектами обеих субпопуляций Т-лимфоцитов — продуцентов ИЛ-2 и чувствительных к нему клеток, что ведет к тотальной иммунодепрессии.

Избирательное угнетение функции Т-амплифайеров при росте опухоли является, по-видимому, причиной неэффективности противоопухолевого иммунитета (гл. III.5.1). Эта особенность Т-амплифайеров связана с исключительной чувствительностью продукции ими ИЛ-2 к действию Т-супрессоров, которые активируются при всех указанных обстоятельствах (старение, иммунодефициты, инфекции, рост опухоли).

Лабильность функции Т-амплифайеров (по сравнению с функцией пЦТЛ) проявляется также в избирательной индукции их толерантности (как *in vivo*, так и в культуре) к аллоантигену [706], гаптену [303], минорному Н-антигену [813], синтетическому ГА вируса гриппа [1127], туберкулину или белку *Candida* [169], цитохрому с голубя [1300]. Получены даже данные о возможных механизмах такой толерантности: блокировка рецепторов клонированных Т-амплифайеров, пролиферирующих в реакции на пептид вирусного ГА [1127], или инактивация ИЛ-1 [169] — второго (после антигена) сигнала, необходимого для активации Т-амплифайеров (гл. III.3.2). Во всех этих случаях толерантность, проявляющаяся в отсутствии генерации ЦТЛ или иных категорий Т-клеток, отменяется при добавлении в систему продукта Т-амплифайеров — ИЛ-2.

Более выраженная функциональная «ранимость» Т-амплифайеров по сравнению с пЦТЛ позволяет избирательно инактивировать Т-амплифайеры с помощью некоторых реактивов, подавляющих трансплантационный иммунитет *in vivo*, пролиферацию и генерацию ЦТЛ в МЛС. В частности, введение циклофосфамида (ЦФ) мышам в больших дозах [1869], так же как обработка лимфоцитов в МЛС дексаметазоном (10^{-6} — 10^{-8} М) [663, 1141] или циклоспорином А в малых дозах (10—100 нг/мл) [291, 481], сильно подавляя образование ЦТЛ, в действительности инактивируют (обратимо) только Т-амплифайеры, но не ЦТЛ: функция последних полностью восстанавливается при добавлении в систему необработанных реактивами клеток Lu1 или продуцированного ими ИЛ-2. Избирательная инактивация Т-амплифайеров дексаметазоном связана с более высокой концентрацией рецепторов к кортикостероидам в цитоплазме клеток Lu1 [663], а циклоспорином А — с подавлением образования на поверхности Т-амплифайеров рецептора к ИЛ-1, что тормозит секрецию этими клетками ИЛ-2 и иных медиаторов (гл. III.4.5).

Несмотря на исключительную ранимость и функциональную лабильность Т-амплифайеров, их способность продуцировать ИЛ-2, как было указано выше, радиорезистентна — в отличие от радиочувствительности процесса дифференцировки пЦТЛ. Степень радиорезистентности Т-амплифайеров значительно варьирует в зависимости от активирующего их антигена, условий иммунизации и облучения. В частности, Т-амплифайеры Lu1, индуцированные *in vivo* клетками сингенной [695] или аллогенной опухоли [2204], инактивируются при их облучении *in vitro* дозами порядка 400—600 рад. Столь же низкий уровень радиорезистент-

ности наблюдается у «ранних» Т-амплифайеров, полученных через неделю после иммунизации мышей сингенными клетками, модифицированными гаптенем [570]. В более поздние сроки радиорезистентность Т-амплифайеров, индуцированных гаптенем [625], вирусом гриппа [105] или аллогенными клетками [2162], значительно возрастает. Особенно быстро Т-амплифайеры приобретают радиорезистентность после их иммунизации аллогенными клетками в MLC *in vitro* — в течение 2—3 дней [146], причем степень их радиорезистентности повышается вдвое при их активации аллогенными по сравнению с сингенными Ia молекулами в комплексе с антигенами клеток опухоли [1995].

Такое же варьирование радиорезистентности выявляется при облучении мышей *in vivo*: чувствительные к дозе 500 рад Т-амплифайеры нормальной мыши [977] превращаются в резистентные к γ -облучению (750 рад) после иммунизации [624]. Пестрота данных, полученных на различных моделях и в различных условиях, указывает на то, что в основе природы радиорезистентности Т-амплифайеров могут лежать различные механизмы. В частности, стабилизация секреции ИЛ-2 в культуре активированных Т-лимфоцитов после ее облучения (1000 рад) может быть обусловлена инактивацией радиочувствительных Т-супрессоров, тормозящих синтез ИЛ-2 (гл. III.4.5).

III.2.4. Зависимость фенотипа предшественников хелперных и эффекторных Т-лимфоцитов мыши и человека от их функции и распознаваемых ими антигенов

Причина различия Lyt-фенотипа между амплифайерами и пЦТЛ связана с тем, что эти два Т-субкласса, реагируя на одни и те же клетки-стимуляторы, отличающиеся всем МНС, распознают неидентичные молекулы, кодированные разными генами: клетки хелперной группы реагируют преимущественно на Ia-белки, а клетки киллерной группы, которые воспринимают помощь, — на молекулы класса I (K/D-белки). Этот факт был установлен в 70-х годах с помощью трехклеточной MLC: иммунизации смесью двух популяций стимулирующих клеток, одна из которых отличается от реагирующих лимфоцитов только по I-, а другая — только по K- или D-районам. В этом случае реакция ЦТЛ на аллоантигены H-2K/D стимулятора была значительно выше, чем при иммунизации каждой из этих популяций в отдельности [1779, 2159]. Сходная закономерность отмечена у человека: образование ЦТЛ как к аллоантигенам HLA-A/B [643], так и к аутологичным лейкемическим бластам у больных острым лейкозом в стадии ремиссии [2304] резко стимулируется при добавлении в культуру второго стимулятора — облученных клеток, отличающихся от реагирующих лимфоцитов только по области HLA-D (аналогу I-района мыши).

Удаление фракции клеток, содержащих Ia-белки, из суспензии стимуляторов перед их введением в MLC или слущивание

Ia-белков с поверхности стимуляторов (с помощью их прогревания или обработки ультрафиолетом) резко снижает активность ЦТЛ, направленных против аллоантигенов H-2K/D стимулирующих клеток. Подавление дифференцировки пЦТЛ в отсутствие Ia-белков вовсе не означает, что эти белки требуются для распознавания антигена рецепторами пЦТЛ. Напротив, разделение MLC на два этапа — распознавание антигена (1-й день MLC) и последующая дифференцировка пЦТЛ — показало, что только второй из этих этапов нуждается в Ia-белках, на которые реагируют не пЦТЛ, а клетки Ly1, секретирующие ИЛ-2 и помогающие дифференцировке пЦТЛ [317, 931]. Таким образом, при реакции Т-лимфоцитов на продукты всего МНС выявляется соответствие между тремя признаками: распознаваемыми молекулами МНС клеток-стимуляторов, Lyt-фенотипом распознающих эти молекулы Т-лимфоцитов и функцией последних.

Биологический смысл этих корреляций остается неясным, поскольку экспрессия Lyt-1 на реагирующих лимфоцитах не требуется для их функции: экранировка Lyt-1 добавленными в MLC МкАТ [872], так же как его исчезновение у клонов Т-лимфоцитов с фенотипом Lyt-1⁻2⁻3⁻ [465], не отменяет хелперную функцию Т-клеток и их способность продуцировать ИЛ-2⁵. В связи с этим особую ценность имеет выявление на клетках Ly1 (с помощью МкАТ) маркера L3T4 — аналога белков W3/25 крысы и Leu3/T4 человека (гл. II.4.2). Преимущество L3T4 по сравнению с Lyt-1 заключается в том, что этот маркер, во-первых, полностью отсутствует на клетках Lyt-2⁺, а, во-вторых, его экспрессия на мембране необходима для функциональной активности Т-субкласса, реагирующего на продукты МНС класса II [467].

Экспрессия неидентичных Lyt-фенотипов (Ly1 и Ly123) на разных Т-субпопуляциях (амплифайерах и пЦТЛ) воспроизводится только при условии, что на стимулирующих клетках присутствуют чужеродные молекулы МНС обоих классов (I и II) (табл. 26, строка 1). В этом случае [1246], так же как при поликлональной активации пЦТЛ митогеном [1581], более 95% пЦТЛ несут маркер Lyt-2. Напротив, если стимуляторы отличаются от реагирующих лимфоцитов молекулами только одного из этих классов, обе Т-субпопуляции могут иметь одинаковый фенотип. Иначе говоря, в этом случае Lyt-фенотип распознающих лимфоцитов коррелирует только с распознаваемыми молекулами стимулятора, но не с функциональной активностью лимфоцитов. В частности, при реакции на аллельные аллоантигены I-A все функции реагирующих лимфоцитов — не только пролиферация и активность амплифайеров, но и лизис КМ (табл. 26, строка 2) — осуществляются клетками Ly1 (L3T4⁺, Lyt-2⁻)⁶ [2003,

⁵ Та же функция при реакции не на аллоантигены, а на гаптен, ассоциированный с сингенными клетками, частично ингибируется антителами к Lyt-1 [748].

⁶ Этот факт касается только реакции на аллельные молекулы I-A: ЦТЛ, специфичные к мутантной молекуле I-A [458] или аллельной молекуле I-E [2139], имеют фенотип соответственно Lyt-1⁻2⁺ или Lyt-1⁺2⁺, т. е. содержат маркер Lyt-2 в обоих случаях

Таблица 26

Зависимость Lyt-маркеров амплифайеров и ЦТЛ от иммунизирующего антигена в MLC *

№ п/п	Антигенные различия между реагирующими и стимулирующими клетками	Функциональные Ly-субпопуляции			
		пролиферация (включение ^3H -тимидина)	амплифайеры (хелперы) * ²	пЦТЛ * ³	ЦТЛ* ⁴
1	Весь комплекс МНС	Ly1	Ly1	Ly123	Ly123 + Ly23
2	I-A	Ly1	Ly1		Ly1
3	H-2K/D аллельный	Ly123	Ly1* ⁵ или Ly123* ⁶	Ly123	Ly123
4	H-2K/D мутантный	Ly123	Ly1* ⁵ или Ly123* ⁶	Ly123	Ly123
5	H-2K/D сингенный + гап-тен	Ly123	Ly1	Ly123	Ly123
6	H-2K/D сингенный + вирус	Ly123	Ly1	Ly123	Ly123
7	Опухоль сингенная	Ly1	Ly1	Ly123	Ly123 → Ly23

* Функциональные активности определяются в клетках 5-дневной MLC.

*² Функциональные тесты: продукция ИЛ-2, помощь облученными клетками или Т-линиями дифференцировке В-клеток.*³ Освобождение ^{51}Cr из меченых КМ после инкубации с лимфоцитами, обработанными анти-Lyt-антителами до MLC.*⁴ То же после MLC.*⁵ В лимитирующих культурах.*⁶ В массовых культурах.

1498, 2139]. Хотя активность ЦТЛ анти-Ia значительно ниже, чем обычных ЦТЛ Lyt-2⁺, их фенотип Ly1/L3T4⁺ достаточно стабилен: как правило, он сохраняется на Т-клонах, специфичных как к аллогенной I-A молекуле [466], так и к сингенной I-E молекуле, ассоциированной с вирусом гриппа [1233].

Напротив, при реакции на одни аллоантигены H-2K/D (аллельные или мутантные) (табл. 26, строки 3 и 4) лимфоциты Ly123 не только превращаются в ЦТЛ, как при обычной иммунизации продуктами всего МНС, но и определяют всю пролиферативную активность в MLC [2217, 1701, 2206], а также секрецию ИЛ-2 [748a], за которые обычно ответственны клетки Ly1 (табл. 26, строка 1). Таким образом, снова выявляется корреляция между классом распознаваемой молекулы и фенотипом распознающего ее Т-лимфоцита: на аллоантигены I-A реагируют только клетки Ly1, а на аллоантигены H-2K/D — клетки Ly123. Важно отметить, что Т-амплифайеры и Т-хелперы, которые при реакции на те же H-2K/D аллоантигены способствуют дифференцировке соответственно ЦТЛ, специфичных к аллоантигенам, и

В-клеток, синтезирующих антитела к эритроцитам барана, в обоих случаях несут фенотип Ly123 [1498, 2001, 2002].

Хотя эти клетки выполняют амплифайерную функцию значительно хуже, чем клетки Ly1 [1363], малого количества выработанного ИЛ-2 оказывается достаточным как для пролиферации очищенных клеток Lyt-2⁺ [1929a], так и для образования ЦТЛ в условиях массовой культуры, т. е. при использовании большой дозы реагирующих и стимулирующих клеток [1437, 1779, 2206]⁷. В этом случае амплифайеры (так же, как хелперы Т-В) с фенотипом Ly123 отличаются от пЦТЛ Ly123 признаками большей зрелости [2000], т. е. эти две функциональные субпопуляции не идентичны, несмотря на один и тот же Lyt-фенотип.

Однако ситуация меняется при использовании вместо массовой культуры ограниченного количества стимулирующих и реагирующих клеток, различающихся также только Н-2К/Д-антигенами. В этом случае на антигены Н-2D^d или Н-2D^b реагируют производящие ИЛ-2 амплифайеры с фенотипом только Lyt-1⁺2⁻, хотя их частота (1/50000—1/60000) в 10—12 раз ниже, чем частота амплифайеров (1/3000—1/7000) того же фенотипа, индуцированных продуктами всего МНС (при реакции на продукты только I-района МНС эта частота снижается лишь вдвое — около 1/10000) [1088]⁸. Такое восстановление свойственного амплифайерам фенотипа Ly1 связано с тем, что в условиях ограниченного количества аллоантигена (представленного на малом числе клеток-стимуляторов или в виде очищенного белка, инкорпорированного в липосомы) реагирующие Т-клетки распознают аллоантигены Н-2К/Д не сами по себе, а в ассоциации с сингенной Ia-молекулой, что и приводит к активации амплифайеров Ly1 [2204, 2206].

Напротив, если те же антигены Н-2К/Д распознаются при идентичности по I-району, но в условиях массовой культуры, Т-амплифайеры реагируют на сами эти антигены без их ассоциации с продуктами I-района [2206], что приводит к возникновению несвойственного амплифайерам фенотипа Lyt-2⁺ [1394a] (такое же различие фенотипа Т-клеток, реагирующих на молекулы МНС классов I и II, воспроизводится в РТПХ *in vivo* [1067a]). В связи с этим постулируемое отсутствие связи Lyt-фенотипа реагирующих Т-клеток с их функцией [2002] в действительности обусловлено уникальной способностью аллоантигенов класса I (Н-2К/Д) активировать амплифайеры без участия молекул МНС класса II, если и эти антигены, и распознающие их

⁷ С этим фактом, видимо, связаны данные, полученные при трансплантации *in vivo*: различия только по К- или D-району, возникающего при спонтанной мутации генов, достаточно для отторжения кожи [1039] и образования ЦТЛ [265, 178], несмотря на идентичность I-района между донором и реципиентом.

⁸ 6-кратное превышение частоты амплифайеров, реагирующих на продукты I-района, по отношению к продуктам К/Д-района сохраняется при абсолютном увеличении этой частоты в 3 раза [1234].

рецепторы представлены в больших количествах на поверхности живых клеток.

Такие же два пути дифференцировки клонированных пЦТЛ — с участием или без участия Ia-молекулы — выявляются в зависимости от того, представлен ли антиген H-2K^b, стимулирующий рост клона, на липосомах или на живых стимуляторах [54].

«Сдвиг» фенотипа амплифайеров с Ly1 на Ly123 наблюдается в массовых культурах при распознавании только «чистых» молекул H-2K/D, т. е. в искусственно сконструированной системе. Из табл. 26 видно (строки 5 и 6), что если эти молекулы ассоциированы с чужеродной структурой (как и в условиях естественной иммунизации), фенотип амплифайеров «возвращается» к обычному, т. е. более эффективному Lyt-1⁺2⁺3⁺. Этот факт, установленный при модификации гаптенами [570, 2162, 1879] или вирусами [2162, 1672] сингенных молекул H-2K/D, наблюдается также при стимуляции реагирующих Т-лимфоцитов клетками сингенной опухоли (см. табл. 26, строка 7) — саркомы Молони [695] или лейкемии Френд [724], опухолевые антигены которых также ассоциированы с молекулами H-2K/D. В обоих случаях активность Т-амплифайеров Ly1 идентифицирована (и отделена от функции пЦТЛ) благодаря их радиорезистентности (после индукции *in vivo* клетками сингенной саркомы Молони) или способности продуцировать ИЛ-2.

В отличие от Lyt-фенотипа амплифайеров, варьирующего в зависимости от распознаваемого антигена и культуральных условий, фенотип пЦТЛ и их потомков (Lyt-1⁺2⁺3⁺) более стабилен (см. табл. 26). Противоопухолевые ЦТЛ, индуцированные клетками сингенной опухоли *in vivo* или *in vitro*, также несут три Lyt-антигена [1851, 1979, 591]. Единственное изменение Lyt-фенотипа в ЦТЛ состоит в исчезновении маркера Lyt-1 после повторной иммунизации (возникает фенотип Lyt-1⁺2⁺3⁺), т. е. ЦТЛ обычно сохраняют антиген Lyt-2.

Таким образом, хотя фенотипы распознающих антигены Т-лимфоцитов хелперной (Lyt-1⁺2⁺) и киллерной группы (Lyt-1⁺2⁺) находятся в соответствии с функцией этих субклассов, они могут варьировать при определенных экспериментальных условиях в зависимости от того, какая из молекул МНС (класса I или II) является распознаваемой структурой или служит рестриктивным элементом при распознавании иного антигена, а также в какой форме и в каком количестве эта молекула представлена.

Приведенные данные воспроизведены при исследованиях Т-лимфоцитов человека. Два Т-субкласса Т4⁺8⁺ и Т4⁺8⁺, созревших и разделившихся в медуллярном тимусе до контакта с антигеном и составляющие среди Т-клеток крови соответственно 55—60 и 25—31%, выполняют разные функции при их активации аллоантигенами: клетки Т4⁺8⁺ выделяют ИЛ-2 и способствуют дифференцировке пЦТЛ, но сами в ЦТЛ не превращаются; напротив, клетки Т4⁺8⁺ плохо выделяют ИЛ-2, но реагируют на

него и дифференцируются в ЦТЛ [1660, 1345]. Сходные данные получены с помощью Leu маркеров — аналогов T4 и T8 (гл. II.4.2.2): клетки Leu 2a⁻3a⁺ функционируют как амплифайеры, а клетки Leu 2a⁺3a⁻ — как пЦТЛ [527]. При оценке частоты пЦТЛ высокочувствительным методом лимитирующих разведений в присутствии ИЛ-2 оказалось, что с помощью МкАТ В9 (реагирующих с антигеном Leu2b — аналогом Lyl-3 мыши) можно выделить на иммунофлуоресцентном сортере более 90% пЦТЛ [1407]. Таким образом, подавляющее большинство пЦТЛ человека несут маркеры Leu2a и Leu2b, так же как пЦТЛ мыши несут их аналоги — Lyl-2 и Lyl-3.

Напротив, маркер T4 и его вариант 5/9, выявляемый на части T4⁺ клеток, не обнаруживается на пЦТЛ и идентифицирует только амплифайеры, пролиферирующие клетки и хелперы для В-лимфоцитов [1406]. Амплифайеры Leu3a⁺ и пЦТЛ Leu2a⁺ человека распознают антигены в ассоциации с молекулами соответственно HLA-DR (класса II МНС) и HLA-A, В, С (класса I МНС).

Эти данные получены при реакции Т-лимфоцитов на аллоантигены всего МНС, экспрессированные на клетках-стимуляторах. Дальнейшая аналогия с мышами состоит в том, что фенотип пЦТЛ и их потомков варьирует в зависимости от распознаваемого класса молекулы МНС. Если реагирующие лимфоциты активируются только аллоантигенами класса I, фенотип ЦТЛ T4⁻8⁺ сохраняется; но при активации только антигенами HLA-DR или HLA-SB (класса II) фенотип ЦТЛ меняется на обратный — T4⁺8⁻ [128, 203]. Зависимость фенотипа ЦТЛ от класса распознаваемых ими молекул МНС подтверждена при получении клонированных линий ЦТЛ, специфичных к одной из таких молекул [1080, 1345, 620] или к вирусу гриппа, ассоциированному с одной из молекул HLA класса I [583] или класса II [932].

III.2.5. Неидентичность пролиферирующих и амплифайерных Т-лимфоцитов в MLC

В связи с определяющей ролью клеток Lyl в пролиферации и секреции ИЛ-2 при реакции на весь МНС возникает вопрос: ответственны ли за эти две функции — пролиферативную и амплифайерную, обеспечивающие соответственно бласт-трансформацию и генерацию ЦТЛ, — одна и та же или разные популяции Т-клеток, тем более что продукция ИЛ-2 не требует синтеза ДНК (гл. III.2.3). Для ответа на этот вопрос необходимо сопоставить по меньшей мере некоторые свойства этих двух типов Т-клеток: мембранные маркеры, биологические особенности и частоту популяции.

Оказалось, что, за исключением Lyl-1, экспрессия иных маркеров на мембране этих двух типов клеток не идентична. В частности, нормальные Т-лимфоциты, пролиферирующие при реак-

Таблица 27

Свойства функциональных субклассов нормальных Т-лимфоцитов, распознающих аллоантигены в MLC, активированной продуктами всего МНС

Свойства	Функциональные категории (тест в MLC)		
	пролиферирующие Т-лимфоциты (включение ^3H -тимидина)	предшественники амплифайеров (продукция ИЛ-2 или помощь в генерации ЦТЛ)* ²	пЦТЛ (возникновение ЦТЛ, лизирующих КМ) * ³
Маркеры			
Lyt-1,2,3	1 ⁺ 2 ⁻ 3 ⁻	1 ⁺ 2 ⁻ 3 ⁻	1 ⁺ 2 ⁺ 3 ⁺
Ly6	+	—	—
Ia	—	+	—
FcR	—	+	—
Срок возникновения в селезенке (дни жизни)	0—3	6—7	6—7
Частота *	1/100—1/300	1/3000—1/7000	1/300—1/1000
Резистентность к облучению	Чувствительны	Резистентны * ⁴	Чувствительны

- * Определена методом лимитирующих разведений нормальных лимфоцитов селезенки, реагирующих на аллоантигены в первичной MLC.
- *² К разведениям нормальных лимфоцитов добавлено стандартное количество пЦТЛ (50 клеток стабильной линии или $2 \cdot 10^3$ клеток Lyt-2⁺ из нормальной селезенки).
- *³ К разведениям нормальных лимфоцитов добавлено стандартное количество ИЛ-2.
- *⁴ Степень радиорезистентности амплифайеров варьирует (гл. III.2. 3).

ции в MLC на продукты всего МНС, несут антиген Ly6 [877], но лишены рецепторов к Fc-фрагменту Ig (FcR⁻) [1962] и Ia-молекул [1809], т. е. имеют фенотип Lyt-1⁺2⁻3⁻, Ly6⁺, FcR⁻, Ia⁻. Отсутствие Ia-молекул на предшественниках пролиферирующих в MLC Т-клеток подтверждено отсутствием влияния МкАТ анти-Ia на их пролиферацию [1701]. Напротив, Т-амплифайеры, выявляемые по их способности либо помогать дифференцировке пЦТЛ, либо продуцировать ответственный за эту функцию медиатор в той же MLC системе, лишены антигена Ly6 [877], но несут FcR, в частности, к IgM [1962, 70], и Ia-белок [2010], т. е. имеют фенотип Lyt-1⁺2⁻3⁻, Ly6⁻, FcR⁺, Ia⁺. Таким образом, фенотип мембранных маркеров различает эти два типа распознающих антигены Т-клеток Ly1 (табл. 27).

Сходные данные получены при анализе фенотипа клонированных Т-клеток человека T4⁺ (аналог L3T4 мыши), специфичных к вирусу гриппа в комплексе с сингенной молекулой HLA-DR. Эти Т-клетки, пролиферирующие при реакции на указанный антиген, лишены маркера HLA-DR и не обладают хелперной функцией. Молекула HLA-DR возникает на их поверхности только после активации антигеном [1951].

Хотя пролиферирующие в MLC клетки возникают в онтогенезе значительно раньше, чем амплифайерные Т-лимфоциты

(гл. II.5), наиболее четкое различие между ними выявляется при определении частоты их предшественников в селезенке и лимфоузлах с помощью метода лимитирующих разведений — титрования нормальных лимфоцитов, реагирующих на данный аллоантиген в MLC. Частота этих функциональных категорий Т-клеток обычно определяется сравнительно с частотой пЦТЛ, которая составляет $1/300$ — $1/500$ при условии их активации в присутствии стандартного объема очищенного ИЛ-2 [1018, 1088] и возрастает до $1/100$ — $1/300$ при наиболее чувствительном варианте определения частоты пЦТЛ [707]. В любом случае частота клеток, синтезирующих ДНК, превышает частоту пЦТЛ в 2—4 раза [1745], а частота предшественников амплифайеров, напротив, оказывается ниже частоты пЦТЛ в 5—10 раз [1234, 1018, 1088]. Из этих данных следует, что субкласс Т-амплифайеров составляет около $1/20$, т. е. не более 5% популяции нормальных Т-лимфоцитов типа $Lu1$, распознающих аллоантигены MHC^a. На основании этих данных, суммированных в табл. 27, можно полагать, что амплифайеры представляют собой специальную радиорезистентную, по-видимому, наиболее зрелую субпопуляцию распознающих антигены Т-лимфоцитов, которая составляет малую долю Т-клеток, синтезирующих ДНК при активации антигеном. Из табл. 27 видно также, что пЦТЛ — третий субкласс распознающих Т-клеток, который не совпадает с двумя другими ни по фенотипу мембранных маркеров, ни по частоте популяции.

Неидентичность пролиферирующих и амплифайерных Т-лимфоцитов выявляется не только в экспериментальных моделях *in vitro*, но и в естественных условиях *in vivo* — при некоторых патологических процессах. В частности, тяжелое аутоиммунное поражение у мышей MRL-lpr, обусловленное единичным рецессивным геном, сопровождается резким увеличением доли клеток $Lu1$ в лимфоидной ткани и их массовой пролиферацией при отсутствии функции Т-амплифайеров, не продуцирующих ИЛ-2 [2244]. Та же тенденция — избирательное угнетение функции Т-амплифайеров — выявляется и при иных аутоиммунных процессах [1903].

Четкое различие между пролиферирующими и хелперными Т-лимфоцитами установлено и на других моделях. При реакции *in vitro* иммунных Т-клеток мыши на фибринопептид В человека две указанные субпопуляции Т-лимфоцитов, реагируя на неидентичные детерминанты этого октапептида, находятся под разным генетическим контролем [1576]. Ареактивность Т-хелперов к пептиду GAT, возникающая у мутанта $bm12$ мышей C57BL/6, сочетается с полной сохранностью пролиферативной реакции Т-клеток на тот же пептид [1368].

■ Частота предшественников Т-амплифайеров, реагирующих на продукты не MHC, а локуса Mls , значительно возрастает: $1/50$ в селезенке и $1/20$ в лимфоузлах [926].

III.2.6. Взаимная дифференцировка клеток Ly123, Ly1 и Ly23 в ходе распознавания антигена

Взаимодействие между Т-субклассами, которые различаются как биологическими свойствами, так и Lyt-маркерами, носит универсальный характер: оно необходимо не только для распознавания аллоантигенов или сингенных продуктов МНС, ассоциированных с гаптенами, вирусами, минорными Н- и опухолевыми антигенами, но и для реакций на обычные растворимые гетеробелки, в том числе для образования антител. В частности, образование в первичной культуре *in vitro* специфичных к гемоцианину [561] или антигенам стрептококка [1840] Т-хелперов Ly1, необходимых для дифференцировки антителообразующих В-клеток, требует помощи Т-амплифайеров, распознающих те же антигены. Предшественники Т-хелперов (долгоживущие и рециркулирующие) отличаются от Т-амплифайеров большей степенью зрелости, а помощь Т-амплифайеров для дифференцировки Т-хелперов также обеспечивается ИЛ-2 (гл. III.3.4).

Поскольку антиген активирует спектр взаимодействующих между собой неидентичных субклассов Т-клеток (Ly1, Ly123 и Ly23), естественно спросить, возникают ли субклассы как последовательные или независимые этапы антигензависимой дифференцировки, т. е. способны ли они к взаимопревращениям. Клетки Ly1 и Ly23 не превращаются одна в другую не только в культуре (гл. III.2.2), но и *in vivo*, сохраняя свои функции после введения тимэктомизированным летально облученным мышам [887, 1362]. В связи с этим возникновение этих двух субклассов расценивалось как независимые конечные этапы вызванной антигеном дифференцировки.

Такое представление, однако, может оказаться справедливым только в отношении клеток Ly23: Т-хелперы Ly1, специфичные к гамма-глобулину человека (ГГЧ), после повторного контакта с ГГЧ *in vivo* превращаются в организме мыши в клетки Ly23, которые сохраняют хелперную функцию и специфичность к ГГЧ [2066]. Сходный факт установлен при реакции ЦТЛ на I-A молекулу: их фенотип Ly1 в первичной реакции превращается в Ly2 при вторичной активации тем же I-A антигеном в MLC [2140].

Дальнейшее подтверждение этих данных будет означать, что многократное воздействие антигена дестабилизирует Lyt-фенотип (возможно, и другие свойства) эффекторных Т-лимфоцитов, даже если они уже специфичны и дифференцированы после первичной активации антигеном¹⁰.

В отличие от клеток с относительно стабильным фенотипом Ly1 и «окончательным» фенотипом Ly23, клетки Ly123 способны превращаться в клетки Ly1 и Ly23 в ходе первичной активации

¹⁰ Фенотип Т-хелперов крысы (W3/25+, OX8-, OX22-) отличается высокой стабильностью после повторной иммунизации *in vivo* [1921].

антигеном. Скорость этого превращения варьирует в зависимости от иммунизирующего антигенного комплекса: пЦТЛ Ly123 быстро превращаются в клетки Ly23, т. е. экспрессия маркера Lyt-1 резко снижается, если активация клеток Ly123 вызвана в МНС различиями по всему комплексу МНС. Напротив, такое же превращение Ly123→Ly23 замедляется в первичной реакции [789] или происходит только после повторной иммунизации, если она произведена единичным антигеном I-E [2140] или H-2K/D — либо аллогенным [1445], либо сингенным в комплексе с гапте-ном или вирусом [292, 571], в том числе онкогенным [1979, 591].

Особенно демонстративна активация ЦТЛ в МНС клетками аллогенной лимфомы, в мембрану которых после утраты (в результате селекции) собственных трансплантационных антигенов были инкорпорированы (с помощью липосом) различные молекулы — либо смесь H-2K^k и Ia^k, либо только H-2K^k. Образовавшиеся ЦТЛ имели в первом случае фенотип Lyt-1-2⁺ (Ly23), а во втором — Lyt-1⁺2⁺ (Ly123) [765].

Эти данные означают, что включение в иммунизирующий комплекс Ia-молекулы не только усиливает иммунный ответ (в результате резкого увеличения частоты реагирующих на антиген Т-амплифайеров, см. выше), но и ускоряет дифференцировку эффекторных Т-лимфоцитов и возникновение клеток памяти, имеющих фенотип Ly23. Последний процесс может иметь важные биологические следствия. Во-первых, хотя при первичной реакции клеток селезенки на аллоантиген или митоген доля пЦТЛ Ly23 (1/2000—1/8000) в 10—15 раз ниже, чем пЦТЛ Ly123 (1/100—1/300), первая категория пЦТЛ отличается от второй резистентностью к подавляющему эффекту Т-супрессоров, т. е. более стабильна [707]. Во-вторых, ЦТЛ-2^o Ly23, возникающие из пЦТЛ-2^o того же фенотипа после повторной их активации антигеном, обладают выраженной ПР: будучи индуцированы одним из вирусов (представителями родов поксвирусов, аренавирусов, ортомиксо- и парамиксовирусов) и сохраняя свою специфичность (не реагируют на другие вирусы), ЦТЛ-2^o частично лизируют сингенные КМ, модифицированные не вирусом, а ТНФ, а также не модифицированные аллогенные КМ некоторых гаплотипов H-2 [292, 1423].

Поскольку распознаваемой структурой при перекрестной цитотоксичности служат молекулы H-2K/D МНС (класса I), приведенные данные указывают на универсальность антигенных детерминант этих молекул, которые распознаются ЦТЛ. Эти факты могут объяснить такие феномены, как необычайно высокая частота реагирующих на эти молекулы Т-лимфоцитов (гл. 1.1) и способность ЦТЛ человека, иммунизированных набором из 20 аллогенных HLA, разрушать аутологичные лимфобластоидные клетки, трансформированные вирусом Эпштейна — Барр [2305]. Установлено даже, что такие пЦТЛ-2^o с фенотипом Ly23, реагирующие на аллоантигены, могут возникнуть у мыши в резуль-

тате спонтанной иммунизации вирусом Сендай, которая происходит после 4 недель пребывания мыши в колонии, инфицированной этим вирусом [571]. Из приведенных данных следует, что как искусственная иммунизация набором аллоантигенов класса I, так и естественная иммунизация вирусами (которые самопроизвольно ассоциируются с теми же продуктами МНС класса I) может служить фактором противоопухолевого иммунитета.

Описанные факты касаются превращения в ЦТЛ Ly23 не любых клеток Ly123, а только пЦТЛ, которые при реакции на антигены H-2K/D данного гаплотипа составляют, как выше указано, 1/300 часть клеток селезенки, т. е. 1/100 Т-клеток и, следовательно, 1/50 (2%) клеток Ly123. Однако клетки того же фенотипа служат предшественниками не только ЦТЛ, но и Т-хелперов Ly1, способствующих дифференцировке В-клеток: культивирование выделенных нормальных Т-лимфоцитов Ly123 с антигеном стрептококка А в течение 4 дней индуцирует специфичные к этому антигену Т-хелперы Ly1 [1840]. Очевидно, что популяции предшественников эффекторных ЦТЛ Ly23 и Т-хелперов Ly1, хотя и имеют один и тот же фенотип Ly123, не идентичны, поскольку частота первых предшественников (1/300) превышает частоту вторых (1/1000—1/6000) в 10 раз [509].

Превращение клеток Ly123 в Ly1 под действием антигена, возможно, происходит также в MLC — при вторичной иммунизации пролиферирующих Т-клеток Ly123 мышей C57BL, активированных мутантным антигеном H-2K^{bm1} [2206], хотя, по другим данным, в этой системе клетки Ly123 превращаются только в ЦТЛ Ly23, но не в пролиферирующие амплифайеры Ly1 [1445].

В любом случае очевидно, что происходящая как внутри тимуса, так и вне его антигеннезависимая дифференцировка незрелых клеток Ly123 в Ly1 и Ly23 (гл. II) воспроизводится и в зрелых клетках периферической лимфоидной ткани в ходе иммунного ответа при антигензависимой дифференцировке.

III.3. Механизмы активации и реализации функций Т-амплифайеров

III.3.1. Условия активации пЦТЛ, предшественников Т-амплифайеров и пролиферирующих Т-лимфоцитов в MLC

Вопрос о том, каким образом Т-амплифайеры способствуют возникновению ЦТЛ, был решен в условиях «дефектной» MLC, исключающей функцию Т-амплифайеров при сохранении функции пЦТЛ. Для этого из MLC избирательно удаляли либо ту часть реагирующих Т-лимфоцитов, которые выполняют функцию амплифайеров, либо Ia⁺ клетки-стимуляторы, которые активируют амплифайеры. Удаление амплифайеров достигалось путем

элиминации из популяции реагирующих клеток Ia^+ [1607] или $Ly1$ лимфоцитов [1497, 2162], а также путем использования тимоцитов (в основном клеток $Ly123$) в качестве реагирующих клеток [1881, 1832, 2162].

Вторая задача — элиминация Ia^+ стимуляторов — достигалась, если их инактивировали не γ -облучением, а прогреванием, ультрафиолетом, фиксацией, а также при использовании в качестве стимуляторов живых или убитых клеток тимуса, содержащих мало Ia -белка [1518, 1832, 1497, 1580, 1818, 2162]. Еще один способ предотвращения активации Т-амплифайеров — использование в качестве стимуляторов в МЛС мыши [2162] и человека [2119] не цельных аллогенных клеток, а их лизатов. Во всех этих случаях «дефектной» МЛС не наблюдалось образования ЦТЛ при стимуляции пЦТЛ как аллоантигеном, так и комплексом вируса или гаптена с сингенными продуктами МНС. Генерация ЦТЛ восстанавливалась с помощью двух приемов: а) разделения «дефектной» и «полноценной» МЛС в двойной камере непроницаемым для клеток фильтром; б) добавлением в культуральную среду «дефектной» МЛС надосадочной жидкости, взятой либо из «полноценной» первичной МЛС после 1—3 дней инкубации (или после 6—18 ч иммунизации во вторичной МЛС), либо из культуры Т-лимфоцитов, активированных митогеном.

Такие методические приемы установили существование и условия синтеза факторов роста и дифференцировки, каждый из которых вносит вклад в определенный этап межклеточной кооперации лимфоцитов при реакции на антиген. Эти факторы и взаимодействующие с ними на поверхности лимфоцитов рецепторы позволили выращивать клоны стабильных линий каждого Т-субкласса, что, в свою очередь, привело к возможности получать точные ответы на поставленные вопросы, а также открыло новые пути для иммунотерапии ряда заболеваний.

Один из итогов указанных исследований — создание модели иммунологического распознавания (рис. 9) — процесса, который включает несколько последовательных событий, завершающихся возникновением ЦТЛ. Этот последний этап (рис. 9, А) изучен благодаря отделению пЦТЛ от других Т-субклассов за счет описанных выше особенностей: мембранных маркеров (фенотип: $Ly123$, $Ly6^-$, 7^- , $Qat-4^+5^+$, Ia^- , PNA^+ тимоциты) и биологических свойств (пЦТЛ выявляются в селезенке *pude* и отличаются радиочувствительностью, относительной резистентностью к ЦФ и кортикостероидам).

Кроме того, в присутствии ИЛ-2 пЦТЛ выращены *in vitro* в виде колоний [363], а их потомки у мыши [1721, 1801, 2060] и человека [1780, 1671] размножены под действием антигена и ИЛ-2.

Использование отделенных от других клеток пЦТЛ позволило установить, что для их активации необходимы по меньшей мере два последовательных сигнала (см. рис. 9, а). Сигнал 1 — специфический — возникает в результате контакта рецептора

Рис. 9. Этапы и факторы каскада дифференцировки Т-лимфоцитов при распознавании антигена

МIRF — фактор стимуляции экспрессии Ia-молекулы; черная стрелка — путь дифференцировки, белая — секретиция фактора. Л — липосома

А — ЦТЛ; Б — Т-хелперы/амилифайеры;
В — А-клетка. ЦТЛ-1 специфичен к аллоантигену. ЦТЛ-2 — к иному чужеродному антигену в комплексе с сингенной молекулой МНС класса I. CSF — фактор стиму-

пЦТЛ с соответствующим антигеном, обязательным компонентом которого является молекула МНС класса I — либо аллогенная (сигнал 1а), либо сингенная в комплексе с чужеродным антигеном (сигнал 1б). Взаимодействие рецептора с указанными вариантами антигенов индуцирует на поверхности пЦТЛ рецепторы к сигналу 2 (неспецифическому) — факторам роста Т-клеток (TCGF¹¹ или ИЛ-2) и дифференцировки ЦТЛ (CTDF)¹². Предотвращение взаимодействия рецептора пЦТЛ с аллоантигеном (например, в присутствии антител к Lyt-2 маркеру пЦТЛ) приводит к нечувствительности пЦТЛ к указанным факторам и отмене их дифференцировки, несмотря на присутствие и аллоантигена, и факторов [671].

Специфичность возникших ЦТЛ двух категорий — ЦТЛ₁ и ЦТЛ₂, направленных соответственно к аллоантигенам H-2K/D/L и комплексам сингенной молекулы H-2K/D/L с чужеродным антигеном, — определяется антигенсвязывающими рецепторами, предсуществующими на пЦТЛ до их активации. Из рис. 9, А можно видеть, что дифференцировка пЦТЛ проявляется в изменении мембранных маркеров: экспрессируется отсутствующий у пЦТЛ антиген Ly6 [877], тогда как маркеры пЦТЛ Qat-4 и 5 исчезают с поверхности ЦТЛ₁, но сохраняются полностью или частично на ЦТЛ₂ [2300].

Поскольку для активации пЦТЛ необходима помощь ИЛ-2, очевидно, что активации пЦТЛ предшествует реакция на антиген Т-амплифайеров (хелперов Т-Т), продуцирующих ИЛ-2. Из рис. 9, Б видно, что для активации Т-амплифайеров также необходимы два последовательных сигнала. Первый из них — специфический — обусловлен контактом рецептора предшественника с соответствующим антигеном. Особенность этого антигена состоит в том, что в его состав входит молекула МНС класса II — либо аллогенная (сигнал 1а), либо сингенная в комплексе с чужеродным пептидом (сигнал 1б). Взаимодействие антигена (включающего Ia-молекулу) с рецептором предшественника приводит к индукции на поверхности клетки рецептора к медиатору ИЛ-1. Контакт этого рецептора с ИЛ-1 и служит тем вторым (неспецифическим) сигналом, который приводит к дифференцировке предшественника в активированный хелпер Т-Т (амплифайер), секретирующий TCGF (ИЛ-2). Активация Т-амплифайера проявляется также в изменении его мембранного маркера — экспрессии белка Ly7, отсутствующего у предшественника [1600].

Таким образом, из сопоставления рис. 9, А и Б следует, что предшественники ЦТЛ и Т-амплифайера различаются не только по распознаваемым их рецепторами антигенам, но и по форме, в которой представлены эти антигены: пЦТЛ могут реагировать

¹¹ T cell growth factor — фактор роста Т-клеток.

¹² Cytotoxic T cell differentiation factor — фактор дифференцировки цитотоксических Т-лимфоцитов.

на антиген, растворенный или прикрепленный к липосоме, тогда как Т-амплифайеры — только на антиген, экспрессированный на мембране живой сингенной А-клетки или аллогенного стимулятора. Можно предположить, что, поскольку Ia-молекула слабо ассоциирована с чужеродным антигеном (гл. V.3.3), стабилизации этого комплекса способствуют «протеины мембранной матрицы», которые составляют 20% белков плазматической мембраны, выстилают ее внутреннюю поверхность и не растворяются в детергентах [835]. В связи с этим противоопухолевые ЦТЛ, специфичные к саркоме Молони, могут быть индуцированы *in vitro* (в отсутствие добавленного извне ИЛ-2) комплексом мембранного препарата этой саркомы с нерастворимыми в детергенте мембранными белками [492].

Поликлональная активация амплифайеров, приводящая к секреции ими ИЛ-2, может быть искусственно индуцирована без антигена — с помощью обработки Т-лимфоцитов митогенами (Кон А или ФГА) [71, 1140] или антителами к маркерам Т-клеток Thy-1 мыши [1059, 1853], Т3 [1544] или Рап Т2 человека [2138]. Для индукции секреции ИЛ-2 анти-Thy-1 антителами необходима транслатеральная агрегация этого маркера на мембране Т-клеток [1853]. Спонтанная секреция ИЛ-2 клетками Т-лейкемии может служить механизмом пролиферации опухолевых клеток мыши [546] и человека [1561] или стволовых клеток Т-лейкемии человека [2138].

Из рис. 9 следует, что еще одно различие в условиях активации предшественников Т-хелперов и пЦТЛ (помимо неидентичности антигенов, формы их представления и природы вторых сигналов) состоит в том, что А-клетки требуются для активации только клеток хелперной группы, но не пЦТЛ. Для превращения последних в ЦТЛ нужны два указанных сигнала (антиген и фактор) без участия А-клеток. Этот факт имеет четкие экспериментальные доказательства: обработка в отсутствие А-клеток очищенных Т-лимфоцитов $Ly1-2^+$ селезенки [1497, 1834, 2204] или медуллярного тимуса [416] аллоантигеном МНС класса I (растворенным или представленным на клетках-стимуляторах) индуцирует ЦТЛ при добавлении в среду второго сигнала — ИЛ-2. Эти два сигнала могут быть разделены во времени: антиген должен присутствовать в течение только первых 12 ч, а ИЛ-2 — только последующих 4 дней. На обоих этапах А-клетки не нужны для генерации ЦТЛ [836]. Напротив, для индукции пролиферации активированных Т-лимфоцитов под действием ИЛ-2 необходимо присутствие небольшого количества А-клеток [897] или выделяемого ими ИЛ-1 (см. след. раздел).

Объектом действия ИЛ-2 могут быть не только пЦТЛ $Ly123$, но любые клетки, несущие рецептор к ИЛ-2. Обычно такой рецептор, отсутствующий на всех малых (покоящихся) лимфоцитах, экспрессируется на Т-лимфоцитах $Ly1-2^+23^-$ после их активации белковым антигеном, аллогенными клетками в МЛС или Т-митогеном (Кон А или ФГА) [71, 1108]. В числе таких клеток, реагирующих на ИЛ-2, могут быть как радиорезистентные Т-амплифайеры, продуцирующие ИЛ-2, так и радиочувствительные Т-клетки, способные пролиферировать в реакции на

антиген (рис. 9, Б), хотя эти два типа Т-клеток Ly1 с идентичным Lyt-фенотипом различаются по иным мембранным маркерам (см. табл. 27). Поскольку в обоих случаях их рецепторы реагируют на антиген при условии его ассоциации с Ia-молекулой, как это показано на рис. 9, Б, сигнал 1 идентичен для двух типов Т-клеток Ly1. Из этих фактов следует, что с помощью комплекса данного антигена с Ia-молекулой можно активировать, а в присутствии ИЛ-2 вызвать размножение и получить стабильные линии и клоны двух типов чистых Т-клеток Ly1, продуцирующих или не продуцирующих ИЛ-2. Временная последовательность двух указанных сигналов (специфического и неспецифического) с интервалом около суток необходима для вступления в S-фазу и размножения не только иммунных к Ia-белку Т-клеток, но и выращенных из них клонированных линий [793]. Из этих данных следует, что ИЛ-2 продуцирует ограниченная субпопуляция Т-клеток Ly1, тогда как реагировать на него могут любые активированные Т-лимфоциты, несущие рецепторы к ИЛ-2, независимо от их мембранного фенотипа, способа активации, способности продуцировать ИЛ-2 или иные факторы.

III.3.2. Определяющие функции А-клеток в распознавании антигенов: экспрессия Ia-молекул и секреция ИЛ-1

Поскольку оба сигнала, необходимые для активации Т-амплифайеров, — «презентация» антигена в комплексе с Ia-молекулой и секреция ИЛ-1 — обеспечиваются в отличие от активации пЦТЛ А-клетками, очевидно, что обязательным условием для распознавания антигена Т-лимфоцитами является не только присутствие МФ, но и его функциональная активация. Для этого, в свою очередь, требуются по меньшей мере три условия (рис. 9, В): а) обработка («процессинг») антигена в лизосомах МФ, в результате чего фрагменты расщепленного антигена реэкспрессируются на мембране МФ рядом с Ia-молекулой (гл. III.6.1); б) стимуляция синтеза и экспрессия Ia-молекул на поверхности МФ; в) активация синтеза и секреции ИЛ-1 в МФ. Если «процессинг» антигена осуществляется самим МФ без какой-либо помощи, то второе и третье события являются следствиями активации МФ с помощью определенных воздействий (гл. III.3.3).

Из представленной модели следует, что Т-амплифайеры не могут распознать антиген без помощи активированных (Ia^+) МФ-подобных А-клеток. Этот факт четко установлен экспериментально: избирательное удаление из культуры только МФ-подобных клеток или их фракции, несущей Ia-белок, отменяет у животных любых исследованных видов — мышей, крыс, морской свинки, а также человека — весь процесс первичного распознавания Т-лимфоцитами разнообразных антигенов — продуктов МНС [1373, 48], гаптенов [1578, 2270, 900], вирусов [2309],

специфических опухолевых антигенов [2097, 2251, 2050, 2081, 200]. В такой же степени угнетается первичное образование антител в культуре к полипептидам и гаптенам [865] и пролиферативная реакция иммунных Т-лимфоцитов на белковый антиген [2269, 1159, 162].

Избирательное удаление МФ при сохранении всех остальных клеток достигалось с помощью различных методов и их комбинаций: прикрепления МФ к стеклу, пластику и нейлоновой вате, фильтрации через сефадекс G10, осаждения магнитом клеток, фагоцитирующих карбонильное железо. Другие методы, элиминирующие не все А-клетки, а только их Ia⁺ фракцию, — обработка прикрепившихся к пластику клеток анти-Ia антителами в присутствии комплемента [1159, 2270, 1373, 1579, 48, 695, 2309], облучение А-клеток ультрафиолетом [900], их культивирование в течение 1 дня [162] или инкубация с зимозаном или эндотоксином *E. coli* [2286] — также отменяют все реакции Т-лимфоцитов на антигены.

Разные реакции Т-лимфоцитов на антигены опухолей в сингенной MLTC¹³ — пролиферация [328] или генерация ЦТЛ [694] — блокируются даже при сохранении А-клеток, если их Ia-молекулы экранированы соответствующими антителами. Неспособность некоторых спонтанных фибросарком и аденокарцином индуцировать ЦТЛ в MLTC (что коррелирует с их низкой иммуногенностью *in vivo*) связана, по-видимому, с тем, что их антигены не ассоциируются с Ia-молекулой собственного гаплотипа МНС. Следствие этого дефекта — отсутствие активации Т-амплифайеров, необходимых для дифференцировки пЦТЛ, — преодолевается добавлением в культуральную среду их продукта ИЛ-2 [164], что способствует генерации ЦТЛ в различных противоопухолевых системах [1372, 300].

Таким образом, лишённые Ia-белка МФ не стимулируют антигензависимую пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов, так же как их реакции на Кон А: в последнем случае пролиферация не происходит в отсутствие Ia⁺ МФ [47]. Необходимо отметить, что полная отмена иммунологических функций МФ при исчезновении или искусственном удалении Ia-белков с их поверхности не оказывает никакого влияния на их жизнеспособность, фагоцитарную и ферментативную активности, экспрессию мембранных рецепторов [1182, 161, 1909] и сочетается с полной сохранностью иных функций — «захвата» антигена и «фидерного» эффекта, т. е. обеспечения жизнедеятельности лимфоидных клеток [865, 162, 1158]. Напротив, усиление мембранной Ia-экспрессии на МФ (под действием введенной мышам БЦЖ) может сопровождаться резким падением экспрессии FcR [541]. Очевидно, что участие МФ в распознавании антигенов и банальном воспалении представляет собой независимые функции одной и той же клетки.

Вторая функция активированных МФ — секреция ИЛ-1 — также необходима для секреции ИЛ-2 активированными Т-амплифайерами. Такое утверждение основано на том, что после полного удаления МФ из культуры способность оставшихся «чистых» Т-лимфоцитов продуцировать ИЛ-2 (так же, как пролиферировать и генерировать ЦТЛ) под действием Кон А [547,

¹³ Mixed lymphocyte-tumor culture — смешанная культура лимфоцитов и опухоли.

1142, 1904] или живых аллогенных клеток-стимуляторов [550] полностью восстанавливается, если в среду добавлен готовый ИЛ-1 или его функциональный аналог РМА. Такой же эффект оказывает обработка ИЛ-1 или РМА очищенных тимоцитов [468] и некоторых вариантов Т-лимфом [664, 2191] или Т-гибридом [1698]: только после этой обработки они производят ИЛ-2. Таким образом, четко установлена прямая зависимость продукции ИЛ-2 Т-лимфоцитами от воздействия ИЛ-1 на поверхность последних.

Вспомогательная функция Ia^+ А-клеток при активации Т-лимфоцитов лектином в действительности связана не с экспрессией Ia -молекулы, а главным образом с секрецией ИЛ-1 активированными (Ia^+) А-клетками. Это было прямо показано, если в качестве А-клеток использовали клетки эндотелия морской свинки, лишенные Ia -белка [1728], или клетки лейкоemий человека, лишенные антигена HLA-DR (стволово-клеточная K562, промиелоцитарная HL-60, гистиоцитарная U-937): их способность секретировать ИЛ-1 на определенной стадии дифференцировки оказалась достаточной для активации Т-лимфоцитов лектинами [2168].

Однако при активации Т-амплифайеров не лектином, а антигеном ситуация осложняется: МФ могут быть заменены готовым ИЛ-1 лишь при условии, что он функционирует как второй сигнал, т. е. после того, как первый сигнал обеспечен комплексом антигена с Ia -молекулой. В частности, ИЛ-2 образуется и иммунные Т-клетки пролиферируют под действием соответствующего антигена — пептида GAT [653] или очищенного белка H-2K^b [2205] — при условии контакта рецептора Т-клетки с антигеном в комплексе с Ia -белком МФ и присутствия ИЛ-1 (рис. 10, А). Эти реакции Т-клеток подавляются (даже при добавлении в среду ИЛ-1), если Ia -белок становится недоступным для рецептора — в результате его экранировки анти- Ia антителом (рис. 10, Б) или его исчезновения с поверхности МФ после облучения ультрафиолетом за 2 мин до добавления антигена (рис. 10, В). Напротив, если облучение МФ проведено после его обработки антигеном (спустя 4 ч и более), комплекс Ia -белка с антигеном на мембране формируется; тем не менее реакция Т-клетки отсутствует, поскольку облученный ультрафиолетом МФ не продуцирует ИЛ-1 (рис. 10, Г). Добавление ИЛ-1 в этом случае восстанавливает реакцию (рис. 10, Д), а экранировка Ia -белка анти- Ia антителом вновь ее отменяет (рис. 10, Е).

Способность МФ или МФ-подобной лейкоemии мыши P388D1 [1515], а также миеломоноцитарной лейкоemии человека [1114] секретировать ИЛ-1 может быть искусственно индуцирована обработкой различными агентами: ЛПС (10—20 мкг/мл, 2—4 дня), комплексом антиген—антитело, фагоцитируемыми частицами. Особенно эффективна 4-часовая инкубация клеток P388D1 с РМА в присутствии ингибиторов синтеза белка и РНК, что приводит к секреции ИЛ-1 с пиком через 24 ч [1392].

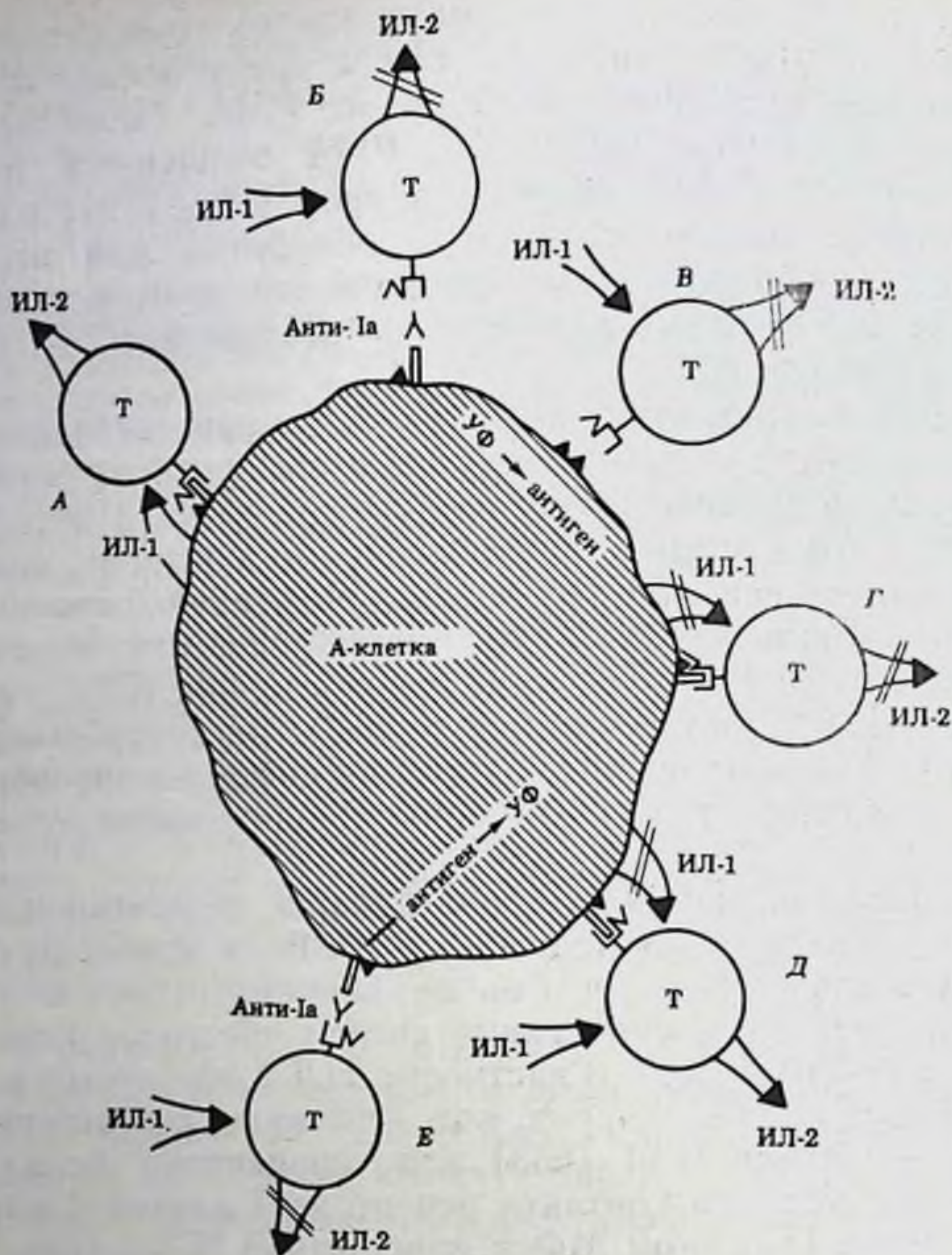


Рис. 10. Влияние обработки А-клеток анти-Ia антителами и ультрафиолетом на активацию антигеном Т-амплифайеров

Активация Т-амплифайеров (А); отсутствие их активации в результате добавления антител в Ia-молекулу (Б), сдвигивания Ia-молекулы под действием ультрафиолета (В) или в результате подавления ультрафиолетом секреции ИЛ-1 (Г); восстановление активности Т-амплифайеров при добавлении ИЛ-1 извне (Д); повторная инактивация антителами к Ia-молекуле (Е). Т в кружке — Т-амплифайер. Остальные обозначения те же, что на рис. 9

Две указанные выше активности — стимуляция секреции ИЛ-1 и экспрессии Ia-молекул на МФ —, по-видимому, находятся под противоположным контролем. Это следует из того, что ЛПС, индуцируя секрецию ИЛ-1, одновременно стимулирует синтез в МФ PGE_2 , который угнетает экспрессию Ia-белка (гл. I.3.3.1). Хотя ИЛ-1 способствует секреции ИЛ-2, избыток ИЛ-1, напротив, может угнетать продукцию ИЛ-2, поскольку ИЛ-1, так же, как индуцирующий его ЛПС, стимулирует синтез PGE_2 в МФ [1391]. Неидентичность МФ, способствующих продукции ИЛ-2 Т-амплифайерами и угнетающих этот процесс, описана в гл. III.6.2.

III.3.3. Продукция факторов, обеспечивающих функцию А-клеток при распознавании антигенов

Хотя стимуляция экспрессии Ia-белков и секреции ИЛ-1 может быть вызвана путем искусственной активации МФ, более существенно, что те же процессы индуцируются двумя соответствующими факторами, секретируемыми в ходе реакции на антиген, — MAF¹⁴ или MIRF¹⁵ и GM-CSF¹⁶. MAF стимулирует дифференцировку, внутриклеточный метаболизм, обмен и активность ферментов в моноцитах человека и МФ животных, что приводит к изменению их морфологии, резкому увеличению мембранной экспрессии FcR и C3R, а также Ia-белков мыши [163, 310] и человека [437], связанному с активацией их синтеза. Одно из следствий этого процесса — возникновение способности МФ лизировать не только покрытые антителами КМ (активация ADCC¹⁷), но и нативные опухолевые клетки [1596, 1337]. Может оказаться, что лизис макрофагами, активированными MAF, тех Т-клеток-индукторов, которые продуцируют MAF и располагаются рядом с активированными ими МФ [1648], лежит в основе саморегуляции продукции этого фактора.

Описанные в гл. I.3.3.1 противоположные эффекты на дифференцировку и пролиферацию МФ воспроизводятся указанными факторами. Стимулируя дифференцировку МФ и экспрессию их Ia-белков, MAF либо не оказывает влияния на пролиферацию их предшественников, либо даже подавляет ее. Эти противоположные эффекты особенно четко выражены при действии выделяемого Т-клетками лимфокина на незрелые моноциты и промиелоциты человека: их созревание, сопровождающееся экспрессией HLA-DR антигена и способностью вызывать ADCC, сочетается с угнетением их пролиферации [437]. Напротив, пролиферацию макрофагальных предшественников вызывает другой фактор — CSF, который также стимулирует секрецию ИЛ-1 макрофагами. Этот фактор продуцируется Т-лимфоцитами, активированными антигеном [544, 548] или Кон А [1398], а также клетками тимомы EL-4, активированными РМА [1090].

Факторы MAF и CSF не производятся самими МФ: их обработка антигенами или митогенами (Кон А и ФГА) в отсутствие Т-клеток не вызывает ни секрецию ИЛ-1, ни экспрессию Ia-белков, ни активацию цитотоксичности МФ. Поскольку указанные факторы секретируются Т-лимфоцитами при их реакции на антиген или митоген [161, 1144], возникают вопросы: каковы естественные условия продукции этих факторов в ходе обычного иммунного ответа и какие именно Т-клетки их производят?

¹⁴ Macrophage activating factor — фактор, активирующий МФ.

¹⁵ Macrophage Ia-recruiting factor — фактор, способствующий Ia-экспрессии на МФ.

¹⁶ Granulocyte macrophage-colony stimulating factor — фактор, стимулирующий рост колоний гранулоцитов и МФ.

¹⁷ Antibody-dependent cytotoxicity — антителозависимая цитотоксичность.

Можно предположить, как это видно из рис. 9, В, что источником двух факторов служит специальная категория Т-клеток-индукторов при их активации антигеном, ассоциированным с Ia-молекулой МФ. Действительно, факторы, стимулирующие как секрецию ИЛ-1 макрофагами [544], так и экспрессию Ia-белков на их поверхности [163], продуцируются иммунными Т-клетками только при их инкубации с соответствующим антигеном, если он представлен на МФ, идентичных Т-клеткам по МНС. Такая вспомогательная функция Т-индукторов выявляется не только в культуре, но и *in vivo*: Ia⁺ МФ, отсутствующие у мышей *pude* и необходимые для активации Т-клеток антигеном, появляются у этих мышей после введения им только медуллярных тимочитов [2115].

Хотя Т-индукторы совпадают по Lyt-фенотипу (Lyt-1⁺23⁻) с Т-амплифайерами — продуцентами ИЛ-2, эти два типа Т-хелперов, по-видимому, не идентичны. Их можно различить с помощью антител к маркерам, отличным от Lyt-1, 2, 3. В частности, получены МкАТ к Т-клеткам (составляющим 10—20% клеток селезенки и лимфоузлов), которые подавляют пролиферативную реакцию на Кон А за счет угнетения секреции ИЛ-1, но не влияют ни на продукцию ИЛ-2 активированными Т-клетками (при добавлении готового ИЛ-1), ни на реактивность к ИЛ-2 активированных Кон А Т-клеток, т. е. не взаимодействуют с Т-клетками, продуцирующими ИЛ-2 и реагирующими на него [1144]. С помощью таких антител Т-индукторы должны быть отделены от Т-амплифайеров.

Для индукции ИЛ-2 не только Кон А, но и аллоантигенами в МЛС также требуются две популяции реагирующих клеток Ly1, различающиеся экспрессией маркера Qa-1 [1499]. Можно думать, что этот маркер также различает Т-амплифайеры и Т-индукторы. Вместе с тем некоторые клоны Т-клеток мыши [522] и человека [1545] секретируют и ИЛ-2, и CSF, что оставляет нерешенным вопрос о возможной неидентичности двух типов хелперов Т-Т — продуцентов ИЛ-2 и CSF. Частота Т-клеток, продуцирующих эти два лимфокина в МЛС, сходна (около 1/2000) и в обоих случаях возрастает в 4 раза в присутствии добавленного извне ИЛ-1 [1090].

Еще менее изучены вопросы о различии между Т-клетками — продуцентами ИЛ-2 и лимфокинов MAF и MIRF, а также между Т-индукторами, продуцирующими CSF и MIRF, (которые стимулируют две независимые активности МФ — продукцию ИЛ-1 и экспрессию Ia-молекул). В пользу неидентичности Т-клеток, секретирующих ИЛ-2, с одной стороны, и MAF и MIRF — с другой, свидетельствует ряд фактов. Во-первых, получена стабильная линия Т-индукторов (путем многократной активации антигеном, представленным на МФ), которые секретируют только один фактор, стимулирующий частоту экспрессии Ia-белка (от 1 до 60—80%) на культивированных *in vitro* МФ [163]. Во-вторых, при анализе большого числа клонов стабильных линий Т-клеток

[670, 1017] и Т-гибридом [1800], продуцирующих эти факторы, установлено отсутствие корреляции уровня продукции МАФ и ИЛ-2.

Линия клонированных Т-клеток $L_2(Lyt-1+23-)$ производит ИЛ-2, CSF и МАФ с разной интенсивностью и в разные сроки после активации антигеном: соответственно через 12—24, 24—48 и после 48 ч; утрата продукции ИЛ-2 у варианта этой линии сочетается с сохранением продукции CSF и МАФ [1625]. Продукция МАФ в отсутствие секреции ИЛ-2 клоном Т-хелперов, специфичных к антигену, четко воспроизводится, если антиген представлен не МФ, а клетками В-лимфомы [147a], которая, возможно, не секретирует ИЛ-1, необходимый для продукции ИЛ-2, но не для продукции МАФ. Ситуация осложняется тем, что МАФ и другие факторы, действующие на МФ, могут продуцироваться не только хелперными, но и цитотоксичными линиями Т-клеток [670, 1625]. Кроме того, окончательно не установлено, идентичны ли МАФ и MIRF — лимфокины, тестируемые соответственно по активации цитотоксичности МФ и экспрессии их Ia-белков. Хотя разделить эти два фактора не удалось при изучении секретирующих их 64 клонов Т-гибридом, очевидно, что стимуляция Ia-экспрессии на МФ не требуется для активации их цитотоксичности [225].

Полная корреляция секреции МАФ, MIRF и интерферона- γ (ИФ- γ) клонированными клетками Т-гибридомы и их инактивация при pH 2 [2320] указывает на связь всех этих активностей с ИФ- γ . Введение последнего в культуру клеток макрофагальной опухоли P388D1 мыши [1451] или эндотелия человека [388] приводит к 10-кратному возрастанию уровня мРНК, кодирующей Ia-белки, что может послужить одной из причин возрастания числа АОК при введении мышам ИФ- γ вместе с антигеном. Тем не менее связь активностей МАФ и MIRF с ИФ- γ может оказаться не прямой. Во-первых, в отличие от первых двух факторов ИФ- γ секретируется преимущественно клетками $Lyt-2^+$ при их активации как Кон А [745], так и аллоантигеном в MLC [1135a] (способность клеток $Lyt-1$ секретировать ИФ- γ возникает только после их дополнительной стимуляции РМА [395]). Во-вторых, если МАФ и ИФ- γ используются в субоптимальных дозах, выявляется их синергизм в активации цитолитической функции МФ на клетки опухоли [1584a, 769a], причем вклад только ИФ- γ , но не МАФ отменяется антителами к ИФ- γ [769a].

III.3.4. Активация В-лимфоцитов факторами Т-хелперов

Функции Т-клеток хелперной группы не исчерпываются секрецией факторов, которые обеспечивают пролиферацию и дифференцировку как их самих, так и ЦТЛ. Одно из непосредственных следствий распознавания антигена Т-хелперами — выделение еще одной серии факторов, которые вызывают пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов. Хотя на некоторых В-лимфомах, трансформированных или клонированных линиях В-клеток и части В-бластов человека [2172, 1427, 1033a] и мыши [1455] выявляются рецепторы к ИЛ-2, неотличимые от таких же рецепторов Т-бластов по молекулярной массе, их плотность на поверхности клетки и аффинитет их связи с ИЛ-2 в 20—100 раз ниже, чем у Т-лимфоцитов. Поэтому высокоочищенный ИЛ-2 вызывает слабую пролиферацию чистых В-бластов и синтез ими IgM в культуре (остается неизвестным, оказывает ли ИЛ-2 какой-либо эффект на рост и дифференцировку В-клеток *in vivo* при их реакции на антиген в отсутствие Т-лимфоцитов).

Напротив, ИЛ-2 активно способствует дифференцировке В-клеток в АОК в присутствии антигена при наличии в культуральной среде другого фактора Т-лимфоцитов, обозначенного TRF¹⁸ или BCDF¹⁹ [1170, 2004]. Поскольку стимулирующее действие ИЛ-2 на образование антител [855] и пролиферацию В-лимфоцитов [1152а] отменяется при полном удалении Т-лимфоцитов из системы [548], следует полагать, что этот эффект обусловлен действием ИЛ-2 на Т-лимфоциты, которые сами ИЛ-2 не образуют.

Тем не менее комбинация высокоочищенных ИЛ-2 и BCDF в низких дозах оказывает аддитивный эффект на секрецию IgG клоном В-клеток человека в отсутствие антигена и Т-клеток [1033а]. Кроме того, эффект ИЛ-2, стимулирующий пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов человека, получен в отсутствие Т-клеток с помощью РМА, который вызывает экспрессию ИЛ-2-рецепторов даже на покоящихся В-клетках [1999а] и резкое возрастание частоты и аффинитета этих рецепторов на клоне В-клеток, трансформированных вирусом Эпштейна—Барр [1615а]. В любом случае ИЛ-2-рецепторы, возникающие на поверхности В-клеток после их активации, трансформации и клонирования, отличаются от таких же рецепторов на Т-клетках низкой плотностью и аффинностью.

Указанная выше возможность продукции факторов стимуляции Т- и В-клеток разными субпопуляциями Т-лимфоцитов подтверждается обнаружением линий Т-клеток мыши [2004, 1631] и человека [1426, 2295, 1127], которые не производят ИЛ-2, но растут и производят TRF после активации соответствующим антигеном в присутствии ИЛ-2. Эти клонированные, ИЛ-2-зависимые линии Т-лимфоцитов, хотя и несут обычные маркеры клеток хелперной группы (Lyt-1⁺2⁻), не являются амплифайерами (т. е. не обеспечивают рост и дифференцировку Т-клеток), но выполняют функцию хелперов Т-В, т. е. выделяют факторы, необходимые для дифференцировки В-клеток. Хелперы Т-В крысы также не идентичны амплифайерам: последние несут мембранный маркер ОХ22, экспрессированный на 30% Т-клеток хелперной группы (W3/25⁺) и отсутствующий на хелперах Т-В [1296].

Для продукции TRF клонированными Т-хелперами, специфичными к определенному антигену, обычно необходимо их взаимодействие с тем же антигеном, представленным на МФ сингенного гаплотипа H-2. Только после этого на поверхности хелперов Т-В возникает рецептор ко второму сигналу, что определяет их чувствительность к ИЛ-2: обработка хелперов МкАТ к ИЛ-2-рецептору отменяет способность ИЛ-2 активировать продукцию фактора роста В-лимфоцитов клонами хелперов Т-В с фенотипом Ly1 [882]. Таким образом, хелперы Т-В подобны иным Т-клеткам хелперной группы не только по мембранным Ly1-маркерам, но и по условиям активации антигеном, как это показано на рис. 11.

Существование специализированных популяций хелперов Т-В, отличающихся по своей функции от амплифайеров, установ-

¹⁸ T cell replacing factor — фактор, заменяющий Т-клетки.

¹⁹ B cell differentiation factor — фактор дифференцировки В-клеток.

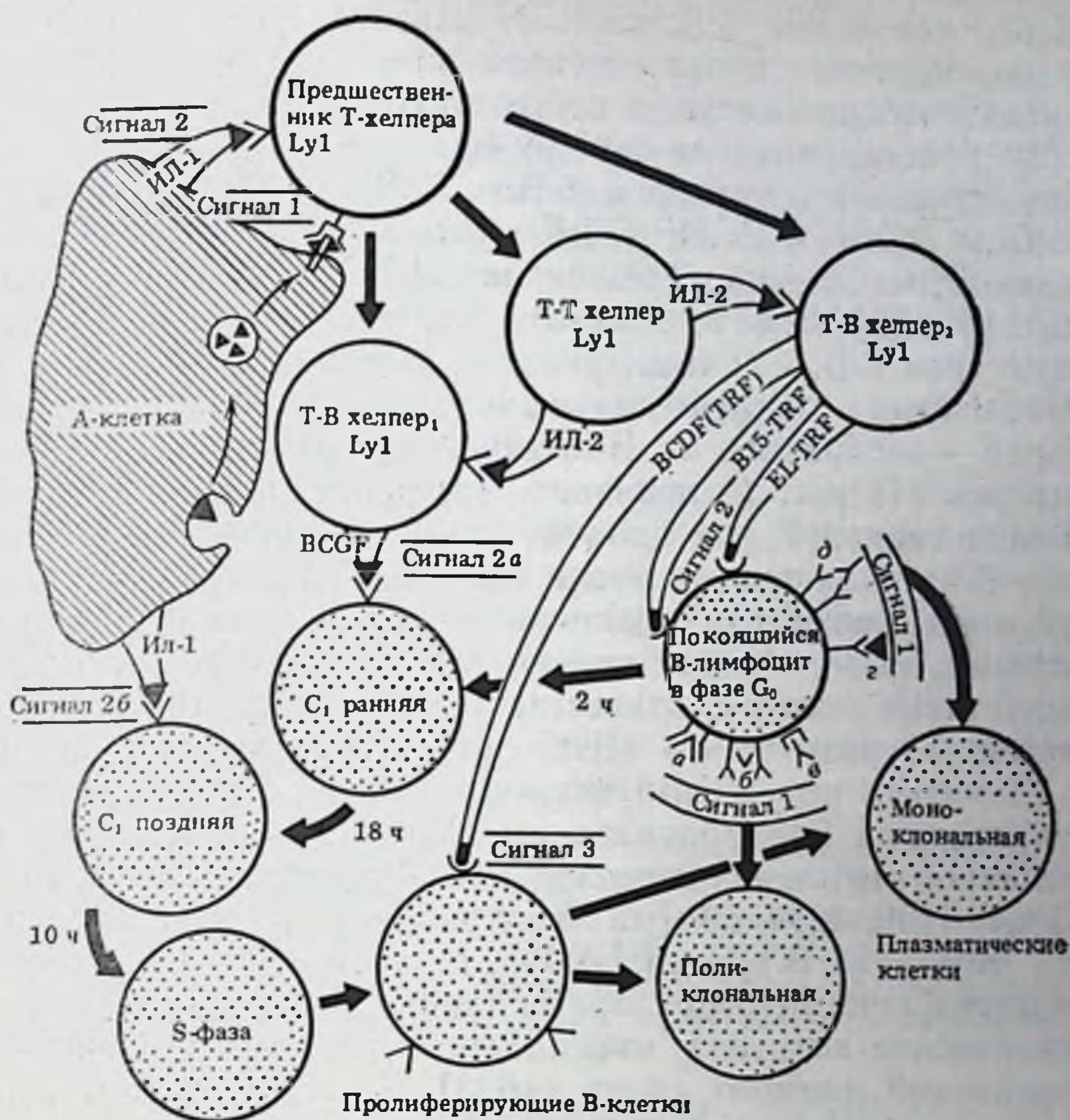


Рис. 11. Этапы и факторы каскада дифференцировки В-лимфоцитов

Т-В хелпер₁ — продуцент факторов роста В-клеток, Т-В хелпер₂ — продуцент факторов дифференцировки В-клеток

а, б, в, г, д — варианты сигнала 1 для активации В-клеток (см. текст); BCGF, ИЛ-1, EL-TRF, B15-TRF и BCDF — варианты последующих сигналов; G₀, G₁ и S — фазы цикла В-клеток (см. текст). Остальные обозначения те же, что на рис. 9

лено также с помощью Т-гибридом мыши [1631, 771, 1152, 1181, 324, 514] и человека [1501], полученных путем слияния с тимомой активированных антигеном или митогеном Т-хелперов. Эти Т-гибридомы, подобно линиям Т-хелперов, производят факторы, активирующие В-лимфоциты, но не действующие на другие клетки, т. е. отличные от ИЛ-2, CSF, Иф-γ и других факторов, секретируемых хелперами Т-Т. Однако в этом случае, в отличие от линий Т-хелперов, факторы выделяются самопроизвольно, т. е. контакт с антигеном не требуется для активации Т-гибридом.

На рис. 11 отражено представление о том, что хелперы Т-В неоднородны: выделяемый Т-амплифайерами ИЛ-2 способствует пролиферации по меньшей мере двух категорий хелперов Т-В, имеющих один и тот же фенотип Lyt-1^{+2-} , Ia^{+} , но секретирующих разные факторы. Одна из этих категорий (Т-В хелпер₁) обеспечивает только пролиферацию В-лимфоцитов, а продуцируемые ею факторы тестируются по включению ^3H -тимидина и

обозначаются BCGF²⁰ или BRF²¹. Другая категория (Т-В хелпер₂) ответственна только за дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки, а продуцируемые ею факторы (BCDF или TRF) тестируются по синтезу Ig или антител.

Неидентичность хелперов Т-В₁ и Т-В₂, продуцирующих соответственно BCGF и BCDF (TRF), установлена при изучении как клонированных линий Т-хелперов [1577], так и Т-гибридом [1152, 1181, 324, 514]²²; в любом случае оба типа клонированных хелперов Т-В, как выше указывалось, не продуцируют ИЛ-2.

Необходимое условие для выявления активности указанных факторов — экспрессия на В-лимфоцитах реагирующих с ними рецепторов. На рис. 11 показано, что рецептор к BCGF, обеспечивающий сигнал 2 для пролиферации, возникает на активированных В-клетках только после сигнала 1, который может быть индуцирован контактом различных агентов с соответствующим рецептором на мембране малого (покоящегося) В-лимфоцита. К числу таких агентов, ответственных за индукцию сигнала 1, относятся: а) митогены — ЛПС или декстран-сульфат [1152, 324]; б) анти-μ или анти-δ антитела или их F(ab')₂ фрагменты (моновалентный Fab-фрагмент не эффективен, поскольку он не обеспечивает сцепления соседних анти-Ig рецепторов на мембране) [1501, 1426, 2294, 881]; в) Fc-фрагмент Ig, реагирующий с FcR на мембране В-клетки [2063]; г) антиген, контактирующий с соответствующими рецепторами данного клона [1598]; д) антиидиотипические антитела, взаимодействующие с идиотипической детерминантой данного клона [1623]. Таким образом, сигналы а, б, в — неспецифические, и их возникновение приводит к поликлональной активации В-клеток, в то время как индукция специфических сигналов г и д — к активации В-клетки только данного узкоспециализированного клона.

Последовательные этапы активации В-лимфоцитов изучены наиболее детально при использовании в качестве сигнала 1 малой дозы анти-IgM антител [441, 883]. Обработка этими антителами покоящихся В-клеток (в фазе G₀) в течение 1—2 ч достаточна для перевода 50% всех В-клеток в фазу G₁ раннюю, что проявляется в увеличении размера клетки и стимуляции синтеза РНК, а также в возникновении на клеточной поверхности рецептора к BCGF. Эти ранние изменения покоящейся В-клетки обусловлены последовательными внутриклеточными событиями (гидролиз инозитол-фосфолипидов → активация протеинкиназы C → мобилизация Ca²⁺), ингибитор каждого из которых отменяет дальнейший процесс активации В-клетки [1397а]. Контакт BCGF с возникшим на мембране рецептором (сигнал 2а, рис. 11) переводит В-клетку спустя 16—18 ч в фазу G₁ позднюю, что про-

²⁰ В cell growth factor — фактор роста В-клеток.

²¹ В cell replication factor — фактор репликации В-клеток.

²² Даже при секреции обоих факторов единым Т-клоном условия их продукции принципиально различны: только BCGF, но не BCDF синтезируется покоящимися клетками, пролиферация которых ингибирована [710а].

является в возникновении на поверхности рецептора к ИЛ-1, выделяемого А-клетками. Только спустя 10 ч после контакта ИЛ-1 с рецептором (сигнал 2б) В-клетки переходят в S-фазу и делятся, экспрессируя на поверхности дочерних клеток рецепторы к BCGF. Таким образом, активация пролиферации В-лимфоцита, требующая 30 ч, четко делится на два этапа, каждый из которых связан с действием соответствующего фактора — BCGF, секретируемого хелпером Т-В₁, и ИЛ-1, секретируемого А-клетками. Оба эти этапа (переход $G_0 \rightarrow G_1$ и $G_1 \rightarrow S$) выявляются только в зрелых В-лимфоцитах, несущих маркер Lyb-5 и составляющих 50% всех В-клеток мыши²³.

В последующем оказалось, что факторы BCGF неоднородны. Один из них, обозначенный BSF-1²⁴, служит сам начальным сигналом для покоящихся В-лимфоцитов мыши: после совместной инкубации BSF-1 с этими клетками в течение 24 ч они приобретают чувствительность к высокой дозе анти-IgM антител. Это выражается в переходе В-клеток в S-фазу [1638] и резком возрастании экспрессии Ia-молекулы на их поверхности после 12 ч инкубации с антителами к IgM [1512].

МКАТ к BSF-1 позволили очистить его аффинной хроматографией, установить его молекулярную массу (20 кДа) [1495] и его идентичность с одним из факторов (BCDF_γ), ответственных за дифференцировку В-клеток, синтезирующих IgG [2143a]. Клонирование кДНК, кодирующей три фактора — BSF-1, BCDE_γ и MIRF (стимулирующий Ia-экспрессию на В-клетках), подтвердило существование продукта общего гена — единого лимфокина, обозначенного ИЛ-4 [1480a].

Контакт рецепторов В-бластов с иным BCGF (17—20 кДа) мыши [1152] и человека [2295] приводит к пролиферации В-клеток, рост которых зависит только от BCGF. Несмотря на активную пролиферацию, эти лимфоциты не дифференцируются в плазматические клетки и не синтезируют Ig. Поскольку, однако, после двух дней пролиферации на их поверхности возникают рецепторы к BCDF (TRF), добавление последнего служит сигналом 3, который вызывает поликлональную дифференцировку в плазматические клетки, синтезирующие Ig различных специфичностей.

Другой путь дифференцировки АОК — контакт BCDF (TRF) с соответствующим рецептором (сигнал 2), возникающим на малых лимфоцитах после их обработки одним из перечисленных источников сигнала 1. В этом случае на В-клетках отсутствуют рецепторы к BCGF, они не пролиферируют и не адсорбируют BCGF, но прямо превращаются в плазматические клетки (терминальная дифференцировка без пролиферации). Если в качестве сигнала 1 использовали специфический агент — антиген (сиг-

²³ Отсутствие зрелых В-клеток Lyb-5⁺ у самцов СВА/Н с рецессивной *xid*-мутацией X-хромосомы (гл. 1.3.3.5) приводит к неспособности их В-клеток Lyb-5⁻ (так же, как незрелых В-клеток новорожденных мышей обычных линий) пролиферировать под действием указанных факторов.

²⁴ B cell stimulation factor — фактор стимуляции В-клеток.

нал 1g) [771, 2004, 514] или антитела к данному идиотипу (сигнал 1d) [1623], то дифференцируются В-лимфоциты только соответствующего клона и образовавшиеся плазматические клетки секретируют антитела узкой специфичности или с определенной идиотипической детерминантой.

BCDF, вызывающие дифференцировку синтезирующих Ig В-клеток, представляют собой, помимо упомянутого ИЛ-4 (BSF-1), еще два фактора, один из которых (BCDFI) действует на пролиферирующие В-клетки (т. е. ранее активированные BCGF), а другой (BCDFII) — на малые В-лимфоциты в фазе G₀. Эти два BCDF-фактора не идентичны по молекулярной структуре: BCDFI (полностью очищенный продукт Т-лейкемии человека) имеет молекулярную массу 19 и 21 кДа [853], а BCDFII — 22 и 36 кДа, рI 4,8—5,5 [852]. Созревание плазматических клеток мыши [1632] и человека [1309], секретирующих антитела разных классов, также происходит под действием различных факторов — BCDF_μ (30 кДа), BCDF_γ (20 кДа), BCDF_α (М. м. не известна).

Терминальная дифференцировка покоящихся В-клеток в АОК также требует по меньшей мере двух разных BCDFII, обозначенных как ранний и поздний TRF. Первый секретируется Т-гибридомой B151K12 (обозначается B15-TRF) и действует на В-клетки только в течение первых 48 ч их культивирования с антигеном, а второй секретируется тимомой EL-4, активированной РМА (обозначается EL-TRF), и действует на В-клетки в течение последних 24 ч их культивирования [1454]²⁵.

Некоторые линии Т-В хелперов, активированные соответствующим антигеном, секретируют фактор созревания В-клеток BMF (B cell maturation factor), который прямо вызывает: а) поликлональную дифференцировку всех малых В-клеток в секретирующие IgM плазматические клетки без какой-либо предварительной обработки, т. е. без сигнала 1 [1631]; б) экспрессию L-цепи на мембране пре-В-клеток, т. е. индуцирует перестройку генов Ig в пре-В-клетках, обеспечивая их созревание [1541]. Очищенный в 3000 раз BMF представляет собой гидрофобный высокогликозилированный белок с молекулярной массой 16 кДа [1865].

Из приведенных данных следует, что рецепторы, индуцированные сигналом 1 на В-лимфоцитах к двум группам факторов — BCGF и BCDF (TRF), — не идентичны. Это было прямо установлено с помощью использования для адсорбции указанных факторов двух В-клеточных лейкемических линий: одна из них — BCL₁ мышей BALB/c адсорбировала только BCGF, но не BCDF [2005] и оказалась исключительно удобной для тестирования пролиферативной активности BCGF мыши и человека [2064]; другая — трансформированная вирусом Эпштейна—Барр линия CESS, напротив, адсорбировала только BCDF, но не BCGF, что вызывало секрецию Ig без пролиферации клеток [2295].

²⁵ EL-TRF может быть отделен от содержащихся в той же надосадочной жидкости BCGF и ИЛ-2 с помощью соответственно изоэлектрофокусирования и хроматографии на фенил-сефарозе.

III.3.5. Основные закономерности каскада антигензависимой дифференцировки лимфоидных клеток

На основании изложенной модели следует суммировать основные закономерности каскада дифференцировки А-клеток и лимфоцитов при распознавании антигена.

1. Первое (и необходимое) условие распознавания антигена — присутствие Ia-молекулы (либо аллогенной, либо сингенной) на поверхности А-клетки макрофагального типа.

2. МФ (и другие А-клетки, гл. III.6.2) выполняют две главные функции: а) переработку («процессинг») антигена и реэкспрессию его фрагментов на своей мембране в комплексе с Ia-молекулой; б) секрецию ИЛ-1, необходимого для активации предшественника Т-хелпера (только вторая функция требуется, если антигеном служит аллогенная Ia-молекула, представленная на стимуляторах, не являющихся А-клетками).

3. Указанные функции А-клеток не зависят одна от другой и связаны с действием разных факторов, способствующих либо мембранной экспрессии Ia-молекулы, либо секреции ИЛ-1. Вероятные кандидаты на роль этих факторов — MIRF и CSF.

4. Оба эти фактора, возможно, производятся специальной категорией Т-клеток — индукторов $Lu1$ — после их активации чужеродным антигеном в комплексе с Ia-молекулой А-клетки.

5. Для активации покоящихся Т-лимфоцитов необходимы два последовательных сигнала: сигнал 1 (специфический), связанный с взаимодействием антигена с предсуществующим на мембране рецептором, индуцирует рецептор к сигналу 2 (неспецифическому), который отсутствует на мембране покоящихся Т-клеток.

6. Условия активации двух субклассов Т-клеток — предшественников Т-Т хелперов (амплифайеров) и пЦТЛ — кардинально различаются: а) по специфичности антигенсвязывающих рецепторов, обеспечивающих сигнал 1 (комплекс антигена с Ia-молекулой для амплифайеров и с H-2K/D/L-молекулой — для пЦТЛ); б) по форме представления антигена, обеспечивающего сигнал 1 (только на живой клетке-стимуляторе для амплифайеров и сам по себе или на липосоме — для пЦТЛ); в) по сигналу 2 (ИЛ-1 для амплифайеров и ИЛ-2+CTDF — для пЦТЛ); г) по выделению пЦТЛ (или иными Т-клетками $Lu123$) дополнительного фактора (ИФ- γ), способствующего чувствительности пЦТЛ к факторам амплифайеров; д) по необходимости А-клеток только для активации амплифайеров, но не пЦТЛ, которые могут быть активированы в отсутствие А-клеток.

7. Неспецифические (вторые) сигналы взаимосвязаны: секреция ИЛ-2 зависит от функции ИЛ-1.

8. ИЛ-2, продуцированный Т-амплифайерами, является универсальным сигналом 2, обеспечивающим пролиферацию (рост стабильной линии и клонов) любых активированных Т-клеток независимо от их функции — самих амплифайеров, пролиферирующих Т-клеток памяти, ЦТЛ, Т-В хелперов двух категорий.

9. Факторами роста и дифференцировки для любых клеток — МФ, Т- и В-лимфоцитов — являются различные вещества. Во многих случаях пролиферация и дифференцировка данного типа клеток — два противоположных процесса, находящихся под различным генетическим контролем. При активации В-лимфоцитов не идентичны не только факторы роста и дифференцировки (BCGF и BCDF), но и секретирующие их Т-В-хелперы.

10. Индукция Т-клеточных факторов роста и дифференцировки, так же как активация В-клеток, может быть поликлональной, т. е. вызванной без участия антигена — митогеном или антителами к мембранным маркерам Т- и В-клеток. В некоторых случаях такие антитела служат единственным сигналом, достаточным для активации, а их эффекты обусловлены транслатеральной агрегацией мембранных белков и могут быть связаны с механизмом размножения Т-лейкемических клеток.

III.4. Молекулярная природа и биологические особенности факторов роста и дифференцировки Т-лимфоцитов и реагирующих с ними рецепторов

Описанные выше закономерности ставят новые вопросы, которые в настоящее время являются предметом интенсивных исследований. Это вопрос о структуре ростовых и дифференцировочных факторов (и их генов), влияющих на функцию Т-, В-лимфоцитов и А-клеток; условиях и агентах, способствующих и препятствующих секреции этих факторов и реализации их эффектов *in vitro* и *in vivo*; природе рецепторов к этим факторам, условиях их возникновения на мембране и механизмах индукции следующего этапа — активации клетки при взаимодействии данного рецептора с соответствующим фактором; вариантах А-клеток и разнообразии их активностей; роли экспрессии Ia-молекул на А-клетках для развития иммунного ответа; этапах и механизмах процессинга антигена в А-клетках, ориентации процессированного антигена при его реэкспрессии на мембране А-клеток и природе его ассоциации с Ia-молекулой; разнообразии и свойствах Т-индукторов, обеспечивающих дифференцировку иных, помимо ЦТЛ, категорий Т-лимфоцитов, — эффекторов ГЗТ, Т-Т хелперов, Т-В хелперов, Т-супрессоров; регуляции и торможения супрессорами каждого из указанных процессов — секреции интерлейкинов, возникновения чувствительности к ним, дифференцировки пЦТЛ и т. д.; связи описанного каскада дифференцировки, изученного в культуре, с реальными процессами распознавания антигена *in vivo*.

III.4.1. Интерлейкин-1

Из множества обозначенных на рис. 9 и 10 факторов, участвующих в активации макрофагальных и лимфоидных клеток при распознавании антигена, ИЛ-1 и ИЛ-2 (TCGF) изучены наибо-

лее детально. ИЛ-1 обладает активностью металлозависимого энзима карбоксипептидазы, его эффект на Т-клетки, обеспечивающий продукцию ИЛ-2 (гл. III.3.2), отменяется ингибитором карбоксипептидазы фенантролином и ионами Cd^{++} [456]. Резистентность ИЛ-1 к различным протеазам и эндогенным пептидазам (он разрушается папаином только в присутствии 8 М мочевины), так же как его относительная термоустойчивость и стабильность к окислителям, позволяют предполагать наличие плотно упакованной конфигурации белковой молекулы. Высокая степень очистки (активность ИЛ-1 выявляется при концентрации 10^{-11} М) из культуральной среды макрофагальной опухоли мыши P388D1 [1392] или миеломоноцитарного лейкоза человека [1114], инкубированных с ЛПС или РМА, достигнута с помощью последовательных этапов: осаждения 65%-ным раствором сульфата аммония, хроматографией на фенил-сефарозе, изоэлектрофокусировкой. Полностью гомогенный препарат получен при сочетании ионообменной и аффинной хроматографии на иммуносорбенте антител к ИЛ-1 мыши [1393] и человека [1087]. Он представляет собой единичную негликозилированную полипептидную цепь, лишенную цистеина, с молекулярной массой 12—13 кДа (у мыши) и 17,5 кДа (у человека). Три варианта ИЛ-1 — α , β и γ — различаются по заряду, хотя их pI не превышает 5,5 ввиду избытка заряженных АК. Судя по неидентичности последовательности АК молекул ИЛ-1 α и ИЛ-1 β и кодирующих их клонов кДНК [1272a], по различиям свойств между секретированной МФ молекулой ИЛ-1 и инкорпорированной в его мембрану [1110], а также между секретированной МФ и линиями В-клеток человека [655a], имеется семейство молекул ИЛ-1, функционирующих в различных условиях.

Нуклеотидная последовательность кодирующего гена, установленная с помощью транскрипции клонированной кДНК мыши в *E. coli* [1211] или трансляции в ооцитах мРНК мыши [2241] и человека [112], показала, что в цитоплазме синтезируется предшественник ИЛ-1 из 269—270 АК с молекулярной массой 31-33 кДа, который, по-видимому, расщепляется протеазами того же МФ. Степень этого расщепления может достигать 4 кДа — эпитоп ИЛ-1, аффинно-очищенный МкАТ и сохраняющий его функцию [1055a].

Использование высокоочищенных препаратов ИЛ-1 (обычный выход ИЛ-1 — около 10 мкг на 1 л среды) и получение МкАТ к ИЛ-1 позволили установить, что вещество, сходное с ИЛ-1 или идентичное ему и имевшее ранее множество обозначений, обладает широким спектром биологических эффектов. В связи с тем, что ИЛ-1 обеспечивает секрецию ИЛ-2 Т-амплифайерами и переход в S-фазу Т- и В-лимфоцитов, активированных соответственно TCGF [1258] и BCGF [883], обычные критерии количественной оценки активности ИЛ-1 в данном препарате основаны на его способности стимулировать продукцию ИЛ-2 очищенными малыми Т-лимфоцитами под действием Кон А

в отсутствие А-клеток [547, 1142], клетками тимомы EL4 без дополнительных воздействий [545] или клетками Т-лимфомы LBRM-33 после их предварительной обработки в течение 6 ч смесью ИЛ-1 и ФГА [393]; в последнем случае чувствительность теста возрастает в 10^3 — 10^4 раза, а его длительность сокращается до 24 ч. Пролиферация тимоцитов при низкой их плотности в культуре и малой концентрации Кон А, индуцированная ИЛ-1, должна быть отделена от подобного эффекта ИЛ-2: последний в отличие от ИЛ-1 вызывает пролиферацию не только зрелых (PNA⁻), но и кортикальных (PNA⁺) тимоцитов при низкой концентрации (1%) сыворотки [547, 1515].

Оказалось, что наряду с непрямыми эффектами на пролиферацию лимфоидных клеток ИЛ-1 может вызывать пролиферацию тимоцитов мыши [391] и человека [1114] после их реакции на сингенную Ia-молекулу А-клеток [1704], что существенно для созревания тимоцитов в онтогенезе (гл. II.4.5). Кроме того, ИЛ-1 индуцирует пролиферацию эпителиальных, синовиальных клеток и фибробластов [1515, 1790], способствует продукции коллагеназы и эластазы фибробластами как в культуре [1617], так и *in vivo* у больных ревматоидным артритом [1391], секреции PGE₂ из МФ и антител из плазматических клеток [2247, 598]. Эти эффекты ИЛ-1, так же как увеличение экспрессии мембранных маркеров В-лимфоцитов (но не Т-клеток) — Ia, FcR, Ig, приводят к повышению чувствительности В-клеток к действию Т-хелперных факторов и возрастанию числа АОК [868]. Поскольку ИЛ-1 способствует также созреванию пре-В-клеток, индуцируя синтез L-цепи Ig и обеспечивая таким образом его мембранную экспрессию [667], следует полагать, что он выполняет функцию почти универсального катализатора иммунной системы. При введении животным ИЛ-1 вызывает секрецию белков острой фазы и пирогенный эффект [489], а также обеспечивает защиту Т-хелперов [256] и миелоидных клеток [1381] от токсического эффекта кортикостероидов.

Каждый из указанных эффектов ИЛ-1 может иметь прямое отношение к патогенезу ряда заболеваний, связанных с артрозами, фиброзами, аутоиммунными и хроническими воспалительными процессами, псориазом, поражением кожи и суставов. Хотя механизмы эффектов ИЛ-1 остаются неизученными, обнаружение связывающих его рецепторов на поверхности фиксированных клеток Т-лимфомы [664] и Т-гибридомы [1701], а также тяжелого иммунодефицита в отсутствие таких рецепторов [368] открыло перспективы для изучения этого вопроса. Первый этап такого изучения — выделение молекулы рецептора к ИЛ-1 (М. м. 79,5 кДа), в котором низкая плотность на мембране (500 молекул на клетку) сочетается с высокой аффинностью связывания ИЛ-1 (10^{-10} М) [483].

III.4.2. Условия продукции и эффективности ИЛ-2 и его молекулярная структура

В отличие от ИЛ-1, имеющего множество биологических эффектов, ИЛ-2 выполняет глобальную функцию — обеспечивает пролиферацию любых Т-клеток при условии возникновения на их поверхности рецептора к ИЛ-2 (см. обзоры [548, 665]). Открытие в 1978—1979 гг. ИЛ-2, обладающего активностью TCGF, оказалось решающим для понимания механизма активации Т-клеток митогенами. Предшествующая появлению этих данных обширная литература 60—70-х годов, касающаяся биофизических изменений плазматической мембраны, транспорта ионов, дестабилизации ДНК, происходящих в первые минуты контакта клеток с митогенами, по-видимому, не имеет отношения к механизмам активации пролиферативных реакций. В действительности лектины (Кон А, ФГА) вызывают не пролиферацию Т-лимфоцитов, а возникновение рецептора к ИЛ-2 на их плазматической мембране и секрецию ИЛ-2. Контакт ИЛ-2 с рецептором служит механизмом запуска последующих мембранных событий, приводящих к пролиферации Т-клетки, которая не требует присутствия лектина: удаление лектина не только не тормозит, но скорее стимулирует последующую пролиферацию Т-клеток мыши [71] и человека [68]. Последний факт прямо установлен на уровне клонов Т-хелперов: пролиферация их (но не клонов ЦТЛ) ингибируется малой дозой Кон А [470]. В связи с этим стандартные методы количественного определения содержания ИЛ-2 в препарате — оценка пролиферации чувствительных к ИЛ-2 (но не к лектинам) клеток стабильных Т-линий [662] или индуцированных Кон А Т-бластов, не пролиферирующих под действием самого Кон А [71, 1115].

В первых же исследованиях ИЛ-2 было установлено, что два феномена — индукция ИЛ-2 и рецептора к нему — возникают независимо один от другого в разных условиях и временных периодах, а иногда даже в разных Т-клетках. Для появления на мембране рецептора к ИЛ-2, возникающего раньше, чем сам ИЛ-2, достаточно прямого, т. е. без помощи других клеток контакта активатора-лиганда с очищенным покоящимся малым Т-лимфоцитом. Срок возникновения этого рецептора на Т-клетках варьирует при их инкубации с разными лигандами: 4 ч с Кон А [1140], 1—2 ч с анти-Thy-1 антителами [1039], 2—4 ч с МкАТ к антигенсвязывающему рецептору Т-клона человека [1352], 12 ч с аллоантигеном клетки-стимулятора в MLC [836]. Рецептор к ИЛ-2 синтезируется *de novo* и для его экспрессии не требуется перекрестное связывание мембранных молекул: этот процесс активируется Кон А в присутствии ингибирующего «кэппинг» цитохалазина В [1143], а также растворенными (нефиксированными на сефарозе) антителами к рецептору Т-клона, не вызывающими сборки таких рецепторов на мембране [1352].

Напротив, для секреции ИЛ-2 Т-клетками, которая обычно начинается несколько часов спустя после появления на поверх-

ности рецептора, необходимы и формирование комплексов мембранных молекул [1483], и помощь А-клеток, продуцирующих ИЛ-1 и экспрессирующих Ia-белки (последнее свойство, как выше упомянуто, необходимо при активации антигеном, но не митогеном). В связи с этим рецепторы к ИЛ-2 могут быть индуцированы на Т-клетках при отсутствии самого ИЛ-2, а возникновение пролиферативного эффекта ИЛ-2 требует больше времени и усложнения экспериментальных условий. Экспрессия рецептора — менее чувствительный к условиям процесс, чем синтез ИЛ-2, еще и потому, что рецепторы возникают на поверхности любых активированных Т-клеток независимо от их фенотипа, тогда как ИЛ-2 продуцируется только амплифайерами (см. рис. 9).

Сопоставление кинетики транскрипции генов рецептора к ИЛ-2 и самого ИЛ-2 (с помощью гибридизации выделенной мРНК с кДНК данного гена) подтвердило, что в оптимальных условиях активации клеток экспрессия рецептора к ИЛ-2 не зависит от синтеза ИЛ-2 [1091]. Не исключена, однако, возможность существования иного пути активации Т-клеток человека, связанного с одинаковыми условиями и кинетикой как экспрессии рецептора к ИЛ-2, так и секреции ИЛ-2. Такой путь, в частности, вызван воздействием на клетки РМА в комплексе с МкАТ 9.3 [788] к маркеру ЦТЛ (гл. IV.2.4.3).

Продукция ИЛ-2, так же как экспрессия рецепторов к нему и взаимодействие ИЛ-2 с рецептором, характеризуются исключительной динамичностью. А. Максимальная секреция ИЛ-2 наблюдается в интервале 12—18 ч инкубации с Кон А с последующим быстрым падением [749], хотя синтез ДНК достигает пика не ранее чем через 48 ч. Б. Плотность рецепторов к ИЛ-2 сильно снижается после удаления лектина [322] или аллоантигена мыши [76] и человека [825] и быстро восстанавливается после их повторного добавления, что четко коррелирует с восстановлением реактивности к ИЛ-2 (избыток ИЛ-2 в этих случаях не оказывает никакого влияния на плотность рецепторов к нему). В. После контакта ИЛ-2 с рецептором при 4° С он быстро исчезает с мембраны в результате эндоцитоза, происходящего при 37° С; ингибирование этого процесса метиламином предотвращает пролиферативный эффект ИЛ-2, но стабилизирует ИЛ-2 на клеточной мембране, что позволяет элиминировать ИЛ-2 путем обработки клеток глициновым буфером (рН 2.0) или их прогреванием при 56° С [548].

Интернализация комплекса ИЛ-2 с рецептором сопровождается его проникновением в лизосомы с последующей деградацией ИЛ-2 (50% за 70—80 мин) и возможным фосфорилированием его рецептора [1692], что может объяснить последующую стимуляцию экспрессии этого рецептора (в результате его предварительного взаимодействия с ИЛ-2 на мембране Т-бластов) [454]. Стимуляция экспрессии и аффинитета ИЛ-2-рецепторов на Т-лимфоцитах при обработке их высокой концентрацией ИЛ-2 [1656a] нуждается в транспортированном извне Ca^{++} , судя по блокировке активации Т-клеток ингибиторами трансмембранных каналов для ^{45}Ca [211].

Еще одна особенность ИЛ-2, объединяющая его с BCGF, состоит в его относительной видовой неспецифичности: оба ростовых фактора, продуцированных Т-клетками человека и крысы, вызывают рост соответствующих (Т- или В-) клеток человека, крысы и мыши, тогда как к тем же ростовым факторам мыши чувствительны лимфоциты только того же вида. С этими видовыми особенностями ИЛ-2 коррелирует неидентичность их молекулярной массы: 13—15 кДа для обоих видонеспецифических ИЛ-2 (человека и крысы) [1356, 665] и 30—38 кДа для видоспецифического ИЛ-2 мыши [1833, 1539, 1395]²⁶.

Различия молекулярных масс ИЛ-2 данного вида животных, так же как гетерогенность его рI (6—6,8 у человека, 5,4—5,5 у крысы и 3,8—4,8 у мыши), связаны со степенью гликозилирования этого белка: его обработка нейраминидазой или предотвращение гликозилирования с помощью туникамицина стабилизирует рI, не влияя на активность ИЛ-2 [375]. Это означает, что за функцию ИЛ-2 ответственна только пептидная часть молекулы. ИЛ-2 представляет собой одну полипептидную цепь (резистентную к действию дитиотрептола и 2-меркаптоэтанола, нуклеазам и 6 М мочевины), которая, хотя и разрушается трипсином и другими протеазами, характеризуется исключительной стабильностью: активность ИЛ-2 не меняется более 2 месяцев при 4°С и рН 7,2, в течение 12 ч при 37°С, 1 ч при 56°С, 15 мин при 70°С и 12 ч при варьировании рН от 2 до 9. Многоэтапная процедура очистки ИЛ-2 мыши может увеличить его концентрацию в 3000 раз с выходом 12% и пороговой активностью $4 \cdot 10^{-11}$ М [714].

Несмотря на тщательную очистку ИЛ-2, оставалось неясным, идентичен ли он другим факторам — BCGF, TRF, GM-CSF и CTDF, которые, хотя и различаются по своим биологическим эффектам, производятся Т-лимфоцитами одного и того же L_{yt}-фенотипа (L_{yt}-1⁺23⁻) в сходных условиях активации и близки к ИЛ-2 по биохимическим свойствам. Оказалось, что от большинства перечисленных факторов (BCGF, TRF, GM-CSF) ИЛ-2 хорошо отделяется с помощью хроматографии на фенил-сафаразе, основанной на гидрофобных взаимодействиях [846, 548]. Очищенный таким способом BCGF мыши отличается от ИЛ-2 молекулярной массой (14 кДа по сравнению с 21 кДа) и рI (6,4—6,6; 7,4—7,6 и 8,5—8,7 по сравнению с 3,8—4,8) [549].

Наиболее эффективна очистка ИЛ-2 аффинной хроматографией с использованием MkAT к ИЛ-2 [1691] или обратной фазы высокопродуктивной жидкостной хроматографии [1952]. Получение чистой молекулы с помощью последних методов позволило

²⁶ Обработка ИЛ-2 мыши додецилсульфатом натрия (SDS) или фракционирование в геле в редуцирующих условиях приводит к снижению молекулярной массы ИЛ-2 до 18—21 кДа при сохранении функциональной активности (независимо от источника ИЛ-2 (нормальные Т-лимфоциты или Т-лимфомы) и способов активации его синтеза (обработка клеток Кон А, ФГА, РМА) [323, 548, 665].

установить полную последовательность АК и получить данные об особенностях ее гидрофобной структуры [1692]. Полипептид ИЛ-2 человека состоит из 133 аминокислот, включая 22 остатка лейцина, и содержит единичный дисульфидный мостик (между остатками цистеина 58 и 105), который поддерживает конформационную структуру, существенную для сохранения функциональной активности ИЛ-2. Главный источник разнообразия этой молекулы, связанный с посттрансляционными изменениями, — степень гликозилирования 3-го остатка (треонина), которая варьирует в зависимости от источника ИЛ-2. Получение синтетических фрагментов этой молекулы — пептидов из 13—15 АК [67] — создает возможность изучения ее тонкой антигенной специфичности.

Анализ структуры гена ИЛ-2 оказался возможным благодаря выявлению богатых источников ИЛ-2 — некоторых Т-лимфомыши [1784, 546] и человека [703, 1561], продуцирующих ИЛ-2 после активации митогеном, РМА или самопроизвольно. Т-лимфомы EL-4 и LBRM-33, активированные соответственно РМА (4—20 нг/мл) и ФГА (1%), продуцируют в 5000 раз больше ИЛ-2, чем активированные Кон А Т-лимфоциты. Особенно обильно и без дополнительных воздействий производят ИЛ-2 некоторые Т-гибридомы мыши [1974, 66]. Один из подобных ИЛ-2 продуцентов — клон лейкемической линии человека Jugkat-III — был использован для получения соответствующей фракции мРНК (11,5S), транслированной в ооцитах. С помощью ее гибридизации с набором кДНК идентифицировали ген, кодирующий ИЛ-2, трансфецировали его в клетки обезьяны и индуцировали в них синтез ИЛ-2 [2048].

Этот ген размером 8 тыс. п. о. локализован в хромосоме 4q человека в виде единичной копии, включает 4 экзона, разъединенных интронами, кодирует полипептид из 153 АК (первые 20 — сигнальная последовательность) и не подвергается амплификации при резкой стимуляции синтеза ИЛ-2 в трансформированных Т-лимфобластах. Последний процесс связан с увеличением количественного уровня мРНК [1692, 871], который достигает острого пика 22 ч спустя после активации клонированных Т-клеток антигеном или митогеном и резко снижается к 48—60 ч, после чего возникает спектр иных мРНК, контролирующих деление клеток [609].

Быстрое выключение синтеза мРНК для ИЛ-2 может быть связано с активацией синтеза короткоживущего репрессорного белка, блокирующего транскрипцию и созревание мРНК. В связи с этим ингибирование синтеза белка циклогексимидом в интервале 4—18 ч приводит к 30-кратному возрастанию синтеза мРНК, а затем (после 25 ч) — синтеза ИЛ-2 [506]. Приведенные данные, объясняющие феномен резкой стимуляции секреции ИЛ-2 при подавлении синтеза белка [2147], исключительно важны для получения ИЛ-2 человека в больших количествах.

III.4.3. Фактор дифференцировки ЦТЛ (CTDF)

Особый интерес представляет вопрос о различии между ИЛ-2 и CTDF, обеспечивающих соответственно пролиферацию и дифференцировку пЦТЛ в одной и той же системе. Совокупность биологических эффектов указывает на неидентичность этих двух факторов: а) ИЛ-2 может функционировать как фактор роста Т-бластов в отсутствие эффекта CTDF — при тщательной очистке [392], разведении полуочищенного ИЛ-2 [2166] или его выделении из культуральной среды тимомы EL-4, инкубированной с РМА [542]; б) активность CTDF сохраняется после удаления ИЛ-2 из среды с помощью адсорбции клетками ИЛ-2-зависимой линии [2166, 630] или иммуносорбентом, содержащим антитела к ИЛ-2 [392]; в) активность CTDF выявляется в культуральной среде после исчезновения ИЛ-2 — при 5-дневной инкубации иммунных к вирусу Сендай лимфоцитов с тем же вирусом или вирусными пептидами [630]; г) два фактора — ИЛ-2 и CTDF — могут независимо продуцироваться разными клонами Т-гибридом мыши [1654, 1651], человека [1500] и крысы [2116a] (в последнем случае CTDF вызывает дифференцировку противоопухолевых ЦТЛ); д) некоторые форболовые эфиры [1297], так же как L-орнитин [486a], ингибируют дифференцировку ЦТЛ в MLC, стимулируя или не влияя на пролиферацию и секрецию ИЛ-2, в противоположность эффекту циклоспорина А (гл. III.4.5).

Более детальное изучение CTDF показало, что он состоит из двух разных молекул, обозначенных TCF1 и TCF2²⁷ и действующих на разные этапы дифференцировки пЦТЛ. TCF1, отделенный от ИЛ-2 за счет неспособности адсорбироваться на клетках ИЛ-2-зависимой линии, должен быть добавлен в смеси с ИЛ-2 в начале культивирования. Напротив, на 3-й день MLC должен быть добавлен TCF2, который, подобно ИЛ-2, адсорбируется на клетках ИЛ-2-зависимой линии и выявляется в среде культуры тимомы EL-4, активированной РМА, но, в отличие от ИЛ-2 и TCF1, инактивируется при рН 2²⁸ [542]. В соответствии с этими данными CTDF найден в двух молекулярных формах — 17 и 30 кДа [630]. Первый из них отделен от ИЛ-2 с помощью HPLC²⁹ [530].

Из приведенных данных следует, что в некоторых экспериментальных условиях CTDF сам по себе может способствовать дифференцировке пЦТЛ без участия иных факторов. Вместе с тем синергический эффект двух указанных компонентов CTDF с ИЛ-2 на генерацию ЦТЛ в MLC можно получить, если в качестве пЦТЛ используют незрелые PNA⁺ тимоциты, а в качестве

²⁷ T cell cytotoxicity inducing factor — фактор, индуцирующий цитотоксичность Т-клеток.

²⁸ Несмотря на подобие ИФ-γ по чувствительности к рН 2, TCF2 не является ИФ-γ, который отсутствует в среде культуры EL-4-РМА.

²⁹ High performance liquid chromatography — высокопродуктивная жидкостная хроматография.

их стимуляторов — лишенные Ia-белков аллогенные или сингенные клетки, модифицированные гаптенем. В этих условиях для генерации ЦТЛ, специфичных к антигенам стимуляторов, необходимо присутствие смеси очищенного ИЛ-2 и обоих компонентов СТДФ, не являющихся ИЛ-1, ИЛ-3, ИФ-γ [392, 542]. Подобные результаты получены при индукции ЦТЛ в МЛС аллоантигеном Н-2 [611a].

До сих пор не идентифицирован тот вариант Т-клеток, который производит TCF1 и TCF2. Хотя на рис. 9, Б показано, что ИЛ-2 и СТДФ продуцируются разными Т-субклассами, этот вопрос не выяснен. В пользу неидентичности Т-амплифайеров, производящих эти два фактора, свидетельствует возможное различие их фенотипа: в отличие от клеток Ly1 (L3T4+), секретирующих ИЛ-2 (гл. II.2), дифференцировке пЦТЛ к аллоантигену способствуют клетки Lyt-1+2+ [2141] или Lyt-2+ [1394], что указывает на возможность секреции ими СТДФ. Продукт рекомбинантного гена ИЛ-2 вызывает не только пролиферацию, но и дифференцировку ЦТЛ из чистых клеток Ly2 под действием лектина [2147] или аллогенных стимуляторов [531], несмотря на полное отсутствие в культуре иных Т-субклассов и МФ. Это означает, что именно Т-клетки Ly2, не продуцирующие ИЛ-2, должны секретировать СТДФ. Следует полагать, что очистка компонентов СТДФ позволит в ближайшие годы выяснить механизм взаимодействия между ИЛ-2, ИФ-γ, TCF1 и TCF2 и реальный вклад каждого из этих факторов в генерацию ЦТЛ.

III.4.4. Рецепторы к факторам роста и дифференцировки лимфоцитов: структура и функция

Важнейший этап этих исследований — установление природы и механизма функции рецепторов к указанным факторам. Для изучения рецепторов к ИЛ-2 использовали два подхода: адсорбцию интернально меченного (³⁵S-метионином или ³H-лейцином) ИЛ-2 на активированных Т-клетках, Т-лимфомах или клонах стабильных линий и предотвращение этой адсорбции (так же, как и вызываемой ИЛ-2 пролиферации) МкАТ к рецепторам.

Оказалось, что меченый ИЛ-2 полностью адсорбируется на активированных Т-клетках за 15—20 мин при 37°С или 45—60 мин при 4°С, причем число «акцепторных сайтов» на клетку колеблется от 1,5·10⁴ [1689] до 10·10⁴ [1175], независимо от того, чем они были предварительно активированы. Степень насыщения этих сайтов ИЛ-2 пропорциональна интенсивности пролиферации. Оба эти феномена — адсорбция ИЛ-2 и пролиферация — обратимо отменяются при предварительной обработке Т-клеток ИЛ-2-зависимой линии человека [1388] или Т-бластов крысы [1534] МкАТ мышей против маркера активированных Т-клеток (Tас).

Соответствующий белок, выделенный из стабильной линии ЦТЛ человека и осажденный анти-Tас антителами, представляет собой гликопротеид (включает ³H-D-глюкозамин) с молекулярной массой 50 кДа, если он извлечен из плазматической мембраны (мечен ¹²⁵I-лактопероксидазой) или 113 кДа — из цитоплазмы (мечен ³⁵S-метионином) [1175]. Анти-ИЛ-2 рецепторы, выделенные из мембраны Т-бластов мыши и крысы с по-

мошьо МкАТ, хотя и подобны по молекулярной массе (50—58 кДа), не идентичны по антигенной структуре [1534, 1535, 1690]. Пептидная часть составляет 2/3 молекулярной массы этой молекулы и содержит дисульфидные мостики [1176].

На одной и той же молекуле Тас мыши с помощью МкАТ обнаружены три детерминанты, из которых только одна (3С7) ответственна за связывание ИЛ-2 с клеткой. Несмотря на то, что две другие детерминанты (7D4 и 2Е4) не взаимодействуют с самим ИЛ-2, соответствующие МкАТ преципитируют меченый ИЛ-2, если клетки были предварительно им обработаны, а также подавляют индуцированную ИЛ-2 пролиферацию, в особенности при совместной обработке одних и тех же клеток [1264, 1522]. Приведенные данные косвенно указывают на существование в молекуле рецептора к ИЛ-2 активного центра и «константного участка», выявляемых разными МкАТ.

Несмотря на очистку ИЛ-2-рецептора до полной гомогенности с помощью последовательной аффинной хроматографии и HPLC, что позволило провести саквенциальный анализ части молекулы [2120], транскрипция соответствующего гена выявила две разные мРНК [1479]. Оказалось, что ИЛ-2-рецептор, выделенный и очищенный с помощью МкАТ анти-Тас, связывает ИЛ-2 с низким аффинитетом и отличается от высокоаффинных ИЛ-2-рецепторов 10-кратным превышением плотности на мембране, более медленным исчезновением и реэкспрессией при различных воздействиях на клетки и даже противоположной зависимостью мембранной экспрессии от добавления ИЛ-2 [1905]. Высокоаффинные рецепторы к ИЛ-2, представленные на мембране с низкой частотой, остаются неизученными.

Хотя те же анти-Тас антитела предотвращают не только пролиферацию при реакции Т-клеток на растворимые, ауто- или аллоантигены, но и генерацию ЦТЛ в MLC (а также помощь Т-хелперов при индукции митогеном лаконоса синтеза Ig В-клетками) [453], вопрос о неидентичности рецепторов к ИЛ-2 и CTDF остается невыясненным. В пользу такой неидентичности свидетельствуют указанные выше данные о неспособности ИЛ-2-зависимых линий клеток адсорбировать CTDF, хотя линии, избирательно связывающие CTDF, до сих пор не обнаружены. (Рецептор к CTDF человека может быть связан с молекулой 70 кДа, экспрессированной на MLC-бластах с плотностью 66 000 на клетку и не реагирующей с МкАТ к ИЛ-2-рецептору) [298].

Напротив, неидентичность рецепторов к ИЛ-2 и TRF, экспрессированных с высокой частотой соответственно на Т- и В-бластах, четко установлена с помощью антисыворотки к анти-TRF рецепторам. Такая антисыворотка была индуцирована у мышей DBA/2На, лишенных рецептора к TRF (в связи с мутацией Х-хромосомы), которым вводили иммунные В-клетки мыши BALB/c, несущей такие рецепторы [2028]. Антитела к TRF-рецептору блокировали дифференцировку В-клеток в АОК, не влияя на пролиферацию Т-клеток под действием ИЛ-2.

Особенность полученных антител к TRF-рецептору заключается в том, что они либо отменяют образование АОК к антигену *in vitro* при предварительной обработке В-клеток мышей линий, содержащих рецептор к TRF, либо, напротив, резко стимулируют образование АОК при постоянном присутствии этих антител в культуральной среде [2089] или при введении их мышам вместе с субоптимальной дозой антигена [2029]. Если ингибирующий эффект мог быть получен даже Fab-фрагментом антител к TRF-рецептору, то для стимулирующего эффекта необходимо использование либо цельной молекулы этого антитела, либо его двухвалентного F(ab)₂-фрагмента. Из этих данных следует, что перекрестное сцепление (агрегация) TRF-рецепторов соответствующим антителом на мембране В-клеток может оказаться сильным стимулятором антителообразования.

Для реализации функций ростовых и дифференцировочных факторов Т-лимфоцитов недостаточно контакта фактора с рецепторами. На мембране активированных (Кон А или аллоантигеном) Т-клеток человека [1405] и морской свинки [1263] обнаружены структуры, которые хотя и не связывают ИЛ-2, но необходимы для его пролиферативного эффекта. МкАТ к этим структурам отменяют пролиферативный эффект ИЛ-2, не реагируя с ИЛ-2 и не ингибируя его связывание с рецептором на клеточной мембране. Хотя природа этой структуры (5С3) на Т-клетке морской свинки не выяснена, на Т-клетке человека она представляет собой общую (мономорфную) детерминанту Ia-подобного белка HLA-DR, выявляемую МкАТ D1-12. Искусственное удаление этих структур с клеточной поверхности (с помощью культивирования клеток в присутствии указанных антител) отменяет реактивность Т-клеток к ИЛ-2, хотя последний по-прежнему связывается с их поверхностью.

Эти данные позволяют предположить, что экспрессия Ia-молекул на поверхности активированных Т-клеток, возникающая 12—24 ч спустя после экспрессии рецептора к ИЛ-2 [2264], необходима для возникновения мембранного комплекса рецептора к ИЛ-2 с другим компонентом (Ia-белком), который служит вторым сигналом для индукции зависящего от ИЛ-2 роста Т-клеток. В связи с этим Ia-белок на активированных Т-клетках не появляется, если в культуральную среду добавлены антитела не к Ia-молекуле, а к ИЛ-2—рецептору [2109]. Ia-молекула (или определенные ее участки) могут функционировать в качестве второго сигнала для рецептора не только к ИЛ-2, но и к другим факторам Т-лимфоцитов. Об этом свидетельствует тот факт, что контакта Ia-белка В-клеток с МкАТ к HLA-DR оказывается достаточным для пролиферации и дифференцировки очищенных малых В-лимфоцитов под действием митогена лаконоса в отсутствие А- и Т-клеток [1549]. Эти данные означают, что определенные детерминанты молекулы HLA-DR В-клетки функционально связаны с возникающими на ее поверхности рецепторами к ростовому (BCGF) и дифференцировочному (TRF) факторам Т-клеток и могут служить передаточным («трансдуцерным») сигналом, возникающим после контакта фактор—рецептор.

Одним из следствий такого сигнала является, по-видимому, возникновение на мембране активированных Т- и В-клеток ре-

цептора к трансферрину (ТФ), полностью отличного по своей молекулярной структуре (2 цепи по 90 кДа) [1996] и от рецепторов к ростовым факторам, и от Ia-белков. Поскольку МкАТ к ТФ-рецептору отменяют вызванную ИЛ-2 пролиферацию (не влияя ни на возникновение рецепторов к ИЛ-2, ни на взаимодействие ИЛ-2—рецептор), предполагается, что именно контакт ТФ-рецептора с содержащимся в сыворотке ТФ служит запускающим пролиферацию механизмом [1465]. В этом случае пролиферация лимфоцитов, вызванная ростовыми факторами, связана не с прямыми их эффектами, а с активированным ими каскадом мембранных событий, в которых участвуют Ia-молекулы и ТФ-рецепторы.

В связи с этим экспрессия рецепторов к ИЛ-2 на поверхности Т-клеток необходима для их пролиферации лишь в течение первых 24 ч их обработки антигеном: предотвращение контакта ИЛ-2 с рецептором после этого срока (с помощью МкАТ к рецептору) не останавливает последующую пролиферацию комитированных Т-лимфоцитов [1205]. Таким образом, не только сам митоген, но даже контакт индуцированного им ИЛ-2 с соответствующим рецептором не служит непосредственным индуктором пролиферации Т-клеток, а лишь вызывает экспрессию мембранных маркеров, отсутствующих на покоящихся Т-клетках и необходимых для пролиферации. В пользу такого представления указывает подавление индуцированной митогеном пролиферации Т-клеток человека в присутствии циклоспорина А: последний не влияет на экспрессию рецепторов к ИЛ-2, но подавляет последующую экспрессию Ia-белка и ТФ-рецептора [1389].

III.4.5 Пути, механизмы и следствия регуляции продукции ИЛ-2

Исследование действия ИЛ-2 на рост зависимых от него линий ЦТЛ (которые сами ИЛ-2 не производят) показало, что добавление ИЛ-2 обеспечивает один пролиферативный цикл, а последующее удаление ИЛ-2 синхронизирует Т-клетки, останавливая их в фазе G_1 ; повторное его добавление синхронно переводит Т-клетки в S-фазу 10 ч спустя [1820]. Столь же существенна фаза цикла продуцирующих ИЛ-2 Т-клеток для интенсивности его секреции. Резкое увеличение продукции ИЛ-2 и продление этой продукции с 1 до 4 дней наблюдается при добавлении в культуры активированных митогенами или аллоантигенами Т-лимфоцитов веществ, блокирующих переход $G_1 \rightarrow S$. К числу таких веществ относятся РМА в концентрации 4—20 нг/мл [548, 77], 0,01%-ный азид натрия [559], 2 мМ оксимочевина [1937]. Увеличение количества секретированного в среду ИЛ-2 под действием РМА сочетается с падением синтеза ДНК, РНК и белка в клетках-продуцентах ИЛ-2. Поскольку добавление РМА и оксимочевины вызывает синергическую стимуляцию секреции ИЛ-2 активированными Т-клетками, предполагается, что механизмы

эффектов этих двух веществ не идентичны: остановка клеток в фазе G₁ под действием РМА усиливает секрецию ИЛ-2, а блокировка оксимочевинной перехода в S-фазу снижает утилизацию ИЛ-2 рецепторами, которые преимущественно экспрессируются на поверхности клеток в S-фазе [1937, 548].

Помимо воздействия на фазы цикла продуцирующих ИЛ-2 Т-клеток, имеются другие пути стимуляции секреции ИЛ-2 и связанных с ними факторов, приводящие к усилению пролиферации Т-клеток и генерации ЦТЛ в MLC. Один из них — усиление активности продуцирующих ИЛ-2 Т-амплифайеров Ly1 (при их реакции на продукт I района MHC) за счет FcR к IgG мыши, который они несут на своей поверхности: добавление в культуру очищенного Fc-фрагмента IgG человека резко стимулирует генерацию ЦТЛ, не оказывая прямого влияния на дифференцировку пЦТЛ Ly2 [1412]. Избирательное увеличение доли Т-клеток Ly1 и усиление их пролиферативной реакции на аллогенные клетки можно получить не только в культуре, но и *in vivo* — при кормлении мышей витамином А, что, по-видимому, приводит к усилению трансплантационного и других видов Т-клеточного иммунитета [1267].

Особый интерес представляет естественная регуляция продукции ИЛ-2 клетками-супрессорами, которые активируются в ходе реакции на митоген или аллоантиген в MLC без каких-либо дополнительных воздействий. Выяснение природы этих клеток, условий их активации и инактивации, объектов и механизмов их супрессивного действия открывает новые возможности для изменения самых ранних этапов иммунного ответа.

Описаны по меньшей мере два типа клеток-ингибиторов продукции ИЛ-2 — МФ и Т-супрессоры. МФ выполняют функцию не только А-клеток (гл. III.3.2). Один из секретируемых ими факторов — PGE₂ — вызывает обратный эффект — угнетение секреции ИЛ-2 [920, 1649], что приводит к угнетению не только пролиферации [2196], но и генерации ЦТЛ [427] и образования антител [626]. Все эти эффекты отменяются при удалении избытка МФ или добавлении ингибитора PG-синтетазы — индометацина — и вновь восстанавливаются при добавлении PGE₂ в среду.

Ингибирование PGE₂ секреции ИЛ-2 без влияния на пролиферативный эффект добавленного в культуру ИЛ-2 связано со стимуляцией продукции сАМР в Т-лимфоцитах: тот же эффект воспроизводится метилизобутилксантином, который также стимулирует сАМР, но иным путем — ингибированием фосфодиэстеразы [1487].

В условиях обычной культуры лимфоидных клеток мыши, содержащих не более 1% МФ, естественный синтез PGE₂ не превышает 10⁻⁸ М, но даже в этом случае ингибирование синтеза PGE₂ индометацином стимулирует пролиферацию и цитотоксичность в MLC [427]. Если же в культуру добавить избыток МФ, в особенности перитонеальных, иммунный ответ в MLC пол-

ностью подавляется, что также отменяется индометацином [1056].

Поскольку секреция PGE_2 МФ крысы и моноцитами человека выше, чем МФ мыши, для получения иммунного ответа в культуре необходимо частичное удаление прилипающих (А-) клеток из обычных лимфоидных суспензий крысы и человека или добавление высокой концентрации индометацина [1307, 920].

Ингибирующий эффект МФ еще более выражен, если они предварительно активированы *in vivo* С. рагвит или тiogликолатом. В этих случаях отмена их ингибирующего эффекта требует добавления в культуру смеси индометацина и каталазы — ингибитора токсического действия перекиси водорода, также продуцируемой МФ [1344].

В связи с приведенными данными возникают вопросы: 1) одни ли и те же МФ секретируют ИЛ-1 и PGE_2 , т. е. служат активаторами и супрессорами секреции ИЛ-2 (проблема разнообразия МФ изложена в гл. III.5.2); 2) какие факторы способствуют секреции PGE_2 макрофагами; 3) действует ли секретируемый макрофагами PGE_2 прямо на Т-амплифайеры — продуценты ИЛ-2 — или через активацию каких-либо посредников.

Поскольку инкубация моноцитов человека с фактором Т-бластов вызывает секрецию PGE_2 [2197] и супрессорный эффект на пролиферацию иммунных Т-клеток при их взаимодействии с антигеном [1139], следует думать, что в основе индукции Т-супрессоров Кон А лежит стимуляция секреции макрофагами PGE_2 под действием активированных Т-клеток. В связи с этим удаление МФ мыши или моноцитов человека из культуры активированных Кон А лимфоидных клеток [1485, 734] или угнетение синтеза PGE_2 добавленным в такую культуру индометацином [520] отменяет индукцию Т-супрессоров. Это означает, что Кон А индуцирует Т-супрессоры не прямо, а через стимуляцию макрофагами секреции PGE_2 , которая возникает в результате воздействия на МФ активированных Кон А Т-лимфоцитов.

Супрессорный эффект PGE_2 , как оказалось, также не связан с его прямым действием на синтезирующие ИЛ-2 радиорезистентные Т-амплифайеры: избыток МФ не угнетает секрецию ИЛ-2 в активированных митогеном клетках, если последние облучены дозой в 1000 рад, т. е. в этом случае ИЛ-2 секретируется, несмотря на продукцию PGE_2 [365]. Напротив, обработка PGE_2 радиочувствительных Т-клеток приводит к тому, что они, во-первых, становятся радиорезистентными, а во-вторых, подавляют секрецию ИЛ-2 другой популяцией радиорезистентных Т-клеток. Эти результаты соответствуют полученным ранее данным о высокой плотности рецепторов к PGE_2 на поверхности малой доли Т-клеток человека, несущих $\text{Fc}\gamma$ -рецепторы ($\text{T}\gamma$), что приводит к резкому возрастанию синтеза сАМР только в $\text{T}\gamma$ -клетках после их инкубации с PGE_2 и сопровождается возникновением их способности подавлять пролиферацию иных Т-клеток [701]. Таким образом, PGE_2 активирует радиочувствительные $\text{T}\gamma$ -предшественники супрессоров, подавляющих секрецию ИЛ-2 Т-ампли-

файерами, что приводит к серьезным последствиям — угнетению пролиферативных реакций Т-клеток, дифференцировки пЦТЛ и АОК.

Индукцированные таким образом радиорезистентные Т-супрессоры несут фенотип Ly2 мыши [750], W3/25-, OX8⁺ крысы [1756] и T4-T8⁺ человека [1549], т. е. противоположный фенотипу Т-амплифайеров — продуцентов ИЛ-2, что позволяет разделить эти два типа Т-клеток. Возникновение Т-супрессоров в культуре под действием антигенов, митогенов или РМА [77] имеет такую же кинетику, как и у продуцентов ИЛ-2, но их сильный тормозящий эффект на образование ИЛ-2 проявляется только при их добавлении в «свежую» культуру — до активации реагирующих Т-клеток антигеном или митогеном. Т-супрессоры угнетают только ранние события активации и только у Т-клеток Ly1 — продуцентов ИЛ-2, не убивая их, т. е. супрессорный эффект обратим.

Супрессия продукции ИЛ-2 осуществляется выделяемым Т-супрессорами фактором (TsF), который отделен от ИЛ-2 за счет иной молекулярной массы — 10 кДа у мыши [1027]. TsF не имеет ни антигенной, ни видовой специфичности и, так же как ИЛ-2, не рестриктирован по МНС, подавляя продукцию ИЛ-2 независимо от совпадения по МНС между продуцентами TsF и ИЛ-2. Остается неисследованным соотношение этого фактора с очищенным ранее IDS³⁰ мыши (гл. IV.2.5.5) и TsF человека, которые также избирательно и обратимо подавляют пролиферацию Т-лимфоцитов, не убивая их. Один из этих факторов (SISS)³¹ с молекулярной массой 30—45 кДа активируется Кон А [734], а другой (SIF)³² с молекулярной массой 18—29 кДа, рI 6,9—7,3, активированный в MLC, очищен и отделен от иных факторов, включая ИЛ-2, Иф-γ, CSF [990].

Еще одна группа TsF, продуцированных в MLC мыши [157] и крысы [1756], угнетает все реакции в тест-MLC — пролиферацию, секрецию ИЛ-2, генерацию ЦТЛ. В последних случаях супрессорные эффекты не связаны с прямым действием TsF на клетки, продуцирующие ИЛ-2 или реагирующие на него: добавление ИЛ-2 извне не снижает эффект TsF, а способность подавляемых Т-клеток-мишеней связывать ИЛ-2 не ингибируется TsF. Не исключена возможность, что TsF ингибирует на мембране экспрессию иных структур, помимо рецепторов к ИЛ-2, необходимых для реакции на ИЛ-2, хотя этот вопрос не исследован.

Описанная регуляция функции ИЛ-2 — не лабораторный феномен, поскольку такие же Т-супрессоры Ly2, угнетающие продукцию ИЛ-2 клетками Ly1, получены иммунизацией мышей *in vivo* комплексом ТНФ с сингенными клетками, а их супрессорный эффект на образование ИЛ-2 также выявлен *in vivo* — при введении этих супрессоров свежим мышам перед их имму-

³⁰ Inhibitor of DNA synthesis — ингибитор синтеза ДНК.

³¹ Soluble immune suppressor supernatant — растворимая надосадочная жидкость иммунных супрессоров.

³² Suppressor cell induction factor — фактор индукции супрессорных клеток.

низацией тем же антигеном [2020]. Природная функция Т-клеток — регуляторов активности ИЛ-2 — следует из того, что в сыворотке нормальных мышей обнаружен высокоактивный ингибитор ИЛ-2 (5% сыворотки достаточно для полной инактивации ИЛ-2). Этот ингибитор с молекулярной массой 50 кДа производится Т-клетками Ly2, отсутствующими у мышей nude, чувствительными к облучению (900 рад) и ЦФ (60 мг/кг веса), которые отменяют продукцию ингибитора ИЛ-2 *in vivo* [790]. Физиологическая функция сывороточного ингибитора ИЛ-2 может быть связана с обеспечением его локального эффекта, т. е. специфичности действия *in vivo* неспецифических факторов, вызывающих дифференцировку и рост ЦТЛ.

Поскольку, однако, ИЛ-2 был в этом случае тестирован лишь как фактор дифференцировки ЦТЛ, не исключена возможность, что фактор роста Т-клеток не инактивируется указанным ингибитором. Это действительно было показано при определении времени полужизни ИЛ-2 *in vivo* [474]. Тем не менее даже при сохранении ИЛ-2 его функция может быть заблокирована *in vivo* либо ингибитором экспрессии ИЛ-2-рецептора (11—12 кДа), который секретируется активированными Т-клетками разных фенотипов (L3T4⁺ или Lyt-2⁺) [873a], либо гуморальными молекулами ИЛ-2-рецепторов, которые спонтанно секретируются в сыворотку крови клетками Т-лейкемии [1535a]. Экспрессия таких же ИЛ-2-рецепторов на поверхности моноцитов или моноцитарных опухолей человека, обработанных ИФ-γ, позволяет этим клеткам конкурировать с Т- и В-лимфоцитами за связывание ИЛ-2, что может привести к негативной петле регуляции функции ИЛ-2 [833a].

Приведенные данные позволяют сконструировать модель, которая отражает последовательные этапы индукции Т-супрессоров, регулирующих продукцию ИЛ-2 (рис. 12). Т-индукторы Ly1, активированные митогеном или антигеном, производят фактор, стимулирующий синтез макрофагами PGE₂, который служит вторым сигналом (после митогена или антигена) для дифференцировки радиочувствительного предшественника Т-супрессора Ly2 в эффекторный радиорезистентный Т-супрессор с тем же фенотипом. Последний выделяет эффекторный TsF, который угнетает ранние этапы активации (антигеном или митогеном) Т-амплифайеров, что приводит к подавлению синтеза ИЛ-2, пролиферации и образования ЦТЛ.

Другие пути торможения секреции ИЛ-2 связаны с медикаментозными воздействиями на Т-амплифайеры, высокочувствительные к ЦФ и кортикостероидам (гл. III.2.3). Особенно эффективно использование циклоспорина А, который, не убивая клетки, ингибирует (и в культуре и *in vivo*) продукцию ИЛ-2 и(или) образование рецепторов к нему на предшественниках пролиферирующих Т-клеток в ранние фазы активации разнообразными антигенами и митогенами [1141, 291, 1543].

Ингибирование малой дозой (100 нг/мл) циклоспорина А не только пролиферации, но и генерации ЦТЛ в первичной МЛС указывает на блокировку секреции наряду с ИЛ-2, также и СТДФ, хотя предотвращение образования рецепторов к ИЛ-2 (или СТДФ) на поверхности пЦТЛ, по-видимому, требует увеличения дозы циклоспорина А [842]. Хотя циклоспорин А избирательно подавляет транскрипцию гена ИЛ-2 клеток Jurkat лейкемии человека, активированных ФГА+РМА [1089], такое же угнетение синтеза ИЛ-2 Т-клет-

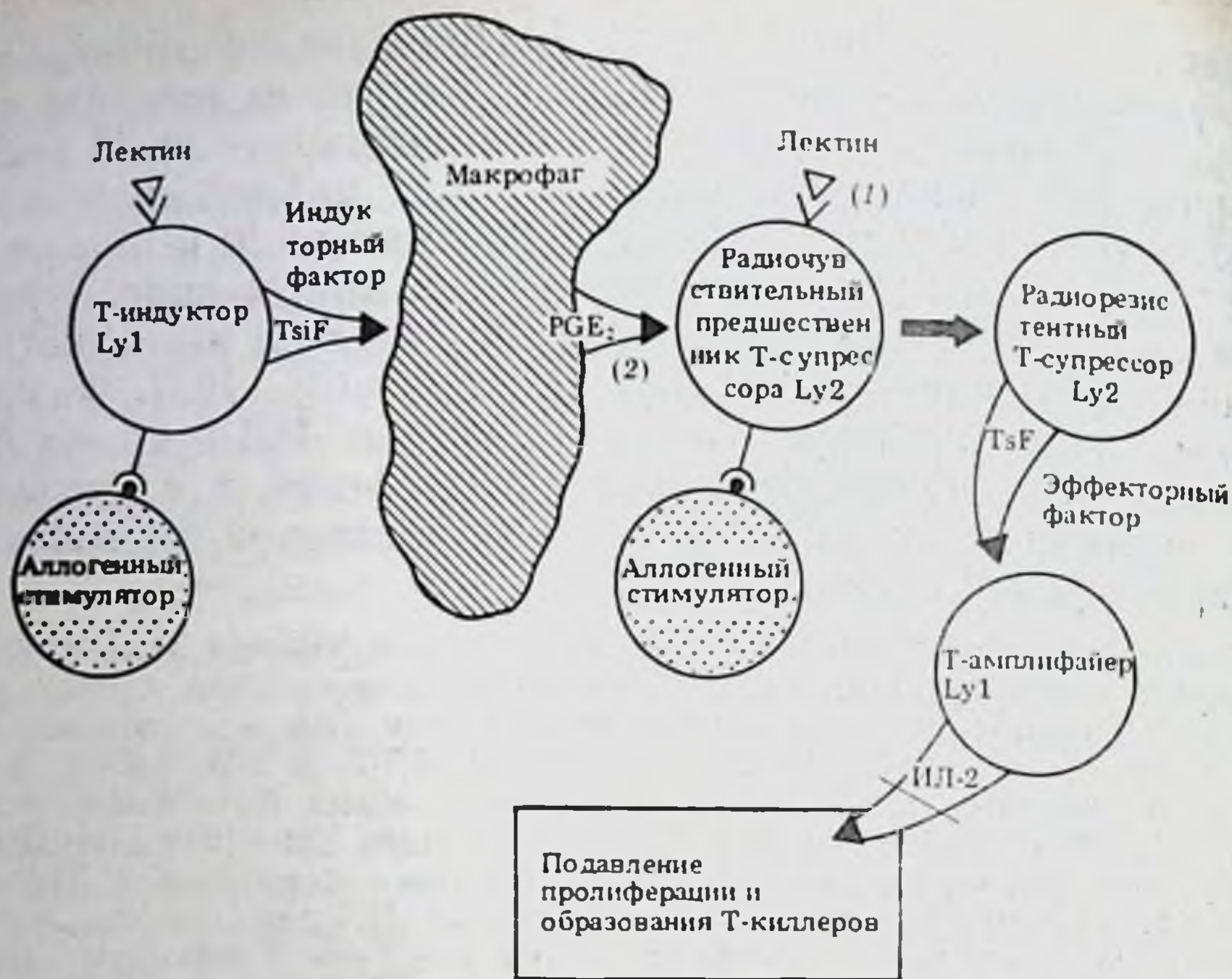


Рис. 12. Этапы индукции Т-супрессоров, регулирующих продукцию ИЛ-2
Пояснения см. в тексте

ками, активированными антигеном, может оказаться результатом блокировки последовательных событий — секреции ИЛ-1 макрофагами в результате торможения секреции Т-индукторами факторов, активирующих МФ [2167, 2133а], что, в свою очередь, является следствием нарушения реакции Т-индукторов на антиген в комплексе с Ia-молекулой. Последний дефект может быть связан с блокировкой циклоспорином А рецептора к продуктам МНС класса II [1543].

Весьма существенно, что циклоспорин А не оказывает влияния ни на индукцию Т-супрессоров [751], ни на взаимодействие ИЛ-2 с готовыми рецепторами Т-клеток памяти и стабильных Т-линий [1519, 843], т. е. избирательно инактивирует образование первичных ЦТЛ, не влияя на функции других эффекторных и регуляторных Т-субклассов. Такая уникальная особенность циклоспорины А оказалась весьма эффективной для продления жизни аллотрансплантата животных и человека, связанного с индукцией толерантности ЦТЛ к аллоантигенам [2181]. Тот же механизм лежит в основе специфического угнетения циклоспорином А иммунитета к комплексу гаптена [481] или вируса гриппа [90] с сингенной молекулой Н-2 мыши.

Таким образом, выяснение клеточной основы и молекулярных механизмов физиологической регуляции каждого из ранних этапов распознавания антигенов (связанных с секрецией ростовых и дифференцировочных факторов Т-клеток и возникновением рецепторов к этим факторам) позволяет использовать различные воздействия и медикаментозные средства для направленного усиления или подавления иммунного ответа на ранних его эта-

пах. Особенность этого подхода состоит в том, что он связан не с грубыми воздействиями на клетки, которые приводят к их гибели, а с тонкими, функциональными, обратимыми изменениями их активности.

III.5. Связь моделей иммунологического распознавания в культуре с иммунным ответом *in vivo*

III.5.1. Условия кооперации Т-амплифайеров и пЦТЛ при реакциях *in vivo* на трансплантационные и опухолевые антигены

Возникает вопрос: соответствуют ли модели каскада дифференцировки взаимодействующих Т-лимфоцитов при распознавании антигенов в культуре (см. рис. 9, 10 и 11) реальным событиям, происходящим *in vivo* в ходе иммунного ответа?

Вопрос, по-видимому, включает в себя три аспекта, касающиеся: а) роли Т-амплифайеров и продуцированного ими ИЛ-2; б) механизмов взаимодействия Т-амплифайеров и пЦТЛ при реакции на антиген; в) участия «презентирующих» антиген А-клеток и Ia-белков их мембраны в распознавании антигена.

Изучать первый из них позволяют несколько удобных объектов. Один из них — мыши *pude*, у которых имеются пЦТЛ Ly123, но отсутствуют Т-амплифайеры Ly1 (гл. II.2.3). Введение им аллогенных клеток Ly1 приводит в первые же дни к пролиферативной реакции введенных клеток на аллоантигены реципиента, а 7 дней спустя — к возникновению ЦТЛ с фенотипом Lyt-1^+2^- , происходящих из клеток реципиента *pude* и специфичных к аллоантигенам клеток донора [763]. Из этого следует, что введенные мышам аллогенные Т-амплифайеры, реагируя *in vivo* на антигены МНС реципиента, обеспечивают созревание ЦТЛ реципиента, специфичных к аллоантигенам введенных Т-амплифайеров. Таким образом, в соответствии с рис. 9 Т-амплифайеры способствуют *in vivo* дифференцировке пЦТЛ в условиях, когда два указанных Т-субкласса активированы разными антигенами комплекса Н-2. Тот же эффект образования ЦТЛ может быть получен, если вместо Т-амплифайеров мышам *pude* вводят в качестве антигена облученные аллогенные клетки (сигнал 1) и готовый полуочищенный ИЛ-2 (сигнал 2) [2161]. Итак, установленная в МНС функция Т-амплифайеров и выделяемых ими факторов воспроизводится *in vivo*.

Условия межклеточной кооперации двух Т-субклассов — амплифайеров и пЦТЛ — воспроизведены и у обычных мышей-гибридов $F_1(a \times b)$, которым введены иммунные лимфоциты а анти-*b* с фенотипом Lyt-1^+2^- . Если после этого мышей облучают дозой в 950 рад, вводят клетки нормальной селезенки линии *a*, три дня спустя извлекают клетки селезенки такой мыши и инкубируют их в течение 3 дней *in vivo* без добавления каких-либо иных клеток, это приводит к генерации ЦТЛ а анти-*b*.

ЦТЛ не появляются, если два указанных компонента — радио-резистентные иммунные клетки $Ly1^+ a$ анти- b и клетки нормальной селезенки мыши линии a — введены не одной и той же, а разным мышам F_1 , а затем (3 дня спустя) смешаны и инкубированы в культуре, как указано выше. Из этого следует, что облученные Т-амплифайеры и пЦТЛ линии a , реагируя в организме гибрида F_1 на присутствующий в нем аллоантиген линии b , кооперируют между собой в селезенке данной мыши, что в последующем приводит к генерации ЦТЛ a анти- b [147].

Таким образом, использование мышей *nude*, лишенных Т-амплифайеров, или мышей-гибридов F_1 , лишенных всех Т-клеток после летального облучения, позволяет воспроизвести *in vivo* генерацию ЦТЛ в результате кооперации их предшественников с Т-амплифайерами или продуцируемыми ими факторами. Решающая роль ИЛ-2 в генерации ЦТЛ *in vivo* следует из того, что этот процесс блокируется при введении мышам кроличьих антител к ИЛ-2, не реагирующих с другими лимфокинами [715].

Особый интерес связан с образованием *in vivo* противоопухолевых ЦТЛ, разрушающих опухоль животных, растущую в сингенной системе. В этом случае Т-амплифайеры крыс с фенотипом $W3/25^+$ (гл. II.3.2), иммунные к индуцированной метилхолантrenom саркоме [565], так же как Т-амплифайеры мышей с фенотипом $Lyt-1^+2^-$, иммунные к лейкемии Френд [724] или к мастоцитоме P815 [1369], вызывают отторжение соответствующей опухоли и полное излечение от 50 до 100% животных. Такой эффект обычно достигался при введении большой дозы Т-амплифайеров ($1,5-2 \cdot 10^8$ на мышь) животному, из лимфоидной ткани которого предварительно удалены Т-супрессоры с помощью сублетального облучения или введения ЦФ. Т-амплифайеры не оказывали прямого влияния на рост опухоли (который продолжался в течение 6—8 дней после их введения), но способствовали *in vivo* образованию у мыши противоопухолевых ЦТЛ с фенотипом $Lyt-1^+2^-$, которые вызывали полное рассасывание опухоли к концу месяца после начала лечения [1370]. Такой же противоопухолевый эффект на рост низкоиммуногенной плазмацитомы мыши можно было получить, если клетки этой опухоли модифицированы гаптенom ТНФ, а введенные мыши Т-амплифайеры специфичны к ТНФ [770, 389].

В указанных экспериментах разрушение опухоли *in vivo* получено при введении мышам именно Т-амплифайеров ($Lyt-1^+2^-$), но не ЦТЛ ($Lyt-1^+2^-$), лизирующих клетки тех же опухолей в культуре. Это означает, что иммунологический дефект опухоленосителя состоит в неэффективности Т-амплифайеров, необходимых для генерации противоопухолевых ЦТЛ (подавить *in vivo* рост сингенной плазмацитомы могут также Т-индукторы $Ly1$, активирующие цитотоксичность МФ [1448a]). Высокая чувствительность Т-амплифайеров ко многим агентам и воздействиям, в том числе TsF (гл. III.4.5), а также приведенные данные об иммунотерапевтическом эффекте Т-амплифайеров, если они

введены животным после элиминации Т-супрессоров из их лимфоидной ткани, указывают на основную причину неэффективности противоопухолевого иммунитета — предотвращение образования *in vivo* Т-амплифайеров и (или) их инактивацию супрессорами, обильно образующимися в ходе роста опухоли.

В пользу этого предположения свидетельствует возможность разрушения опухоли, растущей *in vivo*, при введении мышам популяции Т-клеток с фенотипом Lyt-1-2^+ , если она содержит высокую концентрацию ЦТЛ данной противоопухолевой специфичности. Такие обогащенные ЦТЛ популяции, эффективные для лечения опухоли *in vivo* даже при введении в малых дозах, индуцированы в сингенной системе с помощью многократной иммунизации высокоиммуногенной саркомой *in vivo* [351] или в MLTC [525], в особенности в присутствии ИЛ-2 [1371]. Особенно важно, что столь же эффективные ЦТЛ Ly2 , разрушающие растущую *in vivo* опухоль, могут быть извлечены из селезенки мыши-опухоленосителя между 6-м и 9-м днем роста высокоиммуногенной фибросаркомы; после 9-го дня в той же селезенке появляются Т-супрессоры, блокирующие перенос адаптивного иммунитета противоопухолевыми ЦТЛ [1484].

Механизм быстрой индукции Т-супрессоров в ходе роста опухоли не выяснен. Хотя в культуральной среде меланомы обнаружены ингибиторы секреции ИЛ-2 с молекулярной массой 7 и 44 кДа, резистентные к протеазам, но не выявляемые в присутствии ингибитора синтеза белка [838], их связь с активацией Т-супрессоров не известна.

Использование ИЛ-2 оказалось решающим для обнаружения опухолево-специфичных цЦТЛ внутри растущей у мыши саркомы. Частота таких пЦТЛ среди выделенных Т-лимфоцитов оказалась в опухоли в 5—10 раз выше, чем в селезенке и крови тех же мышей-опухоленосителей [2296, 284]. Последующее размножение и клонирование этих клеток в MLTC в присутствии ИЛ-2 позволило получить ЦТЛ, специфически лизирующие клетки сингенной опухоли *in vivo*.

Ограничение использования клонированных ЦТЛ в иммунотерапии вызвано прежде всего тем, что рост клонов зависит от ИЛ-2, который они сами не производят. В связи с этим после введения клеток клона необходимо вводить ИЛ-2, а перед введением — элиминировать продуценты ингибитора ИЛ-2 — облучением или введением ЦФ [352, 502]. Кроме того, клетки выращенных в культуре клонов при их внутривенном введении не оседают в лимфоидной ткани (быстро мигрируют в печень, легкое и кишечник) из-за отсутствия рецепторов к эндотелию лимфоидных венул [419].

Хотя локальное введение ИЛ-2 в очаг растущей саркомы [287] или системное введение ИЛ-2 одновременно с выращенными *in vitro* лимфоцитами, иммунными к сингенной лимфоме [475], приводит в обоих случаях к замедлению роста опухоли у мыши, более эффективная иммунотерапия без введения ИЛ-2 может быть обеспечена клонами ЦТЛ, если их рост был поддер-

жан *in vitro* антигенами опухоли в отсутствие ИЛ-2 [420, 525]. В этих случаях иммунные Т-лимфоциты действительно пролиферируют *in vivo* при взаимодействии с клетками сингенной лейкемии [353]. Решающая роль противоопухолевых ЦТЛ в отторжении растущей опухоли следует также из того, что такое отторжение отменяется при однократной инъекции мыши МкАТ к Lyt-2 или Lyt-3 на 9-й день после введения лейкемии (введение МкАТ к Lyt-1 не эффективно) [1459].

Столь же эффективной и специфичной оказалась иммунотерапия гриппа [1202] и герпеса [1735] при введении инфицированным мышам клеток клона ЦТЛ Ly2, специфичных к данному вирусу, с последующей инъекцией ЦФ и ИЛ-2 [1735].

Усиление функции Т-амплифайеров *in vivo* в результате инъекции мышам чистого ИЛ-2 приводит и к другим важнейшим последствиям: отмене низкой реактивности к глобулину, т. е. к преодолению дефекта Ig-гена [999]; усилению иммунитета старых мышей — образования ЦТЛ к аллоантигену и АОК к эритроцитам барана [2065]. Активная секреция ИЛ-2 иммунными к сингенной эритролейкемии Френд клетками Ly1, введенными мышам в момент диссеминации лейкемических клеток, может оказаться достаточной для регрессии лейкемии даже в отсутствие образования противсопухолевых ЦТЛ Lyt-2⁺ [726]. Напротив, блокировка функции ИЛ-2 *in vivo* с помощью инъекции мыши МкАТ к ИЛ-2-рецептору приводит к обратному эффекту — подавлению трансплантационного иммунитета, что сопровождается значительным продлением выживания трансплантированного сердца [1033].

Противоопухолевые ЦТЛ больных людей также размножаются и клонируются не только в культуре [2130, 1383], но и в организме больных меланомой под действием инъецированного ИЛ-2 [1050]. Поскольку клоны Т-клеток человека, в отличие от мышинных, могут сохранять на клеточной поверхности рецепторы к эндотелию лимфоидных венул [1463а], их терапевтический эффект должен оказаться более действенным.

Из приведенных данных очевидно, что экспериментальное подтверждение неидентичности условий активации Т-амплифайеров и ЦТЛ, выяснение молекулярной структуры интерлейкинов и регуляции их образования супрессорами имеют важнейшие следствия для иммунотерапии. Однако нейтрализация ИЛ-2 в организме животного ингибитором, обнаруженным в сыворотке мыши, означает, что в отличие от MLC, где ИЛ-2 функционирует в культуральной среде, его активность *in vivo* может проявляться только вблизи от продуцирующей его клетки. Близкое разморасположение Т-амплифайера и пЦТЛ, реагирующих на гаптен ТНФ, может быть обеспечено, если ТНФ ассоциирован с сингенной молекулой И-2 самого Т-амплифайера, а не дополнительной клетки-стимулятора (рис. 13, А). После активации такого амплифайера аллогенным Ia-белком выделяемый Т-амплифайером ИЛ-2 в малой дозе (его количество резко ограниче-

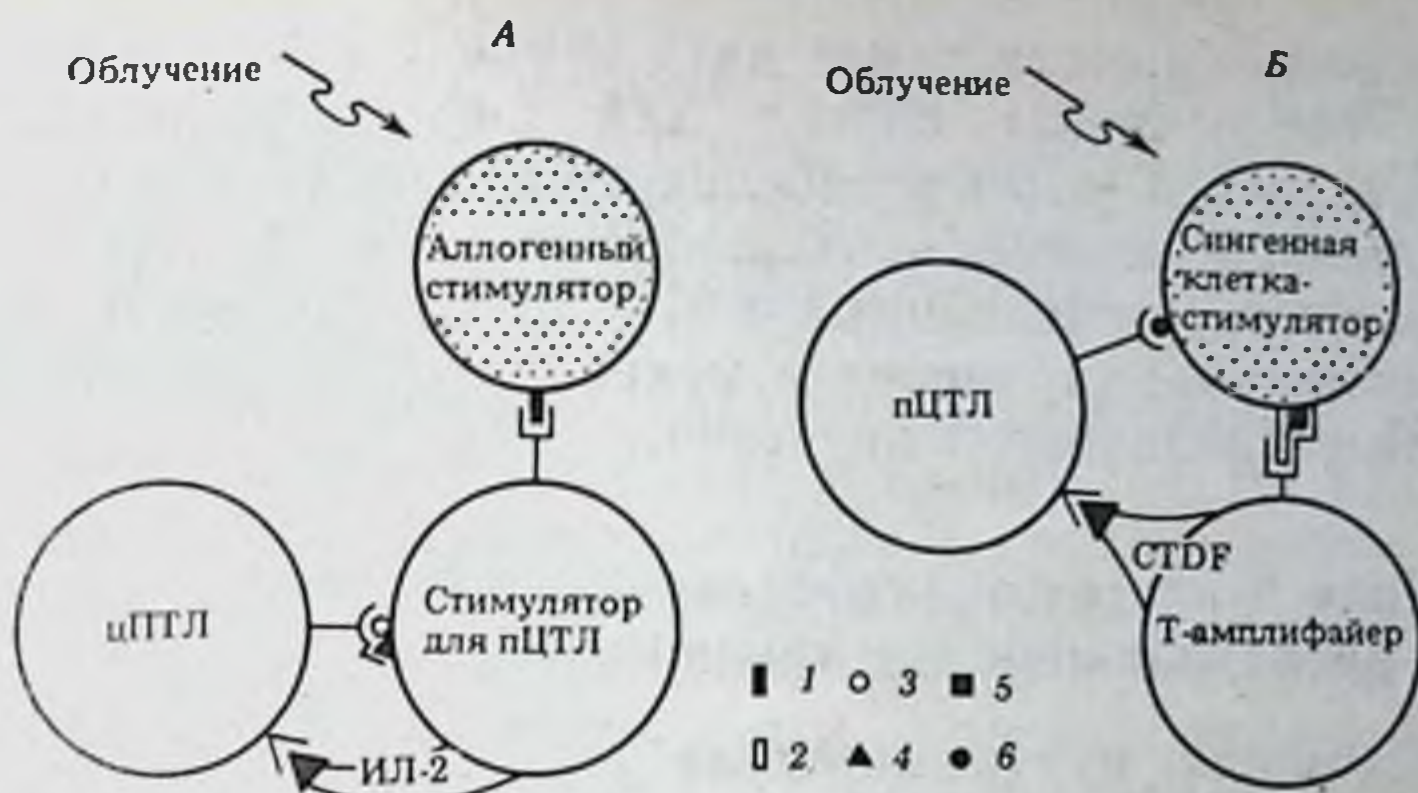


Рис. 13. Модели взаимодействия *in vivo* Т-амплифайеров и пЦТЛ, основанные на представлении об их близком размещении

1 — аллогенный, 2 — сингенный Ia белок; 3 — сингенный белок H-2K/D; 4 — гаптен ТНФ; 5 — H-Y (секс) — антиген; 6 — антиген Qa-1. А и Б — см. в тексте

но добавленным в культуру PGE_2) мог действовать только на «привязанный» к амплифайеру пЦТЛ, что приводило к образованию ЦТЛ, специфичных к ТНФ в комплексе с данной молекулой H-2 [1422]. На возможность активации пЦТЛ *in vivo* при условии контакта его рецептора с антигеном, представленным на самом Т-амплифайере, косвенно указывают данные тех же авторов [1421].

Иная возможность, обеспечивающая близкое размещение Т-амплифайера и пЦТЛ, возникает при реакции их рецепторов на неидентичные антигены одной и той же иммунизирующей клетки. Именно такая ситуация была установлена *in vivo* (рис. 13, Б): пЦТЛ, специфичные к аллоантигену Qa-1^b, были активированы у мыши только при условии, что та же иммунизирующая клетка несла второй антиген-H-Y (секс-антиген, кодированный Y-хромосомой и представленный на мембране клеток самца). На этот второй антиген реагировали Т-амплифайеры [1009]. Если же иммунизация (самки B6.Tla^a) производилась смесью клеток, одни из которых содержали антиген H-Y (самец B6.Tla^a), а другие — антиген Qa-1^b (самка B6), ЦТЛ, специфичные к Qa-1^b, не образовывались.

Приведенная экспериментальная система особенно интересна в связи с тем, что Т-амплифайеры, активированные *in vitro* антигеном H-Y (представленным на тех же клетках, что и антиген Qa-1), не продуцировали ИЛ-2, а обеспечивали только дифференцировочный сигнал для пЦТЛ (возможно, фактор CTDF). В связи с этим иммунизация *in vivo* «спаренными» на одной клетке антигенами H-Y и Qa-1 оказалась недостаточной для получения ЦТЛ анти-Qa-1: необходимо было повторно иммунизировать клетки в MLC клетками самки B6, отличающимися от реагирующих клеток только аллелями молекулы Qa-1, и в этом случае наблюдалась секреция ИЛ-2. Эти результаты позволили

предположить существование двух типов Т-Т хелперов, один из которых обеспечивает сигнал для дифференцировки пЦТЛ (CTDF), а другой — для их последующей пролиферации (ИЛ-2). Таким образом, экспериментальные системы *in vivo* не только подтверждают установленные в МЛС закономерности, но и вносят существенные уточнения в механизмы межклеточной кооперации при распознавании антигена.

III.5.2. Роль А-клеток и экспрессии их Ia-белков в распознавании антигенов *in vivo*

Судя по данным, отраженным на рис. 9, В, иммунный ответ в МЛС начинается с А-клеток, мембранные Ia-белки которых представляют «процессированный» антиген предшественникам Т-индуктора, амплифайера и хелпера Т-В. Указанная концепция подтверждена *in vivo* с помощью двух подходов: избирательной инактивации функции А-клеток (или, напротив, индукции этой функции после ассоциации А-клеток с антигеном) и введения животным анти-Ia антител.

Простой и эффективный метод отмены способности радиорезистентных МФ-подобных клеток мыши или крысы «презентировать» антиген — облучение животных γ -лучами или ультрафиолетом (УФ). Спустя 3—7 дней МФ теряют способность функционировать как А-клетки, несмотря на полную сохранность их морфологии, ферментов, метаболизма, Fc-рецепторов, способности к фагоцитозу и перевариванию полистироловых частиц [1183]. МФ таких животных оказываются неспособными обеспечивать пролиферацию, генерацию ИЛ-2, образование ЦТЛ и антител при реакции Т-лимфоцитов на Кон А, антиген или вирус [731, 1183, 1184, 376].

Этот дефект МФ, выявляемый в культуре, сочетается с их неспособностью функционировать *in vivo*, что приводит к торможению различных видов иммунитета. В частности, МФ, полученные от облученных УФ мышей и обработанные гаптеном, лишены способности индуцировать ГЗТ к гаптену у нормальных мышей, так же как выявлять реакцию ГЗТ у предварительно иммунизированных необлученных мышей [607]. Утрата способности облученных УФ мышей развивать ГЗТ к гаптену связана с дефектом именно МФ: эта способность восстанавливается при иммунизации облученных мышей тем же гаптеном, представленным на МФ необлученного животного [1481].

Особенно чувствителен к инактивации А-клеток *in vivo* противоопухолевый иммунитет, отмена которого сочетается в этом случае с возникновением специфичных к антигену Т-супрессоров (гл. IV.2.1). Инактивация А-клеток при облучении мышей малой дозой УФ связана с тем, что с поверхности А-клеток слущиваются Ia-молекулы [1182, 440]. В отсутствие Ia-белка антиген, «процессированный» МФ и экспрессированный на его поверхности, не может быть распознан предшественниками Т-кле-

ток хелперной группы, но распознается Т-супрессорами: их рецепторы, в отличие от остальных Т-клеток, могут реагировать на антиген без его ассоциации с Ia-белком (гл. V.2.2), что приводит к быстрой дифференцировке Т-супрессоров и угнетению ими иммунного ответа.

Напротив, внутривенное введение мыши малой дозы (10^5) эффективных Ia⁺ дендритических А-клеток (гл. III.6.2), обработанных экстрактом сингенной саркомы, предотвращает рост той же саркомы [1048]. Инъекция здоровой крысе подобных А-клеток, извлеченных из лимфоидных органов сингенной крысы с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом (ЭАЭ), достаточна для возникновения ЭАЭ у реципиента [1047]. После интратрахеального введения морским свинкам — гибридам F₁ — альвеолярных МФ одной из родительских линий, обработанных антигеном (ГЦ или вирусом гриппа), в их легком возникают иммунные Т-клетки: они пролиферируют *in vitro* на тот же антиген, представленный на Ia⁺ МФ того же родителя [1236]. Таким образом, необходимость ассоциации антигена с Ia-молекулой А-клетки хозяина для его распознавания Т-лимфоцитами хелперной группы (т. е. для положительного иммунного ответа) полностью подтверждена в исследованиях *in vivo*.

Этот процесс, по-видимому, существует в патогенезе некоторых аутоиммунных заболеваний. В частности, у мышей MRL-lpr бурная пролиферация клеток Ly1 связана с активацией Т-индукторов, продуцирующих МАФ и MIRF, что приводит к резкому возрастанию доли Ia⁺ МФ, а также к спонтанному возникновению их цитотоксичности [1230]. Введение облученным (350 рад) мышам малой дозы (10^5 — 10^6) клеток Т-клона, специфичного к базальному белку миелина и рестриктированного по молекуле I-A данного аллеля, приводит к развитию ЭАЭ [2300a].

Критическая роль именно Ia-белков в этом процессе доказана с помощью введения животным MkAT анти-Ia, блокирующих *in vivo* экспрессию соответствующих Ia-молекул на поверхности клеток хозяина. Введение мышам-гибридам F₁ антител к Ia-белкам одной из родительских линий отменяет хелперный эффект Т-клеток на образование антител к полипептиду [1720] или к эритроцитам барана [1929] при условии, что данный антиген ассоциирован с Ia-молекулой именно того родительского гаплотипа, против которого направлены введенные анти-Ia антитела.

В частности, антитела к I-A^k, введенные мышам F₁(b×k), отменяют их реакцию на полипептид (H, G)—A—L, контролируемую Ig-геном I-A^k. Напротив, реакция тех же мышей на (T, G)—A—L, контролируемая Ig-геном A^b, не отменяется антителами к I-A^k. Реакция иммунных Т-клеток того же гибрида F₁(b×k) на эритроциты барана отменяется разным сочетанием введенных мышам анти-Ia антител в зависимости от происхождения В-лимфоцитов, с которыми иммунные Т-клетки взаимодействуют *in vitro* в присутствии эритроцитов барана. Эффективными в этой системе оказались антитела только к той Ia-молекуле (A^k, E^k, A^b), которая экспрессирована на данных

В-клетках. Если же на последних экспрессированы две или три из указанных Ia-молекул, то отмену антителообразования обеспечивает введение мышам только смеси соответствующих анти-Ia антител. Инактивация А-клеток при введении МкАТ к Ia-молекуле новорожденным мышам (гл. II.4.4) также сопровождается отменой функции Т-хелперов и генерации ЦТЛ. Столь же эффективна блокировка образования антител у взрослых мышей в результате введения им МкАТ к L3T4 [2244a] — основному маркеру хелперных клеток Ly1, функция которых рестриктирована по Ia-молекуле А-клеток.

Такие, казалось бы, чисто теоретические исследования имеют важнейшие следствия для предотвращения и лечения некоторых заболеваний, связанных с аутоиммунными процессами или трансплантационным иммунитетом. В частности, введение мышам антител к Ia-молекуле соответствующего аллеля оказывает профилактический и лечебный эффекты на развитие ЭАЭ [1943] и миастении гравис [2173], обеспечивает продление жизни аллотрансплантата кожи [2237a] и лечение диабета в результате предотвращения отторжения аллогенных продуцентов инсулина — островков Лангерганса поджелудочной железы [557]. Столь же эффективна профилактика артрита при введении мышам МкАТ к белку L3T4 [1647a] — мембранному Т-маркеру, ответственному за эффективность взаимодействия иммунного к коллагену Т-субкласса с сингенной Ia-молекулой (гл. V.3.3). Особую ценность представляет лечение системного генетически контролируемого аутоиммунного гломерулонефрита, спонтанно возникающего у мышей $F_1(NZB \times NZW)$: еженедельное введение МкАТ к молекуле I-A² приводит к стойкой ремиссии и снижению смертности с 90 до 10% [43]. Напротив, иммунитет к фибросаркоме в сингенной системе подавлен введением мыши антител к ее I-A молекуле [1573]. Указанные эффекты во всех этих случаях обусловлены, по-видимому, двумя последовательными событиями: первичным — блокировкой анти-Ia антителами «презентации» антигена на А-клетках; вторичным — индукцией специфичных к данному антигену Т-супрессоров.

III.6. Переработка антигена в А-клетках и разнообразие их вариантов

Из концепции, представленной на рис. 9, В, следует, что прежде чем антиген ассоциируется с Ia-молекулой на мембране А-клетки, он должен быть обработан («процессирован») в ее цитоплазме. Следствием такой обработки является реэкспрессия на мембране А-клетки не интактной молекулы, а ее «процессированных» фрагментов. Этот феномен, имеющий принципиальное значение для понимания структуры рецепторов Т-клеток, распознаваемых ими антигенных детерминант и природы ассоциации последних с Ia-молекулой (гл. V.3), только начинает изучаться на молекулярном уровне.

III.6.1. Этапы и молекулярные основы «процессинга» антигена в А-клетках

«Процессинг» антигена в МФ можно разделить на несколько этапов, представленных на рис. 14. Экспериментальные данные, подтверждающие их существование, и условия их избирательного ингибирования суммированы в табл. 28.

Поскольку главный критерий завершенного «процессинга» антигена — его распознавание Т-лимфоцитом, решающее значение для экспериментального анализа этого явления имела разработка краткосрочных тестов (от 40 мин до нескольких часов) на контакт иммунных Т-лимфоцитов с соответствующим антигеном. К числу таких тестов относятся: 1) специфическая адсорбция иммунных Т-лимфоцитов на монослое МФ, обработанных антигеном; адсорбция определялась либо по количеству лимфоцитов, прикрепившихся к МФ [1206, 1235], либо по утрате антигенспецифических функциональных активностей Т-клеток во фракции неприкрепившихся к монослою лимфоцитов [2311]; 2) связывание меченого ^{125}I антигена Т-лимфоцитами [1634]; 3) функциональная активация иммунных Т-клеток антигеном — секреция ИЛ-2 клонами Т-гибридом [358, 1854] или (более долгосрочный тест) пролиферация Т-лимфоцитов, определяемая включением ^3H -тимидина [519, 2069, 644, 617].

Контроль за этапами «процессинга» осуществляется с помощью использования антигена, меченого ^{125}I . Оказалось, что в отличие от последующих этапов, захват антигена МФ и его переваривание (исчезновение с наружной поверхности клетки) являются наиболее быстрыми и наименее прихотливыми процессами. Эти начальные этапы происходят за 5 мин в случае микробной клетки *Listeria monocytogenes* [2311] и за 20 мин в случае растворимого белка [358] при 4°C , не подавляются ингибиторами метаболизма, не требуют каких-либо синтетических процессов в МФ и функции его лизосомальных ферментов. Все последующие этапы имеют иную кинетику (достигают максимума через 45—60 мин после захвата антигена), происходят только при 37°C и отменяются ингибиторами метаболизма (азидом натрия и дезоксиглюкозой). Хотя эти этапы, последовательно происходящие в клетке, не удастся разделить во времени, каждый из них количественно оценивается на основании определенных критериев. Расщепление (деградация) антигена в цитоплазме (этап III), оцененное по величине растворимой в ТХУ фракции меченого белка, обычно составляет от 1 до 40% поглощенного макрофагом белка [739].

Степень ингибирования этого этапа, так же как катаболизма антигена (этап IV, измеряемый по выходу в среду ^{125}I -белка), четко коррелирует с ингибированием следующего этапа — реэкспрессии антигена на мембране МФ. Из табл. 28 следует, что отмена деградации и катаболизма антигена ингибиторами клеточного метаболизма или лизосомального протеолиза (хлорохином или хлоридом аммония) угнетает также реэкспрессию антигена на плазматической мембране [2311, 358, 739]. Последний процесс отменяется и монтензином (5 мкМ) — ингибитором внутриклеточного перемещения везикул. Зависимость реэкспрессии антигена на мембране от цитоплазматических процессов —

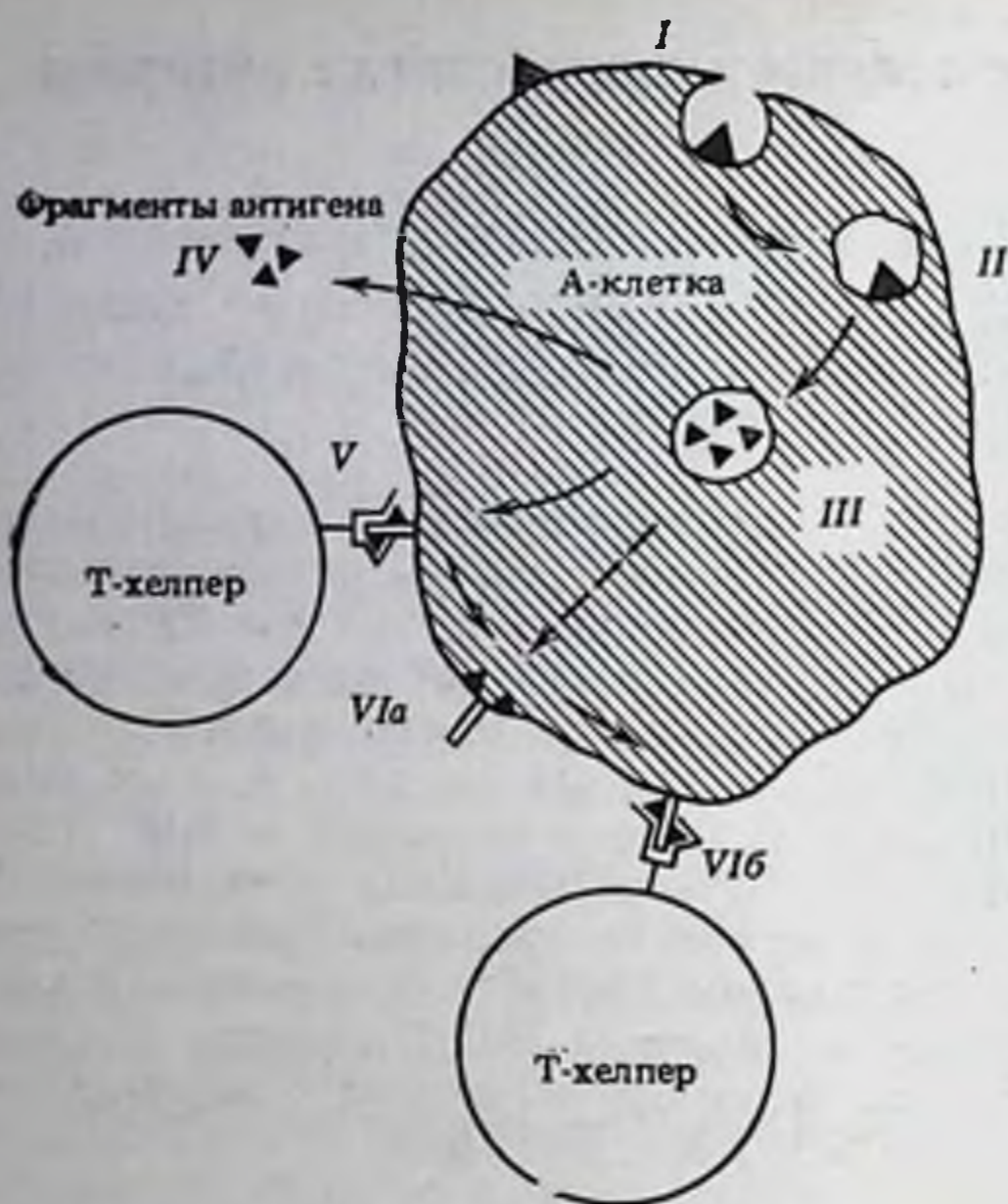


Рис. 14. Этапы «процессинга» антигена в А-клетке
Обозначения те же, что на рис. 9

метаболизма, активности лизосомальных гидролаз и внутриклеточного транспорта органелл — следует также из того, что реэкспрессия антигена не наблюдается, и все предыдущие этапы также подавляются, если сразу после захвата антигена МФ фиксируют 1%-ным формальдегидом или даже 0,05%-ным глутаровым альдегидом. Эти данные получены при использовании в качестве антигена туберкулина [2068], овальбумина [1854], лизоцима курицы [57], микроба *Listeria monocytogenes* [2311] или стрептолизина О [1772], добавленных к МФ мыши или к моноцитам человека. Таким образом, «процессинг» антигена отражает многоэтапные события в цитоплазме живой А-клетки.

Реэкспрессия антигена на мембране, оцененная по взаимодействию иммунных Т-клеток с МФ (табл. 28, этап V), служит критерием эффективности процессинга в МФ, причем фиксация МФ после завершения «процессинга» антигена не угнетает его «презентацию» иммунным Т-лимфоцитам. Доля антигена, локализованного в мембране МФ после «процессинга», составляет 10—20% поглощенного белка и 100% белка, сохранившегося в МФ после 24 ч их инкубации.

Количество реэкспрессированного на мембране антигена не зависит ни от экспрессии Ia-белка на мембране, ни от происхождения МФ — из реактивной или нереактивной к данному антигену линии животного [1261]. Очевидно, что «процессинг» цельной белковой молекулы, необходимый для последующего распознавания антигена Т-лимфоцитами, не имеет сам по себе отношения к специфической фазе иммунитета. Такое представление подтверждено неспособностью МФ мышей разных линий дискриминировать сингенный и чужеродный F-белки печени, судя по сходной степени «презентации» этих белков иммунным Т-лимфоцитам [2239].

После завершения «процессинга» антигена его удаление с наружной поверхности МФ проназой или трипсином, а также в результате суточной инкубации МФ вовсе не влияет на взаимодействие с иммунными Т-лимфоцитами [519, 175, 2068, 358]. Поскольку обработка таких МФ избытком антител к соответствующему антигену также не угнетает его распознавание Т-лимфоцитами, возникло представление о том, что часть «процессированного» антигена находится в структурах мембраны, недоступных для ферментов и антител (компартиментализация, этап VIa). Контакт Т-лимфоцита с МФ снова приводит к обнажению антигена на наружной поверхности (декомпартиментализация, этап VIб) и его распознаванию рецептором Т-лимфоцита.

На динамичность мембранной экспрессии «процессированного» антигена указывает отмена взаимодействия фиксированных после «процессинга» МФ с иммунными Т-клетками, если перед фиксацией МФ антиген удаляют с их наружной поверхности суточным культивированием клеток [2068] или обработкой проназой [358]. Это означает, что, хотя фиксация МФ после «процессинга» антигена не ингибирует взаимодействие с Т-клетками, она угнетает возможность перемещения компартиментализированного антигена в доступный для Т-клеток участок плазматической мембраны.

Природа лабильности экспрессии «процессированного» антигена в мембране МФ может быть связана с тем, что рецепторы Т-клеток хелперной группы распознают «процессированный» антиген на этой мембране только в комплексе с Ia-молекулой, которая определяет ориентацию в мембране этого антигена. На такую возможность указывает полная отмена распознавания антигена Т-клетками при обработке МФ антителами к его Ia-молекуле, тогда как такая же обработка антителами к самому антигену не оказывает влияния на его распознавание Т-клетками. Те же анти-Ia антитела не оказывают никакого эффекта на неспецифические этапы взаимодействия антигена с МФ, т. е. не влияют на захват и деградацию белка в лизосомах, на его катаболизм и реэкспрессию на мембране, выявляемую по радиоактивной метке [644, 2311]. Для «процессинга» антигена (фибринопептида В человека) и возникновения его комплекса с Ia-молекулой на мембране МФ морской свинки требуется не менее 2 ч, и только после этого срока добавление анти-Ia антител может эффективно ингибировать реакцию Т-клеток [2072]. Это действие анти-Ia антител строго специфично: контакт Т-хелперов гибридов F₁ мыши [2010] или морской свинки [1235] с антигеном, «процессированным» МФ данной родительской линии, ингибируется только антителами, направленными к Ia-молекуле того же, но не второго родителя. Таким образом, следует думать, что после реэкспрессии «процессированного» антигена на мембране МФ дальнейшая его локализация и возможность его распознавания определяется его ассоциацией с Ia-молекулой.

Таблица 28
Этапы «процессинга» антигена в макрофагах и условия их ингибирования

Этап	Тест	Условия «про- цессинга»		Подавление «процессинга» ингибиторами							
		t, °C	Время после добав- ления антигена, мин	метаболизма (азид на- трив, дезоксилю- коза)	лизосомального про- теолиза (хлорид аммо- ния, хлорохин)	внутриклеточного транспорта (монен- зин)	экспрессии антигена на мембране (проназа, антигела) после «про- цессинга»	декомпартментализация антигена: фиксация после			экспрессии комплекса с Ia (антигела к Ia)
								захвата анти- гена	«процессинга»	удаления «процессиро- ванного» анти- гена проназой	
I. Связывание	Захват ¹²⁵ I-антигена	4	5—20	—	—	—	—	—	—	—	—
II. Переваривание	Исчезновение ¹²⁵ I-антиге- на с поверхности	37	45—60	+	+	—	—	+	—	—	—
III. Деградация	Фракция антигена, раст- воримая в ТХУ	37	45—60	+	+	—	—	+	—	—	—
IV. Катаболизм	Выход ¹²⁵ I в среду	37	45—60	+	+	—	—	+	—	—	—
V. Резекспрессия на мем- бране и специфичес- кое взаимодействие с Т-лимфоцитами	Связывание антител к гаптену	37	45—60	+	+	+	—	+	—	+	+
VIa. Компартментализа- ция	Реакция с Т-клетками *	37	45—60	+	+	+	—	+	—	+	+
VIb. Декомпартментали- зация	Нечувствительность к проназе мембранного ¹²⁵ I-антигена	37	Более 2 ч	+	+	+	—	+	+	+	+
	См. этап V			+	+	+	—	+	+	+	+

(—) Ингибитор не влияет, (+) — подавляет процесс.
• Адсорбция иммунных Т-лимфоцитов на монослое макрофагов, несущих «процессированный» антиген, связывание Т-лимфоцитами «процессированного» ¹²⁵I-антигена, функциональная активация иммунных Т-лимфоцитов (пролиферация, секрция ИЛ-2).

Описанные условия «процессинга» необходимы только при обработке МФ цельной молекулой белка или его крупными фрагментами, полученными при расщеплении молекулы цианоген-бромидом, а также при иммунизации аллоантигеном, если он не представлен на живой клетке трансплантата, а sluшивается с ее поверхности [682]. Напротив, «процессинг» не является необходимым для реэкспрессии на мембране А-клетки низкомолекулярных пептидов того же белка, полученных с помощью протеаз и не отличающихся по своей специфичности от «процессированного» нативного белка. Ненужность «процессинга» в этом случае следует из того, что А-клетки, утратившие способность после их мягкой фиксации или обработки хлорохином «презентировать» клонированным Т-клеткам нативный овальбумин [1854], лизоцим курицы [57] или цитохром с голубя [1067a], сохраняют эту способность при их обработке низкомолекулярными фрагментами тех же белков.

Сходные данные получены в совершенно иных системах — при «презентации» гаптена или пептида GLT МФ морской свинки [2068, 1262], мыши [1848] или моноцитами человека [1867], а также синтетического пептида ГА вируса гриппа (24 остатка АК) моноцитами человека [1128]. Во всех указанных случаях ни секреция ИЛ-2, ни пролиферативная реакция иммунных Т-клеток (или их клонов) не требовала «процессинга» антигена А-клетками: эта реакция сохранялась при обработке антигеном фиксированных А-клеток или, напротив, угнеталась в присутствии МкАТ против гаптена или пептида при условии предварительной обработки А-клеток таким антигеном. Отмена антителами реакции иммунных Т-лимфоцитов означает, что как гаптен, так и низкомолекулярный пептид экспрессированы на поверхности А-клетки в нативной форме, сохранившей детерминанты, распознаваемые антителами. После «процессинга» в МФ мыши цельной молекулы цитохрома с быка (104 АК) МкАТ к детерминанте сегмента АК 22-25 (в составе пептида АК с 11 по 25) также блокируют пролиферативную реакцию только того Т-клона Lu1, который специфичен к тому же сегменту [399].

Из приведенных данных следует, что указанная выше неспособность антител к нативной молекуле белка связываться с его «процессированными» фрагментами на поверхности А-клеток и ингибировать реакцию иммунных к тому же белку Т-лимфоцитов обусловлена контактом антител и Т-лимфоцитов с разными эпитопами той же молекулы антигена. Иначе говоря, антигенные детерминанты нативной молекулы белка, распознаваемые большей частью антител, исчезают после ее «процессинга» в МФ, что не только не препятствует, но, напротив, способствует распознаванию той же молекулы Т-лимфоцитами. Хотя молекулярная структура «процессированных» фрагментов антигена только начинает изучаться, очевидно, что их разнообразие при использовании разных антигенов — многоглобина [1321], авидина [617], ангиотензина II [1448] — касается не только вариан-

тов молекулярной массы, но и принципа структурной организации, возникающей после «процессинга».

В частности, необходимость «процессинга» фрагмента цитохрома с, включающего АК 60—104, но не 66—104, может быть обусловлена разрывом ионного мостика между Glu⁶¹ и Lys⁹⁹ для того, чтобы обнажить Т-эпитоп, в состав которого входит Lys⁹⁹ [1067b] (см. гл. V.3.2).

Совокупность приведенных фактов позволяет сделать следующие выводы: 1) «процессинг» антигена в А-клетке необходим для расщепления белковой молекулы на низкомолекулярные фрагменты, несущие распознаваемые Т-хелперами детерминанты и способные ассоциироваться с Ia-молекулой на мембране А-клетки; 2) эти детерминанты расщепленного белка отсутствуют на его нативной молекуле, распознаваемой большей частью антител; 3) «процессинг» антигена и возникновение на мембране комплекса «процессированного» антигена с Ia-молекулой являются независимыми друг от друга событиями; 4) расщепление антигена на фрагменты, реактивные с рецепторами Т-клеток, может быть произведено искусственно, т. е. без А-клетки, тогда как ассоциация «процессированного» антигена с Ia-молекулой наблюдается на плазматической мембране цельной А-клетки (хотя последний феномен может быть воспроизведен на планарной мембране) [2193].

III.6.2. Разнообразие и свойства категорий А-клеток, ответственных за «презентацию» антигена Т-лимфоцитам

Функцию А-клеток могут выполнять разные популяции, имеющие, как правило, костномозговое происхождение и объединенные некоторыми общими свойствами: все они быстро прилипают к твердой подложке, имеют низкую плавучую плотность в градиенте бычьего сывороточного альбумина или перколла, лишены маркеров Т-клеток (Thy-1⁻) и В-клеток (Ig⁻), и их функция не зависит от синтеза ДНК (радиорезистентность при γ -облучении *in vitro*).

Тем не менее А-клетки не однородны. Среди множества их вариантов, представленных в табл. 29, МФ, извлеченные из перитонеального экссудата (ПЭ) и разных органов (селезенки, тимуса, костного мозга, мозга, печени), имеют общие свойства (помимо перечисленных выше) — экспрессия FcR и C3R, ферментов (эстеразы и пероксидазы), способность к фагоцитозу, секреция ИЛ-1, PGE₂, H₂O₂, ИФ- γ , цитолитических протеаз и множества иных веществ (обзор см. [42]). Тем не менее они также оказались неоднородными. Из табл. 29 видно, что, хотя в селезенке и тимусе доля МФ среди остальных клеток составляет соответственно лишь 3 и 0,25% (по сравнению с 50 и 80% в ПЭ), частота экспрессии Ia-белков на их поверхности значительно превышает эту частоту в МФ ПЭ, что является одной из

Таблица 29
Варианты А-клеток мыши *

Тип клеток	Локализация и обозначения	Доля, %		Рецепторы		Эстераза	Thy-1	Функциональные активности			
		А-клеток	Ia ⁺ среди А-клеток	FcR	C3R			Секреция		Фагоцитоз	КПА для Т-клеток
								ИЛ-1	PGE ₂		
Макрофаги	ПЭ	50—80	4—10→60**	+	+	+	—	+	+	+	
	Селезенка	3	50	+	+	+	—	+	+	+	
	Тимус	0,25	50	+	+	+	—	+	+	+	
	Костный мозг		10→60**	+			—			+	
	Купферовские клетки печени		75—81	+						+	
ПМЯ *** Эпителий Дендритические	Мозг: глия и олигодендроциты		+	+	+		—	+	+		
	ПЭ	95	80				—			+	
	Астроциты мозга		+	—	—	—	+	—	—	+	
	Селезенка	0,2—0,5	80—100	—	—	—	—	—	—	+	
	Тимус	3,0	80—100	—	—	—				+	
Опухоли	Пейеровы бляшки		100					+	+	+	
	Интерстициальная ткань ЛК кожи	2,4—6,9	100				—			+	
	МФ (ДК) P388D1		80—100	+	+	+		+		+	
	Миеломоноцитарная WEHI-3		0→100**	+	+	+				+	
	В-гибридомы, лимфомы		+					или —		+	
	Миелонидные лейкоциты, клоны: Мк1		+	+				—	+	—	
	Мм1		±	+							
	Астроцитома		+	+				+			

* Данные об А-функции клеток эпителия, эндотелия и В-лимфоцитов см. в тексте.
** Увеличение Ia-экспрессии после культивирования клеток в присутствии лимфокина.
*** Поллиморфо-ядерные лейкоциты.

Таблица 30

Варианты А-клеток мыши, выявляемые моноклональными антителами

Мембранные маркеры	М. м. кДа	МФ селезенки (КПА)	Перитонеальные МФ			ДК	
			КПА	Киллеры		Фолли- кулярные *2	Интерди- гиталь- ные *3
				Опу- холь *	ADCC		
Ia-белки							
I-A		+ или — *4	+			+ *5	
I-E	33+29	+ или — *4	+				
I-J		+ или — *4					
F4/80	160	+	+	+	+	—	—
Mac-1 *6							
M1/70	170+95	±	+			—	—
M1/69		±	±			—	—
Mac-2	32	±	+			—	+
2.4G2 *7		+	+			—	—
33D1		—	—			+	+
M43			+ *8	+	+		
M57			+ *8	—	+		
AcM.1	70+45		—	+	—		

* Прямая цитотоксичность на клетки опухоли.

*2 В суспензиях клеток.

*3 На срезах лимфоидных органов и в коже (лангергансовы клетки).

*4 Варианты (см. текст): I-A+, I-E+, I-J+; I-A+, I-E+, I-J-; I-A-, I-J+.

*5 2·10⁶ на клетку (в 20 раз выше, чем на В-клетках).

*6 Маркер С3R.

*7 Маркер FcR.

*8 Экспрессия на 20—50% макрофагов.

(+) Наличие маркера; (—) отсутствие маркера.

причин большей эффективности А-клеток — МФ селезенки и тимуса по сравнению с МФ ПЭ [406, 1993].

Использование МКАТ (табл. 30) позволило выявить общие для МФ антигенные маркеры: F4/80 [114], Mac-1 и 2 [859, 858], 2.4G2 [1490] (Mac-1 и 2.4G2 — маркеры соответственно С3R и FcR). Однако разновидности Mac-1 — M1/69 и M1/70 — по-разному экспрессированы на МФ различного происхождения: первый — преимущественно на менее зрелых МФ селезенки, второй — на более зрелых МФ ПЭ [1930]. Указанные различия также отражаются на неодинаковой эффективности МФ из этих двух источников: функцию А-клеток в селезенке и ПЭ выполняют главным образом менее зрелые малые и средние МФ, тогда как более зрелые большие МФ, выделенные из ПЭ, но отсутствующие в селезенке, напротив, угнетают иммунный ответ за счет обильной секреции PGE₂ [1160, 1930]. Эта неоднородность МФ ПЭ по диаметру, степени зрелости и функциональным активно-

стям (так же, как по частоте экспрессии Ia-белка) по сравнению с МФ селезенки является причиной меньшей эффективности А-функции МФ ПЭ.

Дальнейшее функциональное разнообразие МФ ПЭ установлено с помощью иных МкАТ (табл. 30). Одни из них (АсМ.1) реагируют с молекулой из двух полипептидов (70+45 кДа), экспрессированной только на активированной популяции МФ-киллеров, которая лизирует *in vitro* клетки опухолей. Эти МкАТ не реагируют ни с А-клетками, ни с МФ, обладающими анти-телозависимой цитотоксичностью, т. е. лизирующими КМ, покрытые антителами [1108] (иной белок с молекулярной массой 56 кДа также выявляется избирательно на МФ-киллерах с помощью МкАТ [1912a]). Другие МкАТ (М57) обладают противоположной активностью, третьи (М43) реагируют с обеими субпопуляциями МФ-киллеров [1989].

Мас-1 и Мас-2 — маркеры МФ ПЭ — различаются не только по молекулярной массе и структуре молекулы (см. табл. 30), но и по условиям синтеза и экспрессии на поверхности: если Мас-1 — универсальный антиген МФ, то возникновение Мас-2 отражает степень дифференцировки МФ, вызванной тногликолатом [858], что не сопровождается ни экспрессией Ia-белков, ни возникновением цитотоксической активности МФ [225].

МФ селезенки, хотя и более эффективны как А-клетки, чем МФ ПЭ, также неоднородны: их фенотип различен в зависимости от того, какой категории Т-клеток они «презентируют» антиген (см. табл. 30). Одни из МФ селезенки, содержащие три Ia-молекулы (I-A⁺, I-E⁺, I-J⁺), выполняют функцию КПА для хелперов Т-В, т. е. обеспечивают антителообразование [1478, 756] (в отличие от МФ селезенки культивированные *in vitro* А-клетки костного мозга имеют фенотип I-A⁺, I-E⁺, I-J⁻ и «презентируют» антиген только иммунным, но не нормальным хелперам Т-В, обеспечивая синтез IgG, но не IgM антител [1858]). Другие МФ селезенки (I-A⁺, I-E⁺, I-J⁻) активируют пролиферативную реакцию как нормальных аллогенных [1373], так и сингенных Т-лимфоцитов, иммунных к растворимому антигену, адсорбированному на МФ [93]. Третья категория МФ селезенки (I-A⁻, I-J⁺) «презентирует» антиген угнетающим ГЗТ Т-супрессорам [1228].

Таким образом, МФ представляют собой семейство субпопуляций, различающихся степенью зрелости, антигенными маркерами и функциональными активностями. Функция А-клеток при патологических процессах эффективно выполняется Ia-содержащими МФ, локализованными не только в лимфоидных, но и в иных органах. В частности, купферовские клетки печени, извлеченные из нее после гепатэктомии [1385] или при развитии инфекционной грануломы [1936], активно стимулируют пролиферацию сингенных Т-клеток Ly1, причем эта реакция полностью блокируется анти-Ia антителами. Весьма вероятно, что в мозгу в качестве А-клеток функционируют клетки микроглии и олигодендроциты белого вещества, которые содержат молекулы I-A и I-E и не отличаются от МФ по своим свойствам [2082].

Таблица 31

Варианты А-клеток крови человека, выявляемые моноклональными антителами

Мембранные маркеры	М. м., кДа	Частота средн моноци- тов, %	Моноциты			ДК*
			КПА	Ауто- MLC	Алло- MLC	
3C10	55	95	+	+	+	95
9. 3F10 (HLA-D)	33+29	95	+	+	+	
ОКМ-1 ⁺	173	100	+	—	+	
ОКМ-5 ⁺	88	80				
ОКМ-1 ⁻		3	+	+	+	
ОКМ-5 ⁺						
Мас-120 ⁺	120	50	+	+	+	
Мас-120 ⁻		50	—	—	+	

* 0,1—0,2% мононуклеарных клеток крови (в 20 раз меньше, чем моноцитов) [2133].
(+) Наличие маркера; (—) отсутствие маркера.

Особый интерес представляют МФ тимуса, отличающиеся от остальных МФ ранним созреванием в онтогенезе: они полностью функционируют у новорожденных мышей, тогда как МФ селезенки начинают выполнять функцию А-клеток с 4 [1132], 8 [1229] или 14-го дней жизни [1439], достигая уровня активности МФ взрослого животного лишь в возрасте 1 мес. Указанное различие связано со значительно более ранним появлением Ia-молекул на МФ тимуса по сравнению с МФ селезенки, что весьма существенно, с одной стороны, для созревания Т-клеток внутри тимуса и возникновения их иммунореактивности в эмбриогенезе (гл. II.4), а с другой — для возникновения естественной толерантности периферических Т-клеток новорожденных к собственным белкам (гл. IV.2.2).

Установленная с помощью МкАТ неоднородность МФ мыши воспроизведена при изучении моноцитов крови человека (табл. 31). Хотя 95—97% моноцитов несут общие для них маркеры — ОКМ-1 [1841], 3C10 и 9.3F10 (молекула HLA-D) [2133], только 80% моноцитов несут маркер ОКМ-5 и лишь 3% их, лишенные общего маркера ОКМ-1 (фенотип ОКМ-1⁻, ОКМ-5⁺), способны индуцировать пролиферацию в аутологичной MLC, т. е. реакцию Т-клеток на аутологичную молекулу HLA-D [1841]. Этой же способностью обладает только та часть моноцитов, которая содержит маркер Мас-120, тогда как моноциты, лишенные этого маркера, не индуцируют пролиферацию Т-клеток не только в ауто MLC, но и при реакции на растворимый белок, т. е. дефектны по А-функции [396]. Очищенные альвеолярные МФ человека «презентируют» антиген еще менее эффективно, чем моноциты, несмотря на сходную степень экспрессии HLA-D.

[2090]. Сильное варьирование этой функции у альвеолярных МФ разных индивидуумов, видимо, обусловлено разной интенсивностью секреции ими веществ, блокирующих синтез ИЛ-2, как это установлено в МФ мыши (гл. III.4.5).

Помимо разнообразных категорий МФ, функции А-клеток могут выполнять полиморфно-ядерные лейкоциты [1506], а также часть клеток LGL³³ крови человека, которые секретируют ИЛ-1, экспрессируют HLA-DR, отличаются по своим маркерам от Т-клеток и МФ и функционируют в качестве натуральных киллеров (НК) [1773]. Однако наиболее эффективно эту функцию осуществляют дендритические клетки (ДК), которые содержатся в интерстициальной ткани многих органов животных [1945], в циркулирующей крови [2132] и лимфоидных органах человека [2133]. Важная особенность ДК, отличающая их от МФ и иных А-клеток, — массивная и стабильная экспрессия Ia-белков на их поверхности ($2 \cdot 10^5$ молекул на клетку). В связи с этим ДК мыши обычно выявляют с помощью анти-Ia антител в селезенке и лимфоузлах [1490], тимусе [1462], пейеровых бляшках [1919], ткани сердца, почки, щитовидной железы [797].

Разработка этапов очистки ДК мыши позволила получить их с 95%-ной чистотой, детально изучить их свойства (табл. 29) и индуцировать МкАТ 33D1, отличающие ДК от МФ [1491]. Вместе с тем маркеры МФ, выявляемые МкАТ F4/80, 2.4G2, Mac-1 и Mac-2, отсутствуют на ДК (см. табл. 30) [1490]. Сходные данные получены при сопоставлении моноцитов и ДК в крови человека (табл. 31): никакие маркеры, характерные для моноцитов, не выявляются на ДК, хотя белки HLA-D экспрессированы на них в одинаковой степени [2133].

Неидентичность мембранных маркеров МФ и ДК отражает фундаментальные различия между этими двумя типами клеток — по морфологии, мембранным рецепторам, биологическим свойствам и функциональным активностям. В отличие от МФ ДК имеют гладкую поверхность с бульбозными выростами, ядро неправильной формы и прозрачную цитоплазму, в которой содержится мало лизосом, недоразвитый эндоплазматический ретикулум и секреторный аппарат, отсутствуют характерные для МФ ферменты — эстераза и пероксидаза. На поверхности ДК мыши отсутствуют FcR и C3R (C3R, но не FcR, обнаружены на ДК человека) [2132], что коррелирует с отсутствием фагоцитарной активности. ДК высокочувствительны к воздействиям *in vivo* — облучению, ЦФ и гидрокортизону и отличаются от МФ сравнительно быстрым обменом (10% в сутки по сравнению с 2—3% у МФ). Хотя оба эти типа клеток имеют костномозговое происхождение, по-видимому, они дифференцируются независимо друг от друга, судя по неспособности длительно культивированных ДК мыши [1945] и человека [2132] превращаться в моноциты или МФ, а также фибробласты.

³³ Large granular lymphocytes — большие гранулярные лимфоциты.

Когда ДК были отделены от МФ (ДК спонтанно открепляются от пластика после суточной инкубации и больше к нему не прикрепляются, не образуют Fc-розеток и не чувствительны к МКАТ, реагирующим с маркерами МФ и лимфоидных клеток), оказалось, что, составляя лишь 5—10% по отношению к МФ в тканях и моноцитах в крови, ДК значительно более эффективны по сравнению с МФ при стимуляции иммунного ответа *in vitro*.

Эти данные получены на разнообразных моделях распознавания антигена в культуре клеток мыши, включая пролиферацию (и генерацию ЦТЛ) при реакции на аллоантигены [1946], модифицированные гаптеном [1716] или окисленные периода, том сингенные клетки [115, 1919], немодифицированный сингенный Ia-белок [1489], ГЦ [1643], а также функцию хелперов Т-В, обеспечивающих образование антител при реакции на ЭБ [917]. Последовательная иммунизация ДК *in vivo* и в MLC позволяет даже преодолеть генетический дефект — неспособность самки мутанта *bm12* генерировать ЦТЛ на антиген H-Y самца [235a].

Высокая эффективность А-клеток подтверждена при использовании ДК человека [2133], которые, в отличие от МФ, локализованы преимущественно в Т-клеточных зонах селезенки и лимфоузлов (соответственно в белой пульпе и периаартериальном кортексе). В связи с этим предполагается, что именно ДК, но не МФ служат А-клетками для активации Т-лимфоцитов антигеном. Установлена также способность ДК секретировать ИЛ-1 [1716] и обеспечивать секрецию ИЛ-2 Т-лимфоцитами [115] и клетками Т-гибридомы [1994] при реакции на антиген. Некоторые клоны ДК даже секретируют BCGF, обеспечивающий пролиферацию В-клеток, активированных тимуснезависимым антигеном [378]. В пользу важной роли ДК свидетельствует стабильность и высокая концентрация мембранной экспрессии Ia-белков на ДК, а также их неспособность секретировать ингибирующие и цитолитические факторы, что отличает их от МФ. Тем не менее следует полагать, что в конкретных условиях того или иного органа, а также в зависимости от формы антигена и пути его введения активация МФ или подобных им клеток может сыграть решающую роль в обеспечении распознавания антигена Т-лимфоцитами [746, 1643]. Кроме того, ДК и МФ селезенки [1390] и тимуса [878] обладают способностью взаимно кооперировать с помощью секретируемых ими факторов.

Более детальное изучение ДК показало, что их можно разделить по меньшей мере на две категории: «фолликулярные», обнаруженные в клеточных суспензиях, и «интердигитальные», выявляемые на срезах лимфоидных органов. Только на ДК второй категории обнаружен маркер активированных МФ — Mac-2 (см. табл. 30). Поскольку тот же маркер (но не иные антигены МФ) найден на лангергансовых клетках (ЛК) кожи, их также относят к субклассу «интердигитальных» ДК [760].

В действительности, хотя ЛК, имеющие костномозговое происхождение и составляющие около 4% эпителиальных клеток

базального слоя кожи, подобны ДК по морфологии и обильной экспрессии Ia-белка на мембране, они отличаются от ДК наличием FcR [2035], маркеров Mac-1 и F4/80, неспецифической эстеразы [1803]. Поскольку культивирование ЛК в течение 4 дней *in vitro* приводит к исчезновению большинства этих признаков при сохранении Ia-экспрессии и резком возрастании функции А-клеток, предполагается, что ЛК — предшественники ДК, созревающие при культивировании. В любом случае именно ЛК играют определяющую роль в иммунитете, связанном с участием кожи, — развитии ГЗТ, отторжении аллотрансплантата кожи, противоопухолевом иммунитете при раке кожи [1966]. Описанное выше сдвигание Ia-молекул с ЛК после облучения кожи УФ отменяет все эти виды иммунитета. Трансплантат кожи не отторгается при различии между донором и реципиентом только по I-району МНС, если ЛК донора заменены на ЛК реципиента. Решающая роль ЛК в отторжении заключается в том, что Т-лимфоциты реципиента, реагируя на аллогенные Ia-белки ЛК донора, секретируют фактор, который резко усиливает экспрессию Ia-белков донора на эндотелиальных клетках трансплантата, что и приводит к его отторжению. Таким образом, для отторжения трансплантата необходимы два типа аллогенных клеток — ЛК, которые инициируют реакцию, и эндотелиальные клетки, которые в нее вовлекаются [463], что, по-видимому, сопровождается локальным рекрутированием Т-амплифайеров реципиента.

Остается неизученным вопрос о способности ЛК секретировать ИЛ-1. Хотя обогащенная ЛК популяция клеток кожи обеспечивает секрецию ИЛ-2 Т-лимфоцитами, активированными Кон А [1782], она не функционирует в качестве А-клеток для генерации ЦТЛ в МЛС, активированной комплексом ТНФ с сингенными стимуляторами [2108]. Кроме того, для пролиферативной реакции на антиген иммунных Т-лимфоцитов необходимо присутствие не только Ia⁺ А-клеток кожи (ЛК), презентирующих антиген, но и кератиноцитов, функция которых состоит в секреции ИЛ-1-подобного фактора (ЕТАФ)³⁴ [1955]. Это означает, что в коже функции А-клеток — презентация антигена и секреция ИЛ-1 — могут быть разделены между клеточными популяциями. Не исключена возможность, что такое ограничение функции А-клеток проявляется только в «интердигитальных» ДК.

Функции А-клеток могут выполнять не только костномозговые потомки, но и некоторые эпителиальные клетки, например, астроциты мозга, которые в отличие от МФ происходят из нейроэктодермы, несут маркер Т-клеток Thy-1, не содержат FcR и С3R и не обладают фагоцитарной активностью; тем не менее, подобно МФ, они содержат Ia-белки и секретируют ИЛ-1 и PGE₂.

³⁴ Epidermal cell-derived thymocyte activating factor — тимокитоактивирующий фактор из эпидермальных клеток.

под действием ЛПС [595], причем это свойство воспроизводится клетками астроцитомы [596]. Возможность функционирования астроцитов в качестве А-клеток при развитии рассеянного склероза следует из их способности «презентировать» основной белок миелина линии Т-клеток, вызывающих ЭАЭ [597].

«Адсорбционный» эпителий, локализованный на периферической части ворсин кишечника и в проксимальных тубулах почки, также содержит на своей мембране большое и стабильное количество Ia-белков [1310]. Увеличение Ia-экспрессии на эпителии лактирующей молочной железы [1038] может оказаться существенным для предотвращения развития мастита. Некоторые гаптены, представленные на поверхности I-J⁺ эпидермальных клеток кожи, индуцируют эффекторные Т-супрессоры (гл. IV. 2.5.2), причем А-функция этих эпидермальных клеток и экспрессия их I-J молекул резистентны к облучению УФ, что отличает их от УФ-чувствительных Ia⁺ЛК кожи [716].

Не исключена также возможность функционирования эндотелия в качестве А-клеток [293, 854], причем экспрессия HLA-DR только на 1% эндотелиальных клеток пупочной вены человека достаточна для обеспечения пролиферации Т-клонов, специфичных к вирусу кори [1488]. Секреция ИЛ-1 эндотелиальными клетками морской свинки позволяет им заменить МФ для активации Т-клеток митогеном [1728]. Естественная функция эндотелиальных клеток в иммунитете может быть связана с их вовлечением в уже начавшийся иммунный ответ: резкое усиление Т-лимфокином экспрессии Ia-белков на поверхности эндотелиальных клеток и фибробластов человека [1614] позволяет только клеткам первого типа индуцировать пролиферацию в первичной аллогенной MLC [649a]. Способность артикулярных хондроцитов кролика «презентировать» антиген иммунным Т-лимфоцитам за счет экспрессии Ia-молекул на 29—46% хондроцитов может быть связана с патогенезом ревматоидного артрита [2082a]. Клоны ЦТЛ мыши, экспрессирующие Ia-молекулу на своей поверхности, также «презентируют» антиген (инсулин быка) иммунным к нему Т-лимфоцитам [173].

Хотя Ia-белок экспрессирован и на мембране покоящихся В-лимфоцитов (в количестве, в 10—20 раз меньшем, чем на поверхности ДК) [1490], они слабо (в 100—1000 раз хуже, чем МФ) выполняют функцию А-клеток в связи со слабой способностью секретировать ИЛ-1 (что обычно осуществляется прилипающими клетками), слабым захватом антигена, медленной его деградацией и отсутствием его компартментализации [357]. Тем не менее элиминация В-клеток из организма мыши с помощью систематического введения анти-IgM антител начиная со дня рождения угнетает функцию А-клеток [1718], возможно, в связи со стимуляцией «процессинга», если антиген проникает в А-клетки не сам по себе, а в виде комплекса с антителами [1271].

Способность В-лимфоцитов «презентировать» антиген иммунным Т-лимфоцитам возрастает в 25—250 раз в следующих случаях: а) при десенсилизации α-цепи Ia-молекулы В-лимфоцитов, обработанных нейраминидазой [407]; б) при 3-кратном уменьшении дозы облучения [100], которому обычно подвергаются высокорезистентные МФ (3300 рад); в) при предварительной активации В-клеток ЛПС или антителами к Ig [972]; г) при использовании в качестве А-клеток естественных В-лимфоцитов низкой плотности [1080a], некоторых клонов В-лимфом [675], В-гибридом [987] или трансформированного вирусом

Эпштейна—Барр клона В-лимфоцитов, специфичного к определенному антигену [1136].

Особенно эффективно функция А-клеток выявляется в иммунной к гаптену ТНФ обогащенной популяции В-лимфоцитов, если они с помощью анти-ТНФ рецепторов концентрируют на своей поверхности комплекс ТНФ с носителем, к которому специфичны Т-лимфоциты [1703]. Последующий прямой контакт «презентирующих» антиген В-клеток с иммунными к нему Т-лимфоцитами может приводить к секреции Т-лимфокина ИЛ-4, что сопровождается ранним этапом активации В-клеток и увеличением экспрессии Ia-молекулы на их поверхности (гл. III.3.4.). Именно этот механизм может обеспечивать Т-В кооперацию за счет их близкого разморасположения [1512], даже если их рецепторы распознают неидентичные структуры антигена в условиях естественного иммунного ответа. Кроме того, возможность естественного «процессинга» молекулы Ig синтезирующим его В-лимфоцитом и последующей активации Т-клеток, иммунных к аллотипической детерминанте того же Ig [2297a], должна внести ясность в механизм антиидиотипической регуляции иммунного ответа.

Использование лейкоми — дендритической P388D1 [209], миеломоноцитарной WENI-3 [2175] и миелоидной [1113] в качестве А-клеток позволило стандартизировать систему и подтвердить факты, установленные с нормальными А-клетками. В частности, степень экспрессии Ia-белков на мембране и секреции ИЛ-1 вариантами указанных опухолей четко коррелировали с их А-функцией, тогда как фагоцитарная активность, напротив, не имела к этой функции никакого отношения (см. табл. 29). Однако даже в этом случае выявился дефект КПА: в отличие от обычных МФ, которые одинаково «презентируют» антиген Т-лимфоцитам независимо от их функции (пролиферативная или хелперная активность), опухолевые клетки макрофагального типа обеспечивают только пролиферацию и секрецию ИЛ-2, но не активируют Т-хелперы для В-клеток, возможно, вследствие активации Т-супрессоров, подавляющих функцию Т-хелперов и образование антител [1642].

* * *

Исследование этапов и механизмов межклеточной кооперации как основы распознавания чужеродных антигенов вышло за последние 5—6 лет на качественно новый уровень. Этот сдвиг связан с появлением экспериментальных возможностей выделять из, казалось бы, однородной категории клеток отдельные субпопуляции, выполняющие узкоспециализированную функцию, наращивать и клонировать каждую из них в отдельности, что, в свою очередь, дает возможность анализировать условия, механизмы и непосредственные следствия реализации соответствующей функции, которая отражает определенный этап иммунологического распознавания.

Указанные возможности появились главным образом благодаря выявлению мембранных маркеров субпопуляций клеток с помощью МкАТ и получению стабильных клеточных линий с помощью очищенных и разделенных факторов роста и дифференцировки каждого класса и субкласса лимфоцитов. Использование этих возможностей показало, что в основе интимного взаимодействия клеток при реакции на антиген лежит цепь последовательных событий: 1) прямой контакт между клеточными мембранами за счет реакции антигенраспознающего рецептора одной клетки с комплексом антигена и продукта МНС на поверхности другой клетки (специфический сигнал 1); 2) индуцированное специфическим сигналом 1 возникновение рецептора к неспецифическому фактору (интерлейкину), который секретируется активированной клеткой; 3) контакт секретированного интерлейкина с соответствующим рецептором (неспецифический сигнал 2), что ведет к росту или дифференцировке клетки, несущей такой рецептор. Началу специфического распознавания антигена Т-клетками хелперной группы (индуктором и продуцентом ИЛ-2) предшествует фрагментация антигена внутри А-клетки, с тем чтобы фрагменты расщепленного белка могли ассоциироваться с мембранной Ia-молекулой.

В действительности каждый Т-субкласс включает набор клеточных субпопуляций, потенциально способных экспрессировать на своей поверхности специфические и неспецифические рецепторы и реагирующих на антиген и фактор по своим особым законам (см. гл. IV). Тем не менее изложенная выше основная последовательность событий при первичном распознавании антигена Т-клетками соответствует общему принципу иммунологической реакции (отраженному в структуре Ig): специфический контакт рецептора Т-клетки с антигеном не вызывает ничего, кроме последующих неспецифических процессов, которые, собственно, и реализуют антигензависимую дифференцировку и иммунный ответ каждого из множества Т-субклассов.

Вскрытие последовательности этих ранних событий антигензависимой дифференцировки Т-лимфоцитов и молекулярной структуры факторов и рецепторов, ответственных за эти события, ставит новые вопросы (см. гл. IV и V): о природе и специфичности ассоциации с Ia-молекулой; о соотношении между детерминантами антигена, реагирующими с Ia-молекулой А-клетки и с рецептором Т-клетки; об особенностях клональной структуры каждого из Т-субклассов и природе их рецепторов. Из приведенных в гл. III данных очевидно, что эти на первый взгляд теоретические исследования имеют важнейшие прикладные следствия, связанные с направленным усилением или подавлением иммунного ответа с помощью влияния на экспрессию Ia-белков, активность интерлейкинов, дифференцировку и функцию Т-амплифайеров, ЦТЛ и Т-супрессоров, функцию выращенных из них клонов.

IV

ГЛАВА

РЕГУЛЯТОРНЫЕ (СУПРЕССОРНЫЕ) И ЭФФЕКТОРНЫЕ (КИЛЛЕРНЫЕ) Т-СУБКЛАССЫ: УСЛОВИЯ ГЕНЕРАЦИИ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, КЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ, МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИЙ

Хотя за самый ранний этап узнавания чужеродного антигена ответственны описанные в гл. III Т-клетки хелперной группы (индукторы, активирующие функции А-клеток, амплифайеры, секретирующие ИЛ-2), которые не принимают непосредственного участия в реализации иммунного ответа, именно они играют определяющую роль во многих видах иммунитета: их специфическая реакция на антиген обеспечивает неспецифические сигналы, необходимые для антигензависимой дифференцировки предшественников эффекторных Т-лимфоцитов. К числу последних относят киллеры (ЦТЛ), разрушающие КМ при трансплантационном, противоопухолевом, противовирусном и иных видах иммунитета, эффекторы ГЗТ ($\text{эТ}_{\text{ГЗТ}}$), ответственные за реакции ГЗТ к белкам и гаптенам и секретирующие MIF¹, эффекторные хелперы Т-В ($\text{T}_{\text{хв}}$), прямое действие которых на В-лимфоциты обеспечивает их антигензависимую дифференцировку в АОК, эффекторные супрессоры ($\text{T}_{\text{св}}$), подавляющие пролиферацию и (или) дифференцировку других категорий Т-лимфоцитов, контрсупрессоры ($\text{T}_{\text{кс}}$), регулирующие функцию $\text{T}_{\text{св}}$. В действительности каждый из указанных субклассов эффекторных Т-клеток не однороден. Особенно велико разнообразие $\text{T}_{\text{св}}$ и наиболее существенна их регуляторная функция, так же как эффекторная функция ЦТЛ. Именно эти два Т-субкласса детально рассмотрены в настоящей главе.

IV.1. Индукторы эффекторных Т-лимфоцитов

Для антигензависимой дифференцировки некоторых из эффекторных Т-субклассов недостаточно Т-индукторов и Т-амплифайеров, секретирующих неспецифические факторы, которые обеспечивают пролиферацию Т-клеток и дифференцировку ЦТЛ

¹ Migration inhibiting factor — фактор ингибирования миграции МФ.

(см. гл. III.4). В частности, активации способности $T_{сэ}$ продуцировать фактор при реакции на аллоантиген способствует неспецифический «ко-стимулятор» который, хотя и содержится в надосадочной жидкости из MLC или культуры тимомы EL-4 с РМА, не является ИЛ-2, и его образование не ингибируется циклоспорином А [1685].

Особый интерес представляет специальная категория Т-клеток-индукторов, обеспечивающих дифференцировку иных Т-субклассов, помимо ЦТЛ: индукторы $T_{хэ}$ (iT_c) или augmenting cells (усиливающие клетки), индукторы $T_{сэ}$ (iT_c), индукторы $\varepsilon T_{гзт}$ ($iT_{гзт}$).

Во всех этих случаях Т-индукторы — зрелые клетки Ly1, а объект их действия — предшественник соответствующего субкласса Т-лимфоцитов. В связи с этим iT_x и iT_c , способствуя дифференцировке соответственно $T_{хэ}$ и $T_{сэ}$, не оказывают прямого действия на В-лимфоциты, на которые действуют $T_{хэ}$ и $T_{сэ}$. Например, предшественники $T_{хэ}$ Ly123 превращаются в $T_{хэ}$ Ly1 за 4 дня инкубации в культуре с антигеном (эритроцитами барана или белком мембраны стрептококка) при условии, что в культуре с самого начала содержатся нормальные клетки Ly1, которые сами не оказывают влияния на образование антител. Эти iT_x Ly1 можно отличить (и отделить) от созревших в культуре $T_{хэ}$ Ly1, если аллели их Lyt-1 антигена не идентичны [1314, 1840]. Такие же iT_x могут быть индуцированы *in vivo* гемоцианином [2086] или эритроцитами барана [500]. Сходная закономерность установлена при дифференцировке предшественников $T_{сэ}$ Ly123 в $T_{сэ}$ Ly23 после 48 ч инкубации с антигеном (эритроцитами барана): $T_{сэ}$, подавляющие АОК к эритроцитам барана, созревают в этих условиях только в присутствии малой дозы клеток Ly1, предварительно иммунизированных *in vitro* или *in vivo* эритроцитами барана и выполняющих, таким образом, функцию iT_c . Тот же процесс происходит *in vivo* — при введении облученным мышам смеси предварительно индуцированных антигеном iT_c Ly1 и нормальных предшественников $T_{сэ}$ Ly123 [321, 499].

Помимо различия по Lyt-фенотипу, iT_c (Ly1) и $T_{сэ}$ (Ly23) различаются по антигенным детерминантам I-J-продуктов МНС, которые они оба несут. Этот факт установлен с помощью реакции МкАТ анти-I-J с клетками клонов iT_c и $T_{сэ}$ [1458]. Имеются даже морфологические различия между клонированными iT_c Ly1 и $T_{сэ}$ Ly23: iT_c содержат в цитоплазме единичные кластеры везикул с неспецифической эстеразой, тогда как $T_{сэ}$ — множество осмиофильных гранул, насыщенных хондритинсульфатом [493].

При индукции $\varepsilon T_{гзт}$ *in vitro* [1186, 2111] или *in vivo* [2256, 1367], вызванной в неоптимальных условиях иммунизации (малая доза антигена или инактивация ЦФ части предшественников $\varepsilon T_{гзт}$), также выявляется помощь $iT_{гзт}$ с фенотипом Ly1, которые могут быть отделены от $\varepsilon T_{гзт}$, несущих тот же фенотип Ly1, за счет различий иных мембранных маркеров: неидентичных аллелей антигена Thy-1 [2111] или продуктов МНС. В последнем случае это различие установлено при индукции ГЗТ у

гибрида F_1 с помощью $iT_{\text{гзт}}$ одной из родительских линий [2256], а также экспрессии у $iT_{\text{гзт}}$ I-A молекулы, отсутствующей у $\varepsilon T_{\text{гзт}}$ [1367].

Биологический смысл Т-индукторов, по-видимому, состоит в обеспечении регуляции возникновения или функционирования эффекторных Т-клеток. Хотя механизмы такой регуляции индивидуальны для каждого типа индукторов, как правило, они отличаются от эффекторных Т-клеток низким порогом активации и малой требовательностью к условиям возникновения: обычно они образуются сравнительно быстро после иммунизации низкой дозой антигенов широкого спектра, в том числе чистого гаптена без ассоциации с носителем. В частности, $iT_{\text{гзт}}$, обеспечивающие выход эффекторов ГЗТ из кровотока в очаг воспаления с помощью секреции серотонина из активированных тучных клеток [102], возникают уже через сутки после введения мышам пикрилхлорида в очень малой дозе и характеризуются резистентностью к облучению и действию супрессоров [2131]. Подобно $T_{\text{сз}}$, $iT_{\text{с}}$ могут возникать при введении антигена *per os* [1250], т. е. в отсутствие активации иных Т-субклассов.

Общее свойство указанных Т-индукторов, отличающее их от Т-амплифайеров, состоит в высокой специфичности их эффекта: реагируя на данный антиген, они способствуют дифференцировке соответствующего эффекторного Т-субкласса, специфичного к тому же антигену. Этот факт установлен в отношении $iT_{\text{х}}$, $iT_{\text{с}}$ и $iT_{\text{гзт}}$ при использовании широкого спектра антигенов, включая белки [2086, 2111], гаптены [1367], эритроциты [321, 2256], вирус гриппа [1186].

Несмотря на сходство антигенной специфичности между Т-индуктором и соответствующим эффекторным Т-субклассом, их различает принцип антигенного распознавания. Если большинство вариантов эффекторных Т-клеток, так же как Т-амплифайеры, связывается с антигеном и реагирует на него только при условии ассоциации антигена (или его «процессированных» фрагментов) с одним из продуктов МНС (гл. III, 1), то $iT_{\text{х}}$ [850] и $iT_{\text{с}}$ [2277, 884] могут связываться с чистым антигеном, фиксированным на пластике. Взаимодействие $iT_{\text{гзт}}$ с антигеном также, видимо, не требует ассоциации антигена с продуктом МНС, судя по способности $iT_{\text{гзт}}$ и продуцируемого ими фактора (см. ниже) активировать *in vivo* функцию сингенных и аллогенных $\varepsilon T_{\text{гзт}}$ в одинаковой степени [101].

Не исключена возможность, что $iT_{\text{с}}$ так же неоднородны, как $T_{\text{сз}}$, варианты которых могут распознавать антиген либо сам по себе, либо в ассоциации с теми или иными продуктами МНС (гл. IV, 2.3). В частности, $iT_{\text{с}}$ с обычным фенотипом Lyt-1^+2^- , индуцированные в сингенной MLC [2273], или клонированные $iT_{\text{с}}$, индуцированные антигеном *in vivo* [94], функционируют только при условии ассоциации антигена с I-A молекулой соответствующего гаплотипа МНС (возможная природа генетической рестрикции таких вариантов $iT_{\text{с}}$ обсуждается в разделе IV.3.4.4).

Существенное различие между тремя типами указанных Т-индукторов состоит прежде всего в разнообразии их мембран-

Таблица 32
Маркеры, свойства и факторы Т-индукторов

Т-индуктор	Маркер					Иммунологическая специфичность	Связывание с антигеном без МНС	Генетическая рестрикция		Фактор		
	Lyt	I-A	I-A _T	I-J _T	Qa-1			I	Igh-V	Специфическая цепь	Неспецифическая цепь	М. м., кДа
Т-хелперов (иТ _х)	1+2 ⁻	—	+	—	?	+	+	+	—	Рец* Tind***»	I-A _T	67+33**
Т-супрессоров (иТ _с)	1+2 ⁻	—	—	+	+	+	+	—	+	Рец *	I-J _T	70+70
Т-эффекторов ГЗТ (иТ _{ГЗТ})	1+2 ⁻	+	—	—	?	+	+	—	—	?	?	70

- * Рецептор к антигену (тест-специфическое связывание).
 ** В редуцирующих условиях молекулярная масса 33+33 кДа.
 *** Маркер иТ_х.

ных маркеров, исключая общий для них антиген Lyt-1 (табл. 32): иТ_{ГЗТ} несут обычную I-A молекулу, отсутствующую не только на эТ_{ГЗТ} [1367], но и на остальных Т-индукторах. Последние содержат неидентичные продукты I-района МНС, отсутствующие на В- и А-клетках и выявляемые МкАТ. В частности, иТ_х несут антиген I-A_T [850, 1449], а иТ_с — антиген I-J_T [1432] — маркеры, качественно отличающиеся от «классических» молекул МНС класса II². Кроме того, только на иТ_с (и предшественниках Т_{с3}) содержится антиген Qa-1, т. е. иТ_с имеют фенотип Lyt-1+2⁻, Qa-1⁺, I-J_T⁺, который выявляется на 60% клеток Ly1 селезенки мыши [320, 499].

Два варианта иТ_с — Qa-1⁻ и Qa-1⁺ — действуют синергично, активируя соответственно ранний и поздний этапы дифференцировки предшественников Т_{с3} с фенотипом Ly23 [501].

Напротив, доля иТ_х, несущих антиген I-A_T, очень мала: они могут быть выявлены только с помощью обогащения на пластике, покрытом соответствующим антигеном, или Т-гибридомы FL10, выполняющей функцию специфичных к ГЦ иТ_х и несущей тот же маркер I-A_T [850].

Более существенное различие между Т-индукторами состоит в том, что для реализации их функциональной активности генетическая рестрикция (совпадение по геному с соответствующими предшественниками) либо не требуется — в случае иТ_{ГЗТ}

² I-A_T с молекулярной массой 33 кДа может оказаться единичной α-цепью обычной I-A молекулы с измененной антигенной структурой ввиду отсутствия сцепления в β-цепью [1386].

[1186, 101, 260, 1192], либо необходима по продуктам разных генов. В частности, для созревания T_{H2} их предшественники должны быть идентичны iT_H только по I-району МНС, но не по генам Ig [2086, 1449]. Напротив, для созревания T_{H1} их предшественники должны совпадать с iT_C только по аллотипу $Igh-V$ — продукту V-гена H-цепи Ig , тогда как никакого совпадения ни по МНС, ни по гену $Igh-C$ не требуется: с помощью подбора конгенных линий мышей, различающихся только одним из генетических комплексов — МНС, $Igh-V$ или $Igh-C$ ³, установлено, что iT_C обеспечивают дифференцировку аллогенных по МНС T_{H1} при условии их идентичности по аллотипу только $Igh-V$ гена [2275].

В связи с указанным различием между iT_H и iT_C по генетической рестрикции их функций выяснилось, что сами эти функции осуществляются специфическими к антигену гуморальными медиаторами разной природы. Фактор, продуцируемый iT_H и обозначенный TaF ⁴, получен из экстракта iT_H [2086] или Т-гибридомы FL100 [850], а также секретируется клонированной Т-линией 101.6, специфичной к эритроцитам барана [500]. Напротив, фактор iT_C , обозначенный $TsiF$ ⁵, спонтанно секретируется в культуре обычных иммунных к антигену Т-клеток $Ly1$ [2275] (подобный моноклональный фактор TsF_1 , секретированный Т-гибридомами супрессоров-индукторов, описан в разделе IV.2.5.4). Оба фактора по своим функциональным и антигенным свойствам идентичны продуцирующим их Т-индукторам: а) высокоспецифичны, т. е. обеспечивают дифференцировку соответствующих Т-клеток, активированных только тем же антигеном (или, если T_{H2} активируются гаптенем, он должен быть сцеплен с тем носителем, к которому иммунны iT_H); б) не действуют на В-клетки прямо, т. е. не функционируют в качестве эффекторных факторов TRF (гл. III.3.4) или TsF (гл. IV.3.5.3); в) специфически связываются с тем же антигеном на иммуносорбенте или эритроцитах; г) их функция рестриктирована по указанным выше генам — I-A для TaF и $Igh-V$ для $TsiF$; д) несут в своей структуре соответствующие продукты I-района МНС: I-A_r — у TaF , I-J_r — у $TsiF$.

Общее свойство TaF и $TsiF$ — единый принцип их структурной организации: оба они состоят из двух нековалентно связанных цепей, которые легко разобщаются аффинной хроматографией. Одна из них связывается с антигенным сорбентом, другая — с антительным, содержащим антитела к I-A_r или к I-J-антигену при фракционировании соответственно TaF [1449] и $TsiF$ [2277]. В обоих случаях функция фактора восстанавливается

³ Мыши трех линий BALB/c, C. B-20 и BAB. 14 с гаплотипом H-2^d различаются аллотипами генов Igh . BALB-c: $Igh-V^a$, $Igh-C^a$, C.B-20: $Igh-V^b$, $Igh-C^b$ (идентично линии C57BL-H-2^b); BAB. 14: $Igh-V^a$ (идентичен BALB/c) и $Igh-C^b$ (идентичен C57BL).

⁴ Augmenting factor — фактор, усиливающий функцию Т-хелперов.

⁵ Suppressor inducer factor — фактор индукторов Т-супрессоров.

лишь при смешивании двух изолированных цепей, содержащихся в фильтратах после пассажа фактора через антигенный и антительный сорбенты. Произвольная комбинация таких цепей, выделенных из факторов данного типа (TaF или TsiF), но различающихся по иммунологической специфичности или по аллельному продукту рестриктирующего гена (I-A_T для TaF или Igh-V для TsiF), привела к установлению важных фактов.

Во-первых, функции этих цепей четко разграничены: только та цепь, которая связывается с антигеном и не содержит продуктов I-района (Ia⁻), определяет иммунологическую специфичность фактора, независимо от его генетической рестрикции; напротив, только Ia⁺ цепь (I-A_T⁺ для TaF и I-J⁺ для TsiF) определяет генетическую рестрикцию фактора, восстановленного при рекомбинации цепей независимо от специфичности первой цепи [589].

Во-вторых, в состав специфической цепи TaF также входят два компонента: вариабельный участок, реагирующий с антигеном, и константный участок, выявляемый MkAT к маркеру иT_x, обозначенному Tind^d, ген которого локализован на хромосоме XII около гена Igh-C [1527]. В связи с этим специфическая цепь TaF адсорбируется в равной степени на сорбентах, содержащих либо соответствующий антиген, либо антитела к Tind^d данного аллотипа Igh-C [2087, 1449]. Напротив, неспецифическая цепь TaF, которая связывается с анти-I-A_T-колонкой, не связывается с анти-Tind^d-колонкой.

В-третьих, С-участки двух факторов — TaF и TsiF — не идентичны: их можно различить с помощью MkAT к разным детерминантам одного и того же аллотипа Igh-C, отсутствующим на В-клетках [49].

В-четвертых, что наиболее существенно, именно неспецифическая I-J⁺ цепь TsiF определяет рестрикцию этого фактора, но, как выше указывалось, не по I-J антигену, а по аллотипу Igh-V [2277]. Продукты I-J и Igh-V действительно входят в структуру единой молекулы: они не могут быть разобщены в редуцирующих условиях электрофореза в полиакриламидном геле [721]. В связи с этим иT_c гибрида F₁ (BALB/c × C57BL) содержат два типа TsiF, в каждом из которых выявляется антиген I-J данного родителя (I-J^d или I-J^b), сцепленный только со «своим» аллотипом Igh-V: I-J^d с Igh-V^a (линия BALB/c) и I-J^b с Igh-V^b (линия C57BL). Таким образом, продукт Igh-V гена, необходимый для передачи сигнала от иT_c на предшественник T_{с3} (или «акцепторную» Т-клетку), экспрессирован на неспецифической I-J⁺ молекуле того же TsiF.

Об отсутствии связи Igh-V продукта молекулы TsiF с ее антигенной специфичностью свидетельствует также экспрессия того же продукта, кодированного вариабельным Igh-регионом XII хромосомы, на индуцированных метилхолантеном саркомах мышей, несущих данный аллотип Igh-V. Антисыворотки к «специфическому опухолевому антигену» этих сарком, индуцирован-

ные в сингенной системе, инактивируют функцию TsiF, но не иных факторов Т-клеток [588]. Далее оказалось, что рестрикция по Igh-V передачи сигнала от иТ_c контролируется генотипом Igh-V не самих иТ_c, а того тимуса, в котором созрели данные иТ_c в полуаллельной химере, или в мышах nude с пересаженным им тимусом. В этом случае неспецифическая цепь TsiF, сохранив свой исходный I-J антиген, приобрела способность рестриктировать передачу сигнала на Т-клетки-акцепторы по аллелю Igh-V генотипа того тимуса, в котором созрели данные иТ_c, (но не по Igh-V аллелю собственного генотипа. Эти данные означают, что на клетках тимуса экспрессирован Igh-V — продукт, не имеющий отношения к распознаванию антигена [2279].

На основании представленных данных возникает серия новых предположений: а) некоторые гены Igh-V региона XII хромосомы контролируют не идиотипы активного центра антител и рецепторов Т-клеток, а структуры, родственные опухолевым антигенам и существенные для межклеточных взаимодействий некоторых Т-субклассов; б) экспрессия антигена I-J и продукта Igh-V на единой молекуле позволяет предположить, что I-J ген локализован не внутри МНС хромосомы XVII, а на хромосоме XII, тогда как функция МНС состоит лишь в регуляции экспрессии этого гена (последние данные об I-J гене см. гл. I.3.3.6).

Хотя молекулярная структура гетеродимер TaF и TsiF только начинает изучаться, первые данные указывают на их неидентичность. Если специфическая и неспецифическая субъединицы TaF имеют в редуцирующих условиях молекулярную массу 33 кДа с рI соответственно 5,6 и 6,3 [1386], то субъединицы TsiF — 68 и 72 кДа соответственно и отличаются выраженной гидрофобностью и низкой рI [721].

Фактор иТ_{гзт} с молекулярной массой 70 кДа [1628], ответственный за выход эТ_{гзт} из кровотока в очаг воспаления *in vivo* и специфически реагирующий с антигеном без генетической рестрикции [101], вызывает необычный феномен — раннюю ГЗТ с пиком через 2 ч после введения антигена иммунному животному. Не исключена возможность, что «ранние» MIF-продукенты, специфичные к антигенам комплекса H-2 мыши и образующиеся через 18 ч после первичной иммунизации аллогенными клетками *in vivo* [24] или в MLC [26], в действительности представляют собой иТ_{гзт}, а выделяемый ими MIF — фактор иТ_{гзт}. В пользу такого предположения свидетельствуют различия свойств «ранних» и «поздних» MIF-продукентов (последние следует считать аналогом эТ_{гзт}): «ранние» MIF-продукенты отличаются от «поздних» Ly-фенотипом (Lyt-1⁺2⁺), высокой чувствительностью к облучению и ЦФ [22], а также способностью реагировать на мутантные антигены молекулы H-2K^b (bml и bm3) [27]. Эти свойства указывают на лабильность и быструю реактивность «ранних» MIF-продукентов на «малые» антигенные различия, что отличает их от эТ_{гзт} и объединяет с Т-индукторами.

Особый интерес представляет исследование Т-индукторов человека, функция которых нарушается при аутоиммунных заболеваниях. В частности, иТ_с, совпадающие с Т-амплифайерами и Т_х по фенотипу Т4/Leu3, необходимы для индукции Т_с с фенотипом Т4⁻, Т8⁺ при их совместной инкубации с антигеном; при этом радиочувствительные иТ_с могут быть отделены от радиорезистентных Т_х [1413]. В отличие от Т-амплифайеров, функция иТ_с не ингибируется циклоспорином А [843]. Прямое доказательство неидентичности Т_х и иТ_с, несущих тот же маркер Т4 и иммунных к аутологичным В-лимфобластам, трансформированным вирусом Эпштейна—Барр, получено с помощью клонированных стабильных линий этих двух Т-субклассов [1347].

Еще более существенно, что иТ_с человека, подобно иТ_с мыши, отличаются от Т_х и Т-амплифайеров с тем же фенотипом Т4/Leu3 присутствием иных маркеров, выявленных на 40—50 или 60—70% этой категории Т-клеток. К числу таких маркеров относятся TQ1 [1665], JRA⁶ [1414], Leu8 [640], 2H4 [1414a], которые отсутствуют на Т-клетках хелперной группы с фенотипом Leu3⁺8⁻, 2H4⁻ [425]. Поскольку экспрессия этих четырех маркеров на иТ_с обычно совпадает, не исключена возможность, что они представляют собой детерминанты одного антигена. Отсутствие этих маркеров на клетках Т4⁺ больных JRA в результате элиминации Т-субкласса Т4⁺, JRA⁺ анти-JRA аутоантителами, по-видимому, связано с патогенезом этого заболевания, вызываемого угнетением функции Т_с, не развивающихся без иТ_с [1414].

Напротив, возникновение красной волчанки, также связанное с угнетением функции Т_с, обусловлено прямой элиминацией аутоантителами Т_с с фенотипом Т4⁻, Т8⁺; инактивация иТ_с Т4⁺ в этом случае не является результатом действия аутоантител [1754].

Можно предположить существование у человека двух функциональных разновидностей иТ_с. Объектом одних иТ_с (с фенотипом Leu2-3⁺8⁺) служат предшественники Т_с, подавляющих функцию Т-амплифайеров, генерацию ЦТЛ [423] и пролиферативную реакцию Т-клеток [425]. Фенотип этих Т_с (Leu2⁺3⁺8⁺) отличается от указанного фенотипа иТ_с. Объектом других иТ_с (с фенотипом Leu2⁺3⁻8⁺, составляющих 60% клеток Leu2) служат предшественники Т_с, которые подавляют функцию Т_х и синтез Ig [640].

Для дифференцировки Т_с человека, угнетающих пролиферацию клеток в MLC [990], требуется помощь гуморальных факторов, секретируемых иТ_с. Эти факторы, активирующие аутологичные Т_с только на ранней фазе иммунного ответа, производятся радиочувствительными Т-клетками, содержащими Ia-подобный маркер (отсутствующий на Т_с), имеют молекулярную массу 18—29 кДа, не являются ИЛ-2, CSF, ИФ-γ, термолабильны, чувствительны к трипсину и резистентны к РНКазе. Сопоставление их свойств с более изученным TsiF мыши представит большой интерес.

⁶ Juvenile rheumatoid arthritis — ювенильный ревматоидный артрит — маркер Т-клеток Т4⁺, отсутствующий у больных JRA.

Таким образом, для индукции Т-хелперов, Т-супрессоров и эффекторов ГЗТ или для выявления их активности необходима помощь специальных для каждого случая Т-индукторов (с фенотипом $Ly1$ мыши и $T4/Leu3$ человека), которые характеризуются низким порогом активации антигеном, высокой иммунологической специфичностью, индивидуальными антигенными маркерами и индивидуальной генетической рестрикцией эффекта. Хотя механизм этого эффекта остается неясным, к нему имеют отношение по меньшей мере два обстоятельства.

1. iT_x мыши [96] и iT_c человека [1396] вызывают дифференцировку соответственно T_{x0} и T_{c0} в отсутствие антигена, взаимодействуя, по-видимому, с антигенсвязывающими рецепторами их предшественников. 2. Это взаимодействие осуществляется гуморальными медиаторами, каждый из которых, в случае iT_x и iT_c , состоит из двух нековалентно связанных цепей, действующих только вместе, но выполняющих при этом независимые функции. Одна из них определяет антигенную специфичность данных индукторов, а другая — генетическую рестрикцию их сигнала. Парадоксальной выглядит ситуация, связанная с тем, что продукт $Igh-V$ гена той же хромосомы входит в состав неспецифической субъединицы фактора iT_c , которая определяет генетическую рестрикцию Т-индуктора, экспрессируется на клетках сарком и, возможно, на клетках стромы тимуса, но не связывается с антигеном. Эти данные указывают на существование продуктов Igh -региона XII хромосомы, которые не распознают антигены, а регулируют межклеточную кооперацию и имеют отношение к онкогенезу.

IV.2. Т-клетки-супрессоры как регуляторы иммунитета

IV.2.1. Условия индукции Т-супрессоров

Очевидно, что в отсутствие ограничения иммунной реакции повторные инъекции антигена могут вызвать неограниченную пролиферацию клона, так что для реакции на другие антигены просто не останется места. Наиболее эффективно ограничение иммунного ответа может осуществляться с помощью саморегуляции, для чего в иммунной системе существует специализированный отдел клеток-супрессоров, которые, как оказалось, имеются среди Т-, В-лимфоцитов, и даже «нулевых» лимфоидных клеток неизвестного происхождения.

Т-супрессоры представлены множеством вариантов, различающихся условиями возникновения, кинетикой, специфичностью действия и генетической рестрикцией функции, разнообразием свойств, степенью зрелости и антигенными маркерами, чувствительными к их действию КМ, природой секретируемых медиаторов и даже механизмами супрессии. Несмотря на сложность этой «супрессологии», общие физиологические особенности, объединяющие разнообразные Т-супрессоры, состоят в следующем: во-пер-

вых, они лишь обратимо блокируют пролиферацию, дифференцировку или функциональную активность других лимфоидных клеток, не убивая их, что принципиально отличает их от ЦТЛ; во-вторых, как правило, их отличает нестабильность, высокая чувствительность ко многим агентам и воздействиям, короткий срок жизни, низкий порог активации и неприхотливость к условиям возникновения. Последняя особенность проявляется, в частности, в способности Т-супрессоров некоторых типов быстро реагировать на широкий спектр антигенов независимо от функции Ig-генов и ассоциации антигенной детерминанты с продуктами МНС (гл. V.2, V.3.4).

Эта особенность Т-супрессоров позволила обнаружить их в условиях, когда иные Т-субклассы не функционируют — при иммунизации тимуснезависимыми антигенами — полисахаридом и поливинилпирролидоном. Представление о существовании клеток-супрессоров возникло в связи с получением парадоксального результата: тимэктомия взрослых мышей [1021], облучение их малой дозой γ -лучей [1734] или введение им АЛС [134] не только не подавляли, но, напротив, стимулировали образование АОК к указанным антигенам. Поскольку усиление иммунного ответа зависело в этом случае от присутствия Т-клеток (не воспроизводилось у мышей *pude*) и отменялось при дополнительной инъекции Т-клеток нормальных животных, было высказано предположение, что Т-супрессоры, блокирующие образование антител, отличаются от иных Т-клеток высокой чувствительностью к облучению и АЛС и коротким сроком жизни (исчезают вскоре после тимэктомии взрослых животных).

Это предположение было подтверждено с помощью подавления образования антител при введении неиммунизированным животным Т-клеток животных, повторно иммунизированных белками [752, 2033] или ксеногенными эритроцитами [340, 2222], причем увеличение дозы антигена приводило к увеличению соотношения между Т-супрессорами и Т-хелперами в суспензии иммунных лимфоцитов. Особенно выражено торможение иммунного ответа при проникновении антигена в лимфоидную систему в нефизиологических условиях: введение антигена через желудочно-кишечный тракт [1475, 1687] или «иммунопривилегированные» органы, в которых обычно не развиваются иммунные реакции, — тимус [1852] или переднюю камеру глаза [2219], а также внутривенно. В последнем случае образованию СТС, быстро индуцирующих стойкую иммунологическую толерантность, способствует введение белка (так же, как полисахарида [123] или бактериофага [2199]) в очень высокой (10 мг) или низкой (10 мкг) дозе [347] (феномены обозначены как «высоко-» и «низкозонная» толерантность), а также в дезагрегированной форме [142, 2188], в виде искусственного конъюгата с химическим агентом [1252] или гаптена на поверхности сингенных клеток [729]. Во всех этих случаях СТС подавляют различные типы иммунных реакций к соответствующему антигену не только в собственном организ-

ме, но и при введении неиммунизированным животным (даже в смеси с иммунными к тому же антигену клетками) или при взаимодействии с иммунными клетками в культуре.

Индукция СТС при нефизиологических условиях иммунизации отличается исключительным разнообразием в отношении как введенных антигенов, так и фенотипа, активности и свойств самих СТС. В частности, СТС, подавляющие развитие ГЗТ, появляются в селезенке после введения в камеру глаза сингенных клеток, модифицированных гаптенем [2219], или клеток аллогенной меланомы [1477]. Кормление животных антигеном вызывает образование СТС к эритроцитам барана [969, 1250], сывороточным белкам [1475, 1875], гаптенам [1570], вирусу гриппа [1197]. Такие СТС выявляются в пейеровых бляшках и мезентериальных лимфоузлах уже на следующий день после начала кормления, а в селезенке и тимусе — несколько дней спустя [1306, 1687] даже после однократного введения *per os* 20 мг овальбумина [404]. Варианты фенотипа индуцированных таким способом СТС описаны в гл. IV.2.3.

Нефизиологические условия иммунизации, приводящие к быстрому образованию СТС, возникают также при инактивации *in vivo* функции А-клеток с помощью введения мышам анти-Ia антител или облучения их малой дозой УФ (гл. III.5.2). Активация при этом Т-супрессоров, которые не нуждаются в А-клетках для «презентации» антигена, приводит к торможению ГЗТ [521] и угнетению генерации ЦТЛ и Т-клеток памяти, реагирующих на ассоциированные с гаптенем сингенные продукты МНС [945] или специфические опухолевые антигены карциномы мыши. Одно из следствий — подавление противоопухолевого иммунитета и возникновение метастазов [1081]. Выращены даже клоны СТС, избирательно угнетающие иммунитет к карциноме, индуцированной УФ [1693]. Активация Т-супрессоров при угнетении экспрессии Ia-молекул на ЛК человека, облученного УФ, также приводит к угнетению функции Т-хелперов, что сопровождается торможением синтеза Ig [839] и может иметь отношение к патогенезу дерматита и заболеваний, связанных с аутоиммунными дефицитами, в том числе саркомы Капоси [165].

Хотя более сильный иммунный ответ, например, реакция Т-клеток на аллоантиген, обычно не угнетается УФ, другие агенты, введенные взрослым животным, искусственно стимулируют реакцию Т-супрессоров тимуса и селезенки на аллоантигены, что приводит к продлению жизни (или полному приживлению) трансплантата кожи, почки и сердца, а также к угнетению реакции ГЗТ на аллоантиген. К числу таких агентов относятся антитела к антигену Thy-1 реципиента [649] или продуктам МНС донора [767], большая доза облученных клеток донора [2127], экстракт печени донора в сочетании с гидрохлоридом прокарбозина [259], комбинация ЦФ и аллогенных клеток донора, введенных тимэктомизированному реципиенту [355]. Приживление аллотрансплантата почки под действием Т-супрессоров особенно эффективно,

если после внутривенного введения реципиенту клеток донора ему вводят еще и аллоантисыворотку к тем же клеткам [143].

Обработка клеток гистамином, обильно секретированным в очаге воспаления, избирательно активирует $T_{сз}$, несущие, так же как их предшественники, рецепторы к гистамину типа H_2 , что приводит к локальному торможению клеточного и гуморального иммунитета [1696, 631]. Такая же избирательная активация $T_{сз}$, приводящая к торможению разных видов иммунитета (в том числе противоопухолевого), наблюдается при инфекциях, в особенности микобактериями — туберкулеза (например, при введении БЦЖ) [1668] и лепры [290], *Corynebacterium parvum* [1428], *Leishmania tropica* [880] и даже под действием обычной кишечной флоры [1316]. Возникновение $T_{сз}$ в этих случаях, связанное с выделением фосфолипидов из активированных МФ (гл. IV.2.5.5), наблюдается также при ожогах [1357], травмах [1325] и диабете [1626].

IV.2.2. Биологические функции естественных Т-супрессоров

IV.2.2.1. Индукция иммунологической толерантности

Важная задача иммунорегуляции — обеспечение естественной толерантности к собственным белкам в эмбриональном и перинатальном периоде и блокировка иммунного ответа к аутоантигенам в случае неэффективности такой толерантности. Исследование роли Т-супрессоров в формировании естественной и искусственной толерантности создало представление о неоднозначности этого феномена и разнообразии механизмов его индукции и поддержания. С одной стороны, толерантность к собственным белкам может быть связана с делецией в эмбриогенезе реагирующих на них клонов лимфоидных клеток. На такую возможность косвенно указывает тот факт, что частота клонов пЦТЛ, Т-амплифайеров (продуцентов ИЛ-2) и Т-индукторов (продуцентов МАФ), специфичных к аллоантигенам, введенным мышам сразу после рождения, падает уже на 5-й день жизни в тимусе и позже на 7—10-й день в селезенке [1486, 562, 325]. С другой стороны, Т-клетки толерантных мышей вызывают у сингенных новорожденных мышей подавление дифференцировки пЦТЛ той же специфичности из стволовых клеток реципиента [705], а элиминация Т-супрессоров толерантных мышей с помощью введения им анти-I-J антител [1486] или АТС [2137] отменяет соответственно индукцию и поддержание толерантности к аллоантигену. Длительное и специфическое приживление аллотрансплантата кожи получено также у взрослых мышей [847] и крыс [869] при введении им (после малой дозы облучения) радиочувствительных супрессоров селезенки сингенных животных, неонатально толерированных соответствующим аллоантигеном.

Судя по этим данным, снижение частоты клонов пЦТЛ толерантных мышей может быть обусловлено подавлением их созре-

вания Т-супрессорами. Последние могут реагировать не с аллоантигеном, а с идиотипом рецепторов к определенному аллоантигену: Т-супрессоры неонатально толерированных мышей прикрепляются к монослою как бластов, так и В-гибридом, иммунных к данному толерогену. Процесс сопровождается восстановлением в популяции неприкрепившихся клеток частоты клонов пЦТЛ, определенной методом лимитирующих разведений [1956]. Поскольку, однако, в массовой культуре Т-супрессоры толерантных мышей не влияют на антигензависимую дифференцировку ЦТЛ из их предшественников [2137], предполагается, что объектом действия Т-супрессоров при индукции толерантности у новорожденных являются, во-первых, некомпетентные ПТ костного мозга, а во-вторых, Т-клетки хелперной группы, высокочувствительные к угнетающему эффекту Т-супрессоров (гл. III.4.5). Последний факт прямо установлен с помощью блокировки индукции хелперов Т-В, специфичных к БСА, Т-супрессорами, которые после введения БСА новорожденным возникают на 10-й день в тимусе и на 30-й день в селезенке [282]. Элиминация в онтогенезе подобных естественных Т-супрессоров мыши (I-J⁺) приводит к образованию антител к собственным эритроцитам в результате активации (с помощью Т-хелперов, реагирующих на эритроциты крысы) аутореактивного, т. е. нетолерантного к собственным эритроцитам клона В-клеток [658].

Из этих данных следует, что контакт антигена с Т-клетками в эмбриогенезе или сразу после рождения должен индуцировать только СТС, которые различаются по механизмам вызываемой ими супрессии. Одни из них угнетают созревание предшественников другого Т-субкласса, специфичного к тому же антигену, что сопровождается делецией соответствующего клона; другие тормозят функцию зрелых Т-хелперов, высокочувствительных к действию СТС, что ингибирует антителообразование аутореактивными В-клетками.

Таким образом, под внешним феноменом иммунологической толерантности «скрыты» совершенно различные механизмы. В любом случае избирательная активация СТС в эмбриогенезе может быть обусловлена угнетением эмбриональным α -фетопротеином (АФП) функции А-клеток [1566] за счет подавления экспрессии их Ia-белков, хотя АФП при этом не активирует секрецию PGE₂ [1231], который ингибирует Ia-экспрессию (гл. III.4.5). Указанный эффект АФП может приводить к активации антигеном только тех клеток, которые распознают его без ассоциации с продуктами МНС. Следствием этого процесса является угнетение клеточного и гуморального иммунного ответа естественными «универсальными» супрессорами эмбриональной печени, относящимися к категории незрелых (PNA⁺) ПТ [1639, 446]. Такие супрессоры исчезают из эмбриональной печени и нарастают в тимусе и селезенке плода перед рождением. Их активность, сильно выраженная у новорожденных, исчезает из тимуса

в течение первой недели жизни, а в селезенке постепенно снижается в течение двух-трех недель [1418, 1502].

Столь же обильны естественные Т-супрессоры новорожденных человека, что сочетается, так же как у мыши, с низкой экспрессией Ia-молекулы не только на А-, но и на Т-клетках, активированных митогеном [1387]. Эти супрессоры исчезают к двух-летнему возрасту и характеризуются разнообразием супрессорных функций и мембранных маркеров, неидентичных маркерам Т-супрессоров взрослых [2263].

Супрессоры новорожденных не являются однородной популяцией клеток. По-видимому, наиболее универсальны «нулевые» супрессоры, которые не несут маркеры Т-, В-, НК-клеток и МФ, угнетают все виды иммунного ответа, обнаруживаются только в селезенке и исчезают в течение первых 6 дней жизни [1707] (такие же «нулевые» супрессоры появляются в селезенке взрослой мыши после многократного γ -облучения в общей дозе 3400 рад) [1525]. Естественные Т-супрессоры новорожденных можно разделить по крайней мере на три категории: а) подавляющие пролиферацию Т-клеток *in vitro* (в МЛС) и *in vivo* (в РТПХ), но не влияющие на генерацию ЦТЛ; их активность быстро снижается с возрастом, они радиорезистентны и имеют фенотип зрелых Т-клеток — Thy-1⁺, Lyt-1⁺2⁻, PNA⁻, I-J⁺ [89, 2124] (клонированный вариант подобных естественных Т-супрессоров отличается от указанных отсутствием Lyt-маркеров [1805]); б) подавляющие генерацию ЦТЛ; они появляются в селезенке лишь после 5-го дня жизни и высокочувствительны к облучению [1717]; в) подавляющие образование антител в результате угнетения дифференцировки В-клеток — незрелые кортикальные тимоциты Ly 123, имеющие низкую плотность в градиенте БСА [1419].

Несмотря на обилие и разнообразие супрессоров у эмбрионов и новорожденных, их роль в делеции клонов при развитии толерантности выявляется не всегда. В частности, толерантность новорожденных мышей к аллогенной молекуле МНС класса II, индуцируемая значительно легче, чем к молекуле МНС класса I [2250], может быть не связана с функцией СТС [1967], так же как индукция толерантности у новорожденных к лизоциму [1503] или к иммуногенным пептидам (11 АК) цитохрома с [628a]. СТС не имеют отношения к индукции толерантности у плодов к дезагрегированному белку, введенному беременной матери [170, 2188]. Тем не менее СТС могут обеспечивать поддержание толерантности в случае их повторной активации при многократном введении дезагрегированного антигена после рождения [558]. Напротив, у взрослых мышей индукция, и поддержание толерантности, как правило, обусловлены именно СТС [2188, 1503].

Особенно важно, что СТС ответственны за стойкую толерантность, возникшую в клетках донора к аллоантигенам реципиента после трансплантации костного мозга летально облученным аллогенным химерам крысы. СТС созревают в этом случае из ПТ донорского костного мозга (после преодоления острой фазы РТПХ) и пассивно (и специфично) переносят угнетение развития РТПХ на сингенных облученных реципиентов [2114]. Таким образом, именно СТС, направленные к аллоантигенам реципиента, обеспечивают выживание радиационных химер и, по-видимому, существенны для сохранения жизни облученных больных, получивших аллогенный костный мозг.

Зрелые Т-супрессоры того же донорского костного мозга, реагируя на аллоантигены реципиента, играют решающую роль в угнетении пролиферации клеток реципиента, что сопровождается развитием острой РТПХ и гибелью реципиента [1714]. Фенотипические и биологические особенности этих двух типов Т-супрессоров, идентичных по аллоспецифичности, но противоположных по биологическому эффекту, не изучены.

СТС, ответственные за индукцию и поддержание толерантности, могут быть обнаружены в тимусе уже через 1—2 дня после введения антигена, спустя несколько дней в селезенке и лишь еще через несколько дней — в лимфоузлах [1668, 2012, 1252]. Тимэктомия или спленэктомия взрослых животных не только до, но даже вскоре после введения антигена может в таких случаях полностью предотвратить образование СТС и отменить индукцию толерантности, что приводит к серьезным последствиям, например, к резкому усилению противоопухолевого иммунитета [672, 1669]. Поскольку ни тимэктомия, ни спленэктомия взрослых животных не оказывают, как известно, существенного влияния на иммунологические функции других категорий Т-клеток, одна из функций тимуса и селезенки — обеспечение толерантности, что может проявиться в генетической нереактивности к антигену у взрослого животного. В частности, нереактивность мыши к лизоциму курицы контролируется Т-супрессорами селезенки при сохранении реактивности в лимфоузлах [82]; естественные СТС селезенки мыши, толерантной к собственному инсулину, ответственны за нереактивность к инсулину свиньи, сходному по первичной структуре А-петли с инсулином мыши [946].

Роль тимуса и селезенки в индукции и поддержании толерантности у взрослого животного зависит не только от варианта антигена, его формы и пути введения, но даже его дозы, а также метода тестирования толерантности. В частности, толерантность мыши к внутривенно введенному мономерному ГГЧ или его F(ab')₂-фрагменту, возникающая за счет СТС селезенки, не требует присутствия тимуса [142]. Сплэнэктомия предотвращает возникновение СТС и толерантности через 5—24 ч после инъекции пневмококкового полисахарида в оптимальной иммуногенной дозе (0,5 мкг), но не оказывает влияния на низкозонную толерантность (доза антигена 0,005 мкг), хотя за нее ответственны СТС той же специфичности [69].

Такое разнообразие условий толерантности связано прежде всего с неоднородностью ответственных за нее СТС, зрелость и фенотип которых варьируют (гл. IV.2.3), и даже механизмы возникновения толерантности пЦТЛ могут оказаться неидентичными при разных условиях индукции СТС [2020, 696, 642].

IV.2.2.2. Роль Т-супрессоров в предотвращении патологических процессов

Поскольку чужеродные антигены распознаются большинством Т-субклассов только в комплексе с аутологичным продуктом МНС, особое значение для регуляции иммунного ответа к аутоантигенам имеют те естественные супрессоры, которые блокируют реакции на продукты МНС. Для этого в костном мозге обычных мышей [1429] и в селезенке мышей nude [1360] содержатся

клетки большого диаметра, по-видимому, ПТ. Их контакт с пЦТЛ подавляет дифференцировку последних в ЦТЛ, специфичные только к тем продуктам МНС, которые экспрессированы на самих подавляющих клетках, обозначенных «veto». Такие же «аутоспецифичные» супрессоры с фенотипом Thy-1⁺, Lyt-1⁺2⁺, подавляющие генерацию ЦТЛ только к собственным минорным Н-антигенам [1644] или к антигенам сингенных фибробластов [1523], выявляются в селезенке нормальных мышей, в особенности после их культивирования в течение 2—3 дней.

Естественные радиочувствительные Т-супрессоры того же фенотипа, подавляющие реакцию ГЗТ *in vivo* на аутобласты, также найдены в тимусе и селезенке мыши [2053]. Особенно эффективны «veto»-супрессоры, выращенные в виде клонированных ЦТЛ: независимо от их собственной цитотоксической активности, они блокируют дифференцировку пЦТЛ, реагирующих на антигены МНС этих «veto»-клеток. Для возникновения сильной супрессии в этом случае достаточно добавления «veto»-клеток в очень малой дозе в МЛС [370, 575] или внутривенного их введения мышам [1645]. Это означает, что возникновение эффекторных ЦТЛ может привести не только к специфическому лизису КМ, но и к торможению аутоиммунного процесса.

Аутоспецифичные Т-супрессоры (так же как экстрагированный из них фактор) действительно предотвращают развитие ЭАЭ у мышей *in vivo* [177] и подавляют как пролиферативную реакцию аутоиммунных лимфоцитов, так и образование аутоантител к рецептору, специфичному к ацетилхолину [1893]. В последнем случае узкоспецифичные клоны СТС, трансформированных ретровирусом, могут сыграть решающую роль в терапии миастении. Элиминация естественных Т-супрессоров, несущих фенотип незрелых тимоцитов и их предшественников [913], аутоантителами, возникающими спонтанно у мышей NZB в возрасте 2 недель, приводит к системным аутоиммунным поражениям типа красной волчанки [1856], причем перенос этих аутоантител здоровым мышам DBA/2 индуцирует у них развитие аутоиммунных процессов [1452]. Совокупность этих, так же как приведенных выше (гл. IV.1) данных об определяющей роли аутоантител к Т-супрессорам или их индукторам в патогенезе аутоиммунных заболеваний человека указывает на естественную функцию как неспецифических Т-супрессоров (с фенотипом незрелых тимоцитов), так и узкоспецифичных СТС в предотвращении развития аутоиммунных поражений (см. обзор [1901]).

Обеспечение толерантности к аутоантигенам не является единственной функцией естественных Т-супрессоров. Определенная их категория, экспрессирующая FcR на клеточной мембране, содержит его и в продуцируемом факторе (IBF)⁷, контакт которого с Ig В-клеток тормозит дифференцировку последних, что обеспечивает регуляцию антителообразования [668]. Инактив-

⁷ Immunoglobulin binding factor — фактор, связывающий иммуноглобулин.

ция таких FcR^+ Т-супрессоров физиологической концентрацией эстрадиола [1536] приводит к значительно более интенсивному образованию антител у самок по сравнению с самцами. Исследование тонких механизмов супрессорного эффекта IBF становится возможным в связи с выращиванием продуцирующих его клонов [616].

Помимо «суммарного» ограничения иммунного ответа данного типа, очень важна осуществляемая естественными СТС более тонкая регуляция, ведущая к уменьшению разнообразия клонов В-клеток, реагирующих на данную детерминанту [1032], или к снижению доли высокоаффинных В-клеток, находящихся в терминальной стадии дифференцировки [2033, 2186]. Избирательное угнетение Т-супрессорами продукции антител IgE весьма существенно для подавления аллергических реакций. Особая чувствительность продукции антител IgE к действию СТС следует из ее подавления даже на поздних стадиях антителообразования — не только СТС, индуцированными денатурированным аллергеном [2027], но и натуральными Т-супрессорами селезенки [2187]. Супрессоры, специфически блокирующие образование антител IgE, были найдены в пейеровых бляшках мышей после кормления их антигеном, т. е. в условиях образования только антител IgA [1475, 1687].

Поскольку образование антител IgE особенно сильно возрастает после избирательной элиминации натуральных Т-супрессоров (малыми дозами ЦФ, АЛС или облучения), предполагается, что ограничение аллергического воспаления — одна из физиологических функций Т-супрессоров [364]. Такое представление подтверждается обнаружением клонов супрессорных Т-гибридом, функция которых состоит в избирательном угнетении секреции антител IgE с помощью двух факторов. Один из них связывает эти антитела на поверхности секретирующих В-лимфоцитов [1985], другой ингибирует гликозилирование [937].

Особое значение для эффективности некоторых видов иммунитета имеет неоднородность чувствительности разных Т-субклассов к факторам регуляции. Наиболее чувствительны к эффекту Т-супрессоров хелперы Т-В: они подавляются Т-супрессорами значительно быстрее и эффективнее, чем $эT_{гзт}$ [1873] и ЦТЛ [1817]. В свою очередь, $эT_{гзт}$ более чувствительны к эффекту Т-супрессоров, чем ЦТЛ [623], и подавляются ими на более поздних стадиях антигензависимой дифференцировки. В частности, эффекторная стадия ГЗТ может быть подавлена *in vivo* $T_{св}$ введенными иммунным животным перед тест-инъекцией антигена [1195, 2037] или даже в смеси с $эT_{гзт}$ [2014], тогда как функция готовых ЦТЛ обычно не подавляется $T_{св}$. Более того, для торможения антигензависимой дифференцировки пЦТЛ необходимо присутствие готовых $T_{св}$ на самых ранних этапах этой дифференцировки [851, 564, 1008], причем даже в этом случае объектом действия $T_{св}$, как правило, являются не сами пЦТЛ, а Т-апплифайеры, необходимые для возникновения ЦТЛ (гл. III.4.5).

Чувствительной к прямому эффекту T_{cs} может оказаться лишь малая доля пЦТЛ, которая отсутствует при вторичной реакции на антиген [769]. Такая избирательная стойкость ЦТЛ, связанная с резистентностью их предшественников к действию T_{cs} в условиях угнетения антителообразования, по-видимому, весьма существенна для возможности стабильного иммунного ответа при отторжении трансплантатов и опухолей и имеет определенные перспективы в плане иммунотерапии (гл. III.5.1 и IV.3.5).

Естественные Т-супрессоры подавляют также иммунный конфликт между матерью и плодом в эмбриональном и постнатальном периодах (см. обзор [158]), возможно, в связи с указанным выше эффектом АФП. Уже в первые дни после оплодотворения (до имплантации эмбриона) в регионарных к матке лимфоузлах мыши обнаруживаются T_{cs} , блокирующие пролиферативную реакцию и генерацию ЦТЛ против аллоантигенов самца [372, 2076a]. В середине беременности эти Т-супрессоры обнаруживаются в селезенке матери [348].

Важность функции Т-супрессоров в подавлении иммунного ответа на аллоантигены отца следует из того, что супрессия генерации ЦТЛ *in vitro* после 1-й беременности коррелирует у самки со сроком пролонгации роста пересаженной в ее матку аллогенной опухоли, несущей аллоантигены самца [1440]. Т-супрессоры обнаружены также у многорожавшей женщины, все 10 детей которой имели HLA-антигены мужа: Т-клетки этой женщины не только сами не реагировали в МЛС на стимулирующие клетки мужа, но и подавляли реакцию третьих лиц специфически, т. е. только на те же стимуляторы. Поскольку это подавление выявлялось при условии совпадения по аллелям HLA-D МНС жены и реагирующих Т-клеток третьих лиц, специфические Т-супрессоры многорожавшей женщины могут действительно функционировать в ее лимфоидной системе, т. е. подавляют реакцию других ее клеток на антигены мужа, представленные на клетках плода [526].

Наконец, супрессорам приписывают еще одну важнейшую функцию — участие в развитии старения [18]. У старых мышей (в возрасте более 20 месяцев) нарушение разнообразных форм иммунного ответа сочетается со снижением доли рециркулирующих долгоживущих Т-клеток и возрастанием активности СТС селезенки при иммунизации различными антигенами [442, 312]. Это приводит к угнетению секреции ИЛ-2, что в первую очередь сопровождается падением генерации ЦТЛ (гл. III.2.3), т. е. отменой противоопухолевого (гл. III.5.1) и противовирусного иммунитета (гл. IV.3.4).

Следующий дефект регуляции иммунитета у старых животных связан с тем, что другие их Т-клетки резистентны к эффекту легко индуцибельных собственных СТС за счет по меньшей мере двух механизмов: слабого формирования антиидиотипических реакций, необходимых для реализации функции СТС (гл. IV.2.5.3), и активации T_{ks} , блокирующих эту функцию (гл.

IV.2.5.6). Напротив, Т- и В-лимфоциты молодых мышей высокочувствительны к эффекту «старых» СТС [479]. Кроме того, у старых крыс [593], мышей [1980] и людей [1542] отсутствуют неспецифические Т-супрессоры, созревающие у молодых животных из ПТП (гл. II.5) под действием тимусных гормонов, которые исчезают при инволюции тимуса с возрастом. Именно эти незрелые PNA⁺ Т-супрессоры, тестированные по способности формировать ауторозетки с сингенными эритроцитами, ответственны за подавление иммунных реакций к аутоантигенам. Предполагается, что сочетание неспособности собственных СТС реализовать свою функцию с нарастанием дефицита неспецифических Т-супрессоров с возрастом лежит в основе аутоиммунных поражений в старости [2174, 479].

Совокупность изложенных данных, хотя и не полностью однозначных, указывает на определяющую роль Т-супрессоров не только в тонкой и разнообразной регуляции иммунного ответа, но и в жизненно важных событиях, связанных с возникновением и поддержанием естественной аутоотолерантности, угнетением аутоиммунных процессов, аллергических реакций, иммунного ответа матери на антигены плода, иммунного ответа при нарушении физиологических условий взаимодействия лимфоидной системы с антигеном и с особенностями таких взаимодействий у новорожденных и старых животных. Кроме того, регуляция Т-супрессорами соотношения между клеточным и гуморальным иммунитетом, а также между функциональными активностями разных Т-субклассов определяет интенсивность иммунитета к трансплантатам, опухолям, вирусам, химическим агентам, ассоциированным с собственными продуктами МНС.

IV.2.3. Разнообразие Т-супрессоров и общие свойства, отличающие их от Т-хелперов

Т-супрессоры и Т-хелперы не только возникают в различных условиях, но противоположны по своим свойствам, что позволяет либо избирательно активировать или инактивировать один из этих Т-субклассов, либо их физически разделить.

Наиболее существенное различие между ними — неидентичные принципы распознавания антигена. Это различие касается по меньшей мере двух параметров: «презентационной рестрикции» по МНС и распознаваемых антигенных детерминант. Способность СТС прямо реагировать, подобно В-клеткам, на детерминанту нативной молекулы антигена независимо от «контекста» МНС и даже от присутствия А-клеток приводит, как указано выше, к их избирательной активации *in vivo*, если А-клетки инактивированы или если антиген, введенный в мономерной (дезагрегированной) форме, активирует лимфоциты «в обход» МФ [2301].

Подобный феномен четко воспроизведен в культуре: только СТС генерируются при инкубации с антигеном в отсутствие

А-клеток, тогда как ни хелперы Т-В [560, 1866], ни Т-амплифайеры, легко активируемые при наличии А-клеток, не выявляются в их отсутствие [744]. В связи с этим СТС могут быть адсорбированы на чистом антигене, фиксированном на пластике, и тем самым отделены от Т-хелперов, а затем сконцентрированы с помощью элюции (гл. V.2.2). Однако ввиду исключительного разнообразия СТС некоторые их варианты реагируют на антиген в комплексе с продуктами I-района МНС, т. е. их супрессорный эффект рестриктирован по одному из I-субрайонов. Тем не менее и в этом случае СТС четко отличаются (и отделяются) от Т-хелперов и пролиферирующих Т-лимфоцитов. Если реакция СТС на антиген рестриктирована по МНС, то, как правило, по I-J субрайону, тогда как Т-клетки хелперной группы — по I-A или I-E [2026, 79, 1228]; если СТС данной категории рестриктированы по субрайону I-E, то пролиферирующие Т-клетки той же специфичности — по I-A [149]. Более того, если все-таки СТС рестриктированы, так же как Т-хелперы, по одному и тому же субрайону I-A [94, 909], то эта рестрикция фундаментально различается по своей природе (гл. IV.2.4.4).

Помимо различий по генетической рестрикции между СТС и Т-хелперами, их рецепторы распознают неидентичные детерминанты полипептида (гл. V.3.4). Впервые это было установлено, когда в молекулу полипептида, состоящего из остатков аланина и глутаминовой кислоты, добавили лишь четыре остатка тирозина: молекула превратилась из хелперной в супрессорную, т. е. приобрела способность индуцировать супрессоры, подавляющие образование антител к исходной молекуле [1808].

Но даже если СТС и Т-хелперы индуцированы одной и той же антигенной детерминантой, эти два процесса обычно происходят неодновременно, с разной кинетикой, в разных органах, при разных условиях и находятся под разным генетическим контролем. СТС, блокирующие образования антител, выявляются в течение 2—3 дней [497, 359], 1 дня [2199] или даже нескольких часов [2056] после иммунизации соответственно белковыми антигенами, низкими дозами бактериофага или полисахарида, т. е. в условиях, когда активность Т-хелперов еще не обнаруживается. Такое же различие в сроках наблюдается при индукции митогеном *in vitro* Т-супрессоров и Т-хелперов [1680, 1827]. Индукции СТС способствует увеличение дозы антигена в 10^3 — 10^4 раз по сравнению с оптимальной дозой для индукции Т-хелперов.

Если для индукции Т-хелперов мыши оптимальная концентрация белка 100 [1060] или 1 нг/мл [95], то для индукции СТС мыши — 100 мкг/мл или даже 3 мг/мл [1866]. Подобные соотношения концентраций белкового антигена наблюдаются при индукции Т-хелперов и Т-супрессоров человека — 10 нг/мл и 100 мкг/мл соответственно [1166], а также при иммунизации в культуре лимфоцитов мыши ксеногенными эритроцитами: их оптимальная концентрация для индукции Т-хелперов и СТС — соответственно 0,01—0,1 и 10% [1646].

В связи с тем, что во многих случаях Т-супрессоры либо дифференцируются из незрелых (кортикальных) тимоцитов, либо для

их дифференцировки под действием антигена (или митогена) необходима помощь тимических гормонов, они, как правило, отличаются от Т-хелперов (и иных Т-субклассов) коротким сроком жизни, а их активность исчезает через несколько недель после тимэктомии взрослых мышей. Эта особенность свойственна Т-супрессорам, которые подавляют образование антител *in vivo* [1031] или *in vitro* [1252], ограничивают их гетерогенность [1032], угнетают реакцию ГЗТ [1382, 1570], генерацию ЦТЛ и противоопухолевый иммунитет [1668, 1669], пролиферативную реакцию Т-клеток на аллоантигены в МЛС [23].

Подобная зависимость от тимуса обнаружена у Т-супрессоров, активированных Кон А в культуре [1680, 1774], при полной резистентности к тимэктомии Т-хелперов, индуцированных в тех же условиях. Активность СТС восстанавливается и дополнительно стимулируется при введении соответственно бестимусным и нормальным мышам фракции V тимозина [1570, 1285] или синтетического FTS [743]. Поскольку СТС значительно более чувствительны по сравнению с другими Т-субклассами к стимулирующему эффекту гормонов тимуса и быстрее на них реагируют, введение этих гормонов *in vivo* может угнетать иммунный ответ — ГЗТ [529, 1570], отторжение аллотрансплантата и генерацию ЦТЛ [121, 971]⁸.

В связи с происхождением Т-супрессоров из сравнительно менее зрелых Т-клеток следующая серия их отличий от Т-хелперов и иных Т-субклассов связана: а) с высокой ранимостью и чувствительностью предшественников Т-супрессоров ко многим воздействиям и агентам; б) с особенностями их мембран и ферментов; в) с высокой изменчивостью в ходе антигензависимой дифференцировки и разнообразием вариантов. Обычно предшественники Т-супрессоров (а иногда и сами Т-супрессоры) чувствительны к облучению как мышей [869, 661], так и выделенных из них клеток независимо от способа индукции супрессоров — антигеном *in vivo* [340, 498, 915, 2223], в том числе при его введении *per os* [1875], антигеном *in vitro* [496], Кон А в культуре [1774] или спонтанно — при инкубации в течение 5 дней [341]. Напротив, большая часть Т-хелперов, так же как и их предшественников, активированных в тех же условиях, оказались радиорезистентными. В связи с этим Т-супрессоры мыши, специфичные к собственному инсулину, избирательно удаляются из селезенки облучением 750 рад, что приводит к образованию аутоантител к инсулину мыши, если она предварительно иммунизирована инсулином свиньи [946а].

В отличие от Т-хелперов, Т-супрессоры, блокирующие образование антител, инактивируются при инкубации *in vitro* в течение 1—2 дней в отсутствие соответствующего индуктора — анти-

⁸ В отличие от СТС неспецифические супрессоры мышей-опухоленосителей, тормозящие рост опухоли, инактивируются синтетическим пентапептидом TP5 [1148].

гена [498, 359] или митогена [1680, 2105], хотя более длительная инкубация нормальных лимфоцитов может привести к обратному результату — спонтанной активации обоих Т-субклассов [296, 341].

Большая чувствительность Т-супрессоров по сравнению с клетками иных Т-субклассов к γ -облучению и условиям культивирования, так же как их предшественников — к ЦФ и ГК, позволяет избирательно инактивировать Т-супрессоры *in vivo*, что приводит к усилению различных видов иммунного ответа. Инактивация Т-супрессоров ЦФ и ГК воспроизводится независимо от того, какие реакции блокируются Т-супрессорами: образование антител [2223, 1032], ГЗТ к эритроцитам [660], гаптену [2012], белку [1382] или антигену опухоли [807], генерация ЦТЛ, специфичных к аллогенному [1715, 564] или опухолево-ассоциированному антигену [673], пролиферация Т-клеток в МЛС [274], отторжение аллотрансплантата кожи [2248]. Во всех этих случаях предшественники остальных эффекторных Т-клеток, в том числе $\text{ЭТ}_{\text{ГЗТ}}$ и ЦТЛ, либо резистентны к ЦФ и ГК в использованных дозах, либо очень быстро регенерируют после введения этих препаратов *in vivo*. Более того, специальный вариант ЦФ, активный в культуре, также избирательно отменяет образование Т-супрессоров *in vitro*, не действуя на генерацию ЦТЛ [405].

С низкой зрелостью Т-супрессоров связаны особенности их мембранных маркеров. Т-супрессоры отличаются от Т-хелперов более высоким содержанием антигена Thy-1 [1774], наличием TL-маркера кортикальных тимоцитов [1031], рецептора к РНА и сналированного ганглиозида GM_1 [1457], рецептора к α -маннопиранозиду [1065] и к Fc-фрагменту Ig [615, 2288]. Последние два маркера, по-видимому, существенны для реализации супрессорной функции. Если, например, FcR слущивается с поверхности клеток, инкубированных в течение 3 ч при 37° С, или супрессоры предварительно обработаны α -маннопиранозидом, их активность исчезает, хотя такие же обработки не влияют на функцию других Т-субклассов. Во всех этих случаях Т-супрессоры неспецифичны, независимо от метода их активации. Косвенные данные указывают на наличие в неспецифических Т-супрессорах, содержащихся в селезенке мышей-опухоленосителей, фермента TdT — маркера незрелых кортикальных тимоцитов, отсутствующего в периферических Т-клетках здоровых животных [1898].

Наконец, Т-супрессоры, как правило, отличаются от Т-хелперов фенотипом Lyt-1^{-2+} , I-J^{+} (большая часть Т-хелперов несет фенотип Lyt-1^{+2-} , I-J^{-}). Указанные фенотипические различия установлены при изучении СТС, индуцированных антигеном *in vivo* [142, 2301, 1687, 2056], неспецифических Т-клеток, активированных Кон А в культуре [2102, 1457], а также естественных Т-супрессоров, имеющих, так же как Т-хелперы, низкую плотность в градиенте перколла [1569b]. Тем не менее разнообразие Т-супрессоров сочетается с вариабельностью их фенотипа. В частности, фенотип СТС, индуцированных кормлением мышей бел-

ком или эритроцитами, варьирует в зависимости от того, подавляют ли СТС ранние этапы активации нормальных пролиферирующих Т-лимфоцитов [339], эффекторов ГЗТ [969], хелперов Т-В [1687] или, напротив, пролиферацию иммунных Т-лимфоцитов [1875], а также конечного этапа дифференцировки В-клеток [1251]. Обычный фенотип СТС (Lyt-1^{-2+}) в первом случае меняется на противоположный фенотип — (Lyt-1^{+2-}) — во втором. Особенно поразительно, что клонированные СТС, ответственные за низкочонную толерантность и элиминирующие клсы иных Т-субклассов, имеют фундаментальные отличия от остальных Т-супрессоров: вместо антигена I-J они экспрессируют на своей поверхности антиген I-A в столь же большом количестве, как и на В-клетках [844, 1055].

Экспрессия одной из детерминант продукта субрайона I-J на многих вариантах СТС оказалась весьма существенной для направленного изменения иммунного ответа и даже иммунотерапии при некоторых заболеваниях. Поскольку эта детерминанта отсутствует не только на Т-хелперах, но и на В-клетках, избирательная элиминация СТС при введении мышам в малой дозе анти-I-J антител стимулирует образование антител к эритроцитам барана [1591], отменяет генетическую нереактивность к полипептидам [1592], усиливает противоопухолевый иммунитет [727], отменяет патологию, связанную с шистозомиазом [722] и туберкулезной инфекцией [4].

Избирательная экспрессия определенного продукта I-J на Т-супрессорах позволила использовать анти-I-J антитела для скрининга и отбора клонов супрессорных Т-гибридом [1062], причем выявлению реакции этих антител с клонами СТС способствовала предварительная обработка клеток нейраминидазой, РМА или диметилсульфоксидом. Полученные в результате таких подходов МкАТ к I-J продукту МНС разных аллелей [980, 2180] позволили установить неидентичность I-J-детерминант на T_c и T_{cs} (гл. IV.1), выяснить структуру вариантов TsF (гл. IV.2.5.4) и подтвердить возможность усиления иммунного ответа анти-I-J антителами при росте опухоли [485].

Низкая степень зрелости Т-супрессоров коррелирует с изменчивостью их свойств и фенотипа в ходе антигензависимой дифференцировки, что также отличает их от более стабильных Т-хелперов. Эта изменчивость касается, в частности, диаметра и плотности клеток в градиенте: если естественные супрессоры (в грудном лимфатическом протоке крысы) имеют высокую плотность [2054], то в ранние сроки после активации антигеном *in vivo* [752, 2301] или митогеном *in vitro* [2102] Т-супрессоры, блокирующие образование антител, отличаются от Т-хелперов большим диаметром и низкой плотностью, а в более поздние сроки вновь приобретают высокую плотность [2223]. Радиочувствительные предшественники Т-супрессоров становятся резистентными к γ -облучению после активации их *in vitro* — Кон А [1680, 1774, 2102] или антигеном [1866, 1646], хотя активация антиге-

Таблица 33

Сопоставление общих свойств трех эффекторных Т-субклассов

Характеристика	Т-Субклассы		
	Супрессоры *	Хелперы Т-В *2	ЦТЛ *2
Условия индукции	Ранние (часы—2 дня)	Поздние	Поздние
Сроки индукции	Низкие и высокие	Средние (оптимальные)	Средние (оптимальные)
Дозы антигена			
Особенности антигена			
необходимость живых клеток при индукции	—	—	+
МНС-рестрикция	— или +	+	+
эпитопы	а	б	с
пути введения	в/в, в тимус, камера глаза	п/к и в/бр	п/к и в/бр
реакция на ТНА *3	+	—	—
В культуре			
Кон А *4	+	+	+
спонтанно *4	+	—	—
У эмбрионов и новорожденных	+	—	—
Зависимость индукции от тимуса (и его гормонов)	+	—	—
Ig-генов	—	+	+
А-клеток in vivo	— или +	+	+
in vitro	—	+	+
Локализация в тимусе	+	—	—
Чувствительность к γ-облучению in vitro	+	—	—
культивированию	+	—	—
МС *5	—	—	—
предшественников к ЦФ и ГК *5	+	—	—
Маркеры			
Thy-1	+	+	+
Lyt *5	1-2+ (1+2+)	1+2-	1+2+ (1-2+)
TL *4	+	—	—
I-J *5	+	—	—
PNA *4	+	—	—
FcR *4	+	—	—
Время жизни	Короткоживущие	Долгоживущие	Долгоживущие
Свойства			
диаметр (плотность) *6	Большой (низкая)	Малый (высокая)	Малый in vivo большой in vitro
прилипание к вате *4	+	—	—
изменчивость при дифференцировке	+	—	—

* Основной тест—блокировка образования антител.

** Основная популяция.

*** Т-независимые антигены.

**** Свойство только неспецифических к антигену Т-супрессоров.

***** У Т-супрессоров имеются обратные (минорные) варианты.

***** На пике иммунного ответа.

Сокращения: в/в—внутривенно, п/к — подкожно, в/бр — внутрибрюшинно.

ном *in vivo* (даже повторная) обычно не снижает радиочувствительность СТС, что позволяет отделять их от радиорезистентных Т-хелперов (и их предшественников).

Радиочувствительность предшественников Т-супрессоров, блокирующих образование антител, отнюдь не связана с необходимостью их пролиферации для превращения в эффекторные клетки, поскольку этот процесс обычно не нуждается в синтезе ДНК: он не ингибируется МС, винбластином или облучением мыши непосредственно перед забоем [2102, 1827]. Блокировка колхицином и цитохалазином Б генерации как неспецифических Т-супрессоров Кон А в культуре [1827], так и СТС антигеном у генетически неактивных мышей [1839] связана, по-видимому, не с подавлением пролиферации предшественников, а с нарушением структуры их мембраны, что отменяет ее чувствительность к факторам, активирующим супрессорную функцию. Напротив, Т-супрессоры, блокирующие не образование антител, а генерацию ЦТЛ [851] или пролиферацию Т-клеток в аллогенной МЛС [510], требуют синтеза ДНК для их дифференцировки в культуре.

В такой же степени меняется экспрессия маркеров Т-супрессоров в ходе их дифференцировки: высокая чувствительность их предшественников к анти-Thy-1 антителам снижается после их культивирования [496]; фенотип СТС тимуса Lyt-1^+2^+ , I-J^- меняется в селезенке на Lyt-1^-2^+ , I-J^+ [282], т. е. экспрессия Lyt-1 падает, а I-J возрастает в ходе дифференцировки СТС. Изменение Lyt -фенотипа выявляется даже на части клеток данного кло-на СТС [613].

Совокупность данных, суммированных в табл. 33, означает, что, несмотря на разнообразие и изменчивость Т-супрессоров, уникальные биологические свойства и мембранные маркеры объединяют их разновидности и позволяют отличать и отделять их от Т-хелперов. Они указывают также на возникновение этих двух типов клеток из собственных предшественников в результате соответствующих линий антигензависимой дифференцировки, развивающихся у Т-супрессоров и Т-хелперов по собственным законам.

IV.2.4. Т-супрессоры, блокирующие первичное распознавание аллоантигенов МНС в культуре

IV.2.4.1. Функциональное значение Т-супрессоров, блокирующих реакции Т-клеток на аллоантигены

Изложенные результаты касаются преимущественно Т-супрессоров, блокирующих образование антител либо за счет прямого действия на В-клетки, либо опосредованно через инактивацию Т-хелперов. Однако наибольший интерес представляет регуляция самых ранних этапов иммунного ответа, связанных с распознаванием антигена иными популяциями Т-лимфоцитов, что выражается *in vivo* в пролиферации клеток регионарных лимфоузлов, возникновении РТПХ и развитии реакций ГЗТ, генерации ЦТЛ, отторжении аллотрансплантата и гибели инфицированных вирусом клеток. И действительно, в соответствии с моделью пер-

вичного иммунологического распознавания в MLC (см. гл. III) детерминанты молекул MHC класса I и II, распознаваемые данным Т-субклассом при иммунизации аллоантигенами, идентичны по своей тонкой структуре тем рестриктирующим элементам молекул MHC, от которых зависит распознавание иных (не MHC) чужеродных антигенов в ходе естественного иммунного ответа. Этот факт установлен в отношении как клонированных линий пролиферирующих Т-лимфоцитов, специфичных к белковому антигену [153], так и ЦТЛ (и их клонов), иммунных к минорным H-антигенам [579, 2218], гаптенам [2221, 1191, 434] или вирусам [1552, 459]. Для его выявления использованы три подхода: получение узкоспецифичных клонов данного Т-субкласса, ингибирование их активности МкАТ к отдельным детерминантам молекулы MHC клеток-мишеней и сопоставление мутантных вариантов этой молекулы, экспрессированной на КМ. В связи с совпадением во всех этих случаях аллогенных детерминант с рестриктирующими элементами молекулы MHC последнюю следует рассматривать как универсальный объект иммунологического распознавания, а клетки-супрессоры, блокирующие распознавание аллоантигенов MHC, как универсальные регуляторы этого процесса.

Наличие подобных мажорных (универсальных) детерминант в молекуле MHC отнюдь не исключает существования в той же молекуле минорных детерминант, которые могут быть распознаны Т-лимфоцитами лишь определенного гаплотипа MHC и имеют, по-видимому, ограниченное значение для «презентации» чужеродного антигена Т-лимфоцитам. Одна из таких детерминант выявлена в молекуле H-2D с помощью мутанта D^{bm13} [1450].

IV.2.4.2. Сопоставление свойств и разделение неспецифических и специфических Т-супрессоров, блокирующих реакции Т-клеток в MLC

Особенно чувствительной к эффекту СТС, индуцированных *in vivo* или в культуре, оказалась пролиферативная реакция нормальных Т-лимфоцитов на аллоантигены в MLC. Однако изучение СТС осложнено тем, что Т-супрессоры, специфичные к антигенам H-2, обычно составляют лишь малую долю неспецифических супрессоров, блокирующих ту же реакцию. У взрослых животных такую функцию выполняют естественные Т-супрессоры, которые также составляют малую долю зрелых тимоцитов [221] или пролиферирующих Т-клеток селезенки [1400]; их число значительно возрастает после многократного тотального облучения мышей [1031].

Такие же естественные супрессоры человека относятся к категории клеток T_H , т. е. несут FcR к IgG (Fc_HR) [2245]. Активность неспецифических супрессоров двух типов (МФ и Т-лимфоцитов), блокирующих не только пролиферативную реакцию на аллоантигены и митогены, но и генерацию ЦТЛ в MLC, быстро возрастает в селезенке и даже в лимфоузлах после введения животным антигенов в большой дозе — сывороточных белков [140]

или живых клеток аллогенной опухоли [88, 9], а также в ходе роста сингенной опухоли [566, 512, 1605]. Возрастание активности супрессоров особенно выражено после внутривенной инъекции мышам живых аллогенных лимфоидных клеток [1747, 348, 11] и, по-видимому, связано с развитием РТПХ, которая обычно сопровождается массовым угнетением иммунного ответа в результате активации супрессорных МФ [513] или Т-клеток с фенотипом $Lyt-1^{+}2^{+}$ [1584].

Особенно быстро неспецифические Т-супрессоры, блокирующие распознавание аллоантигенов в MLC, образуются в самой культуре: они высокоактивны уже на 2-й день MLC, т. е. за несколько дней до достижения пика пролиферации антигенреактивных Т-клеток и возникновения ЦТЛ у человека [1913] и мыши [851].

Более того, Т-супрессоры выявляются в таких условиях культивирования лимфоцитов, при которых образование ЦТЛ минимально, не происходит вовсе или полностью прекращается: при использовании незрелых (кортизончувствительных) тимоцитов в качестве реагирующих клеток в MLC [510], убитых прогреванием клеток в качестве стимуляторов в MLC мыши [301, 870] и человека [1914] или очищенного белка HLA-DR [1899]; при низком соотношении между реагирующими и стимулирующими лимфоцитами в MLC мыши [51] и человека [1706]; при добавлении в MLC циклоспорина А, ингибирующего генерацию ЦТЛ, без влияния на образование Т-супрессоров (гл. III.4.5); при извлечении клеток из 14-дневной MLC человека, т. е. после исчезновения ЦТЛ [1706, 1838]. Даже инкубация лимфоцитов в монокультуре (т. е. без стимуляторов) в течение 3 и более дней достаточна для избирательного образования Т-супрессоров мыши [862] и человека [1239] в отсутствие других Т-субклассов.

Любые неспецифические Т-супрессоры, независимо от способа их активации *in vitro* — спонтанного (в монокультуре), под действием митогена или аллоантигена в MLC — совпадают, как правило, по своим свойствам. Из табл. 34 видно, что все они имеют большой диаметр, а их предшественники чувствительны к ЦФ и ГК [851, 564, 51] (степень чувствительности к ГК существенно ниже при активации неспецифических Т-супрессоров в монокультуре [1008] или в сингенной MLC [10] по сравнению с аллогенной MLC). Хотя по указанным признакам СТС, подавляющие реакцию на стимуляторы только того гаплотипа H-2, который индуцировал их образование в MLC, подобны неспецифическим Т-супрессорам, последние могут быть четко отделены по набору иных признаков от СТС (табл. 34), даже если они индуцированы в сходных условиях культуры и блокируют те же реакции Т-клеток в MLC.

В отличие от СТС, неспецифические Т-супрессоры мыши высокочувствительны к γ -облучению и МС [851, 564, 1008, 51, 864] и прикрепляются к нейлоновой вате [862, 1008], а их предшественники, в отличие от предшественников СТС, не выявляются в

Таблица 34

Свойства неспецифических и специфических Т-супрессоров (СТС), индуцированных в культуре и блокирующих реакции Т-клеток в MLC

Свойства	Неспецифические Т-супрессоры, индуцированные			СТС в MLC
	спонтанно	Кон А	в MLC	
Чувствительность				
к γ -облучению	+	+	+	—
к МС	+	+ или —*	+	—
предшественников к ЦФ и ГК	+		+	+
Локализация предшественников	ЛУ, Сел	ЛУ, Сел	ЛУ, Сел	Сел, тимус
Адсорбция на вате	+	—	+?	—
Рецептор к гистамину H_1 (ингибирование пириламином)		+	+	—
Lyt-маркеры	1-2 ⁺		1-2 ⁺	1 ⁺ 2 ⁻
Диаметр	Большой	Большой	Большой	Большой

* Индуцированные Кон А Т-супрессоры, блокирующие не пролиферацию в MLC, а образование антител, резистентны к МС [1827]. ЛУ-лимфатический узел, Сел—селезенка.

тимусе [1530, 564] и несут рецепторы к гистамину [1806]. Последнее свойство особенно важно, поскольку оно позволяет избирательно предотвратить образование неспецифических супрессоров с помощью добавленного в среду пириламина—антагониста рецептора к гистамину. Эти особенности воспроизведены при индукции в культуре Т-супрессоров человека [1239, 572]. Две категории Т-супрессоров можно различить даже по антигенным маркерам: если неспецифические Т-супрессоры независимо от способа их индукции имеют обычный фенотип Lyt-1-2⁺ [744, 405], то СТС, индуцированные в MLC убитыми прогреванием аллогенными стимуляторами, несут обратной фенотип Lyt-1⁺2⁻ [870].

Указанные различия свойств и маркеров позволяют вызвать избирательное образование СТС в культуре в отсутствие неспецифических Т-супрессоров с помощью различных воздействий на клетки: инактивации пириламином рецептора к гистамину H_1 , экспрессированному на предшественниках только неспецифических Т-супрессоров мыши [1806], использования убитых прогреванием клеток в качестве стимуляторов MLC [870], фильтрации через нейлоновую вату нормальных лимфоцитов-предшественников Т-супрессоров крысы [1755]. Данные указывают на неидентичность не только неспецифических Т-супрессоров и СТС, но и их предшественников, активированных продуктами МНС в MLC.

IV.2.4.3. Неидентичность биологических свойств и антигенных маркеров СТС и ЦТЛ и возможности их разделения

Одна из трудностей в изучении СТС, иммунных к антигенам H-2, состоит в том, что ингибируемые ими ранние этапы реакций в тест-MLC могут быть подавлены также специфическими ЦТЛ, способными элиминировать стимуляторы из тест-MLC, против антигенов которых они направлены. Несмотря на блокировку реакций в MLC в двух указанных случаях, механизм и объекты такой блокировки полностью различны: СТС в отличие от ЦТЛ не убивают стимуляторы, а взаимодействуют с реагирующими в MLC Т-лимфоцитами, что приводит к торможению их реактивности на антигены стимуляторов.

Такое предположение вначале было основано на косвенных фактах. В дальнейшем оказалось, что частота индуцированных в MLC СТС превышает частоту ЦТЛ в 10—20 раз у мышей [569] и крыс [1755], не идентичны кинетика их эффектов, их чувствительность к замораживанию и даже антигенные маркеры (см. ниже).

Поскольку, однако, СТС и ЦТЛ могут вызывать один и тот же ингибирующий эффект при введении их в тест-MLC, важно четко различать эти два явления и знать, какими именно клетками они вызываются в каждом случае. Кроме того, СТС, индуцированные продуктами МНС *in vivo* и в MLC, не идентичны, а различаются радиочувствительностью и Lyt-фенотипом (табл. 33 и 34). В связи с этим особую ценность имеет сопоставление условий индукции СТС и ЦТЛ антигенами комплекса H-2 *in vivo*, биологических особенностей и мембранных маркеров этих двух Т-субклассов и их предшественников.

Оптимальные условия для индукции СТС у животных связаны с использованием для иммунизации облученных, убитых, разрушенных или смешанных с адьювантом Фрейнда аллогенных клеток — лимфондных [2158, 11] или опухолевых [1668, 362]. Обычно такие клетки, введенные в подушечки лапок или внутривенно в большой дозе, индуцируют СТС соответственно в регионарных лимфоузлах или в селезенке и тимусе. В соответствии с моделью, представленной на рис. 15, СТС, индуцированные внутривенной инъекцией облученных аллогенных клеток и добавленные в 3-клеточную однонаправленную MLC, угнетают и пролиферацию Т-клеток, и генерацию ЦТЛ при условии их активации клетками, несущими именно те продукты МНС, которыми СТС были индуцированы [274].

Оказалось, что указанные условия, оптимальные для индукции СТС, очень слабо индуцируют ЦТЛ, эффективному образованию которых (после однократной иммунизации) способствует локальная инъекция и временный рост живых аллогенных опухолевых клеток [449, 905]⁹. Низкоактивные и неспецифические

⁹ Подобные результаты получены при иммунизации мышей вирусом гриппа: живой вирус индуцирует ЦТЛ, а убитый УФ — СТС, угнетающие генерацию противовирусных ЦТЛ [1185].

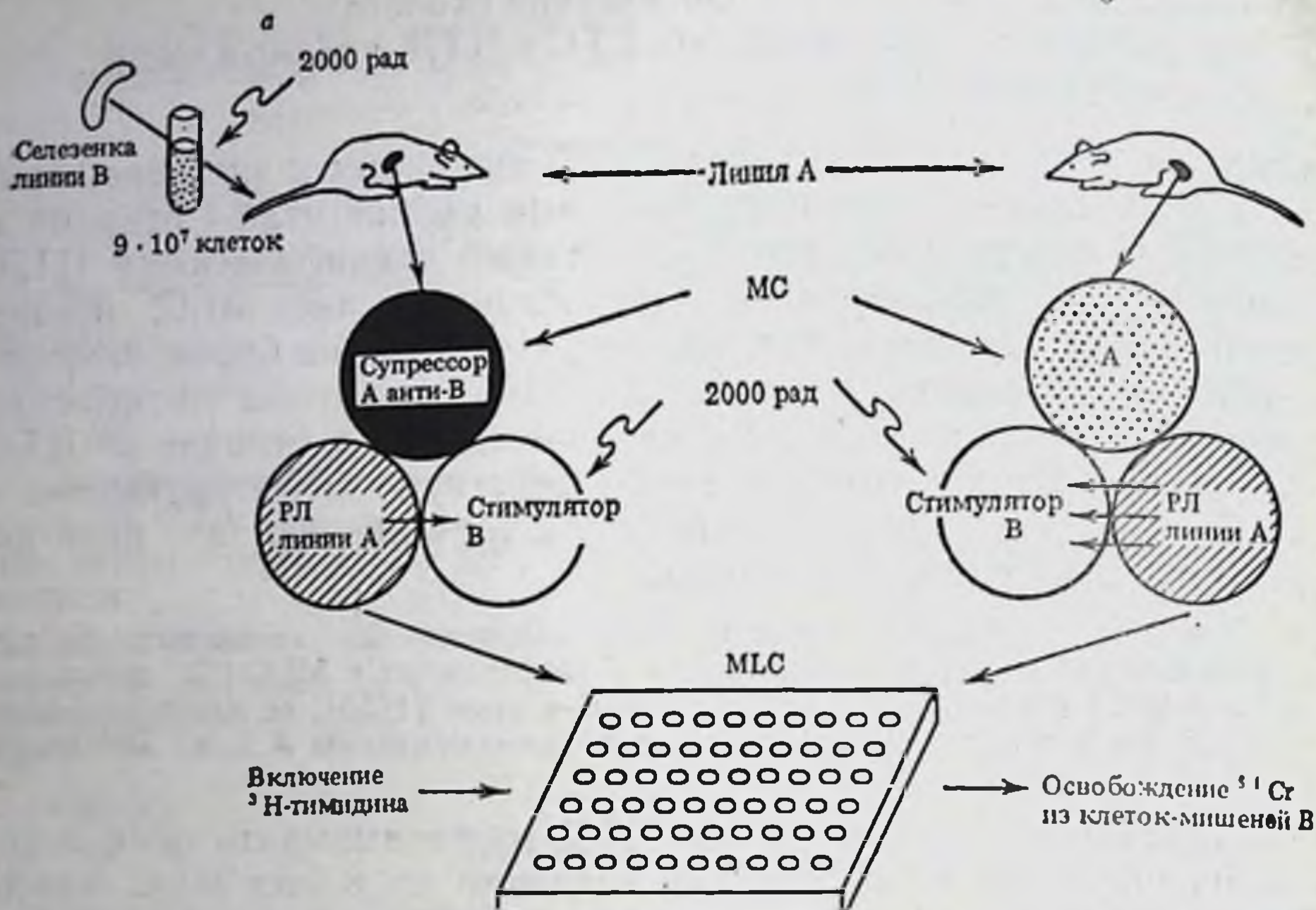


Рис. 15. Модель функционирования Т-супрессоров, специфичных к антигенам комплекса Н-2 [11]

СТС индуцированы *in vivo* (а) внутривенной инъекцией реципиенту облученных аллогенных клеток селезенки донора в большой дозе. Активность СТС А анти-В тестирована через 4 дня после иммунизации *in vivo* — в 3-клеточной однонаправленной МЛС: клетки иммунной селезенки А анти-В, обработанные МС, смешаны с нормальными сингенными реагирующими лимфоцитами (РЛ) и облученными аллогенными стимуляторами линии В. В контрольную (б) МЛС введены клетки нормальной селезенки мыши той же линии А, обработанные МС. После 5 дней инкубации в 96-луночных пластинках определены активности РЛ А анти-В: пролиферация (тест — включение ^3H -тимидина) и генерация ЦТЛ (тест — лизис КМ линии В лимфоцитами А анти-В, извлеченными из лунок). Синтез ДНК и генерация ЦТЛ снижены в опыте по сравнению с контролем

киллеры, которые выявляются после внутривенной инъекции облученных аллогенных лимфоидных клеток, не являются Т-лимфоцитами, а специфические ЦТЛ можно в этом случае выявить только после их обогащения элюцией с монослоя КМ [274]. Кроме того, Т-супрессоры (и их предшественники), специфичные к антигенам Н-2, так же как индуцированные *in vivo* СТС иной специфичности, отличаются от ЦТЛ высокой ранимостью и коротким сроком жизни. Эти отличия от ЦТЛ проявляются в чувствительности СТС к γ -облучению, а их предшественников — к ЦФ (100 мг/кг веса) и ГК (2,5 мг/мышь), а также в зависимости их созревания от присутствия тимуса у взрослых животных (см. табл. 33), хотя такая зависимость выявляется не ранее чем через два месяца после тимэктомии.

Из приведенных данных очевидно, что активность ЦТЛ может быть полностью сохранена при полном исчезновении функции супрессоров в суспензии Т-клеток, иммунизированных алло-

антигеном *in vivo*. Это означает, что СТС не только могут быть отнесены к специализированному Т-субклассу, но и, возможно, созревают из собственных предшественников.

При сопоставлении способности СТС и ЦТЛ распознавать продукты МНС также были выявлены существенные различия. В исследованиях использованы (с помощью набора рекомбинантных и мутантных линий мышей) три подхода: индукция СТС продуктами различных районов и субрайонов МНС, варьирование источника стимуляторов в МЛС при неизменном источнике СТС и реагирующих лимфоцитов, индукция СТС при мутантных различиях антигена H-2K^b. Оказалось, что сходная активность СТС может быть индуцирована продуктами МНС класса I (K^k, D^b, D^d) и класса II (I-C^d), причем реакция на два продукта МНС (K^k+I-A^k или I-J^k+I-E^k) приводит к двукратному возрастанию супрессии [273]. Такой же аддитивный характер супрессии обнаружен при совпадении стимуляторов с иммунизирующими клетками по другим комбинациям районов МНС [452]. Создается впечатление, что эффект СТС представляет собой сумму супрессорных реакций, вызванных каждым из компонентов МНС в отдельности, причем вклад этих компонентов в индукцию СТС примерно равнозначен. Из этого следует, что в отличие от ЦТЛ и Т-клеток хелперной группы, индуцированных *in vivo* преимущественно продуктами МНС соответственно класса I и класса II (гл. III.2.4), активация СТС продуктами МНС значительно более универсальна. При этом СТС реагируют с соответствующим антигеном H-2 стимуляторов, независимо от остального контекста МНС, т. е. от совпадения по иным участкам МНС между стимуляторами МЛС и иммунизирующими *in vivo* аллогенными клетками.

Такой вывод, однако, не согласуется с некоторыми результатами, указывающими на ограничения индукции СТС продуктами МНС: для активации антигенами H-2 Т-супрессоров, тестированных по подавлению пролиферации в МЛС [415] или ГЗТ *in vivo* [1198], необходимы различия по субрайону I-J; антигены I-A и I-E вовсе не индуцируют супрессоры, а их реакция на антигены H-2K/D рестриктирована по I-C субрайону [1684]. СТС, индуцированные у новорожденных мышей всем комплексом H-2, реагируют только на I-A молекулу соответствующих стимуляторов, подавляя образование антител к антигенам при условии их «презентации» на А-клетках, несущих I-A белок иммунизирующего гаплотипа [1916].

Тем не менее имеются столь же четкие противоположные данные: различия только по I-A антигену (в том числе мутантному) достаточно для индукции СТС мыши [1837], а при индукции иным (не H-2) антигеном СТС могут на него реагировать при его ассоциации с сингенной молекулой I-A [574], I-E [149] или распознавать рецепторы Т-хелперов, рестриктированные по I-A молекуле [94]. Столь же разнообразны аллоантигены, индуцирующие СТС человека в МЛС, в то время как Т-клетки хел-

перной группы в этом случае (так же как у мыши) реагируют преимущественно на продукты МНС класса II [527].

Из приведенных данных очевидно, что степень разнообразия СТС при их реакции на продукты МНС зависит от условий индукции. Это проявляется, например, в том, что реакция СТС на гаптен, выражающаяся в блокировке реакции $\text{ЭТ}_{\text{гат}}$ на тот же гаптен, может быть рестриктирована или не рестриктирована по сингенному МНС в зависимости от того, индуцированы ли СТС внутривенной инъекцией чистого гаптена (динитробензолсульфоновой кислотой) [1399] или его комплексом с сингенными клетками [1365], или от того, какая доза гаптена (соответственно 1 или 10 мМ) использована для его конъюгации с иммунизирующими сингенными клетками при индукции СТС [1588]. Такое же разнообразие реактивности СТС выявляется при иммунизации мышей мутантными аллоантигенами.

В частности, различие между антигеном дикого (H-2K^b) и мутантного (H-2K^{bm1}) типа, не вызывающее образование антител, но весьма эффективное для индукции ЦТЛ *in vivo* [178], вовсе не индуцирует СТС [273]. Напротив, мутант $bm3$, антиген H-2K^{bm3} которого значительно более подобен исходной молекуле H-2K^b (судя по тому, что ЦТЛ анти- K^b лизируют КМ мутанта $bm3$ значительно эффективнее, чем КМ мутанта $bm1$ [3, 1334]), хорошо образует СТС анти- K^b [16]. Вместе с тем при более комплексных мутациях того же класса ($\text{H-2D}^d \rightarrow \text{D}^{dm1}$), достаточных для образования антител, легко образуются *in vivo* не только ЦТЛ [265], но и СТС [273].

Помимо указанных различий между СТС и ЦТЛ, специфичными к молекулам МНС (по условиям индукции, чувствительности к облучению и фармакологическим агентам, спектру распознаваемых антигенов), на мембране СТС мышей выявлены антигенные маркеры, отсутствующие на ЦТЛ и иных Т-субклассах. До недавнего времени ЦТЛ и Т-супрессоры объединяли мембранной экспрессией единых антигенных маркеров, отсутствующих на Т-хелперах/индукторах (гл. III.3.2): Lyt-2,3 мыши, MRC OX8 крысы, T8/Leu2a, b человека, подобных друг другу по структуре и молекулярной массе (табл. 17). Тот же маркер ЦТЛ Lyt-2 выявляется и на индуцированных аллоантигеном *in vivo* Т-супрессорах — как специфичных [275], так и неспецифичных к этим антигенам [156]. Затем с помощью поли- и моноклональных аллоантител на Т-супрессорах мыши выявлен один из продуктов субрайона I-J МНС, отсутствующий на иных Т-субклассах и имеющий антигенный перекрест с молекулой I-A τ [908]¹⁰. Особенностью Т-супрессоров, индуцированных антигенами H-2, является экспрессия на одной и той же клетке продуктов двух субрайонов МНС — I-J и I-C, выявленных как на неспецифических Т-супрессорах [1682], так и на СТС [13] и отсутствующих на ЦТЛ (продукт I-C обнаружен также на СТС, возникающих при шистозомиазе) [354]. Наконец, отсутствующий

¹⁰ Антитела человека к аналогу I-J мыши, избирательно инактивирующие Т-супрессоры, но не влияющие на активность ЦТЛ, индуцированных Кон А, найдены в сыворотке многорожавшей женщины [1496].

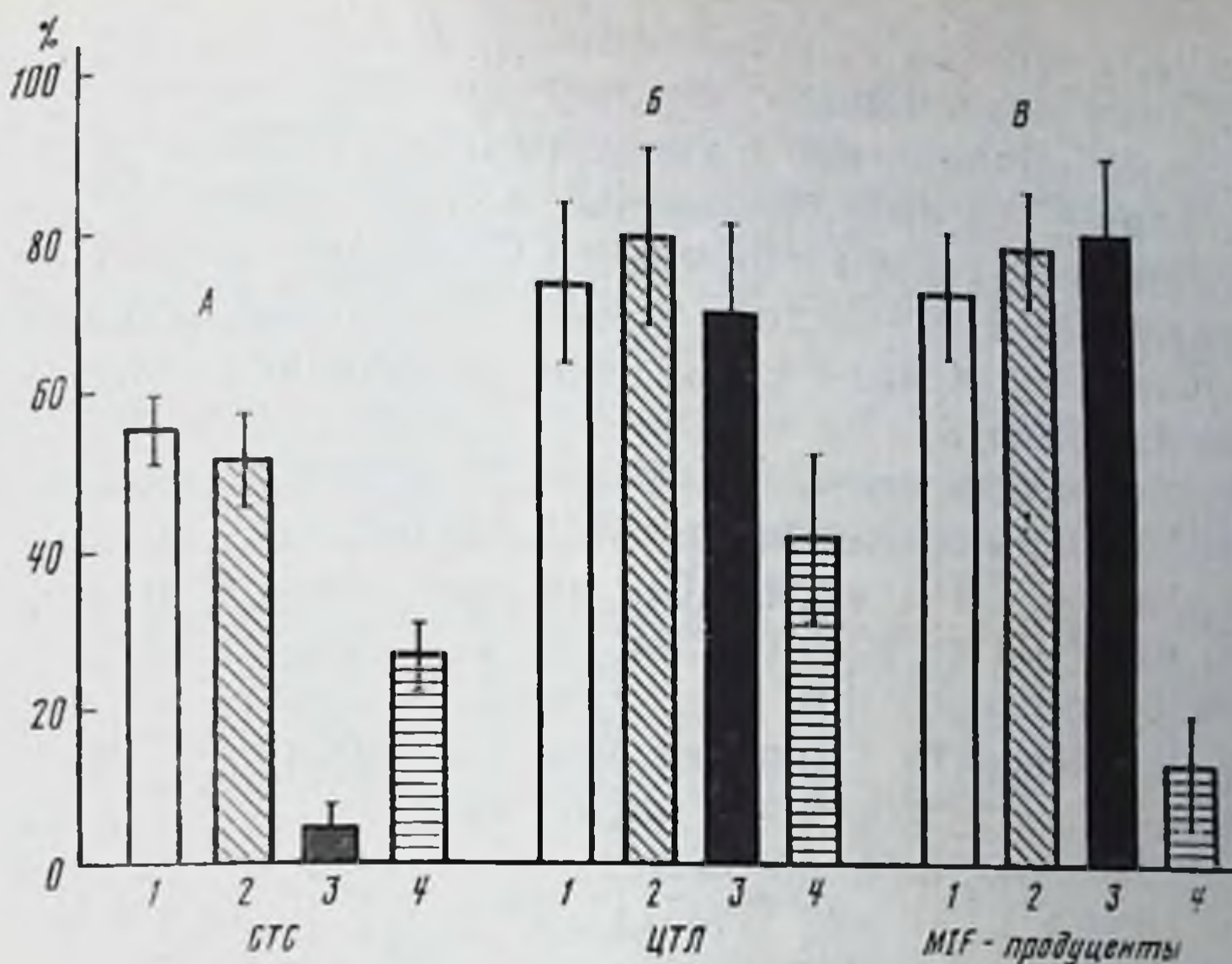


Рис. 16. Влияние АСС крыс на функцию клеток Т-субклассов, специфичных к аллоантигенам

А — индекс ингибирования синтеза ДНК (определено по включению ^3H -тимидина). Б — цитотоксический индекс (определено по освобождению ^{51}Cr); В — индекс подавления миграции макрофагов.

Иммунные лимфоциты не обработаны в контроле (1) или обработаны в присутствии комплемента нормальной сывороткой крыс (2). АСС_{эл.} индуцированной СТС, обогащенной элюцией с аллогенного монослоя (3). АСС_{инт.} индуцированной интактными СТС (4) (см. рис. 15). Сыворотки адсорбированы эритроцитами и клетками лимфоузлов нормальных мышей. АСС_{эл.}, но не АСС_{инт.} избирательно инактивирует СТС, не влияя на активность ЦТЛ и MIF-продуцентов

ший на ЦТЛ маркер был найден на индуцированных Кон А неспецифических Т-супрессорах с помощью МкАТ Ly-m22 мышей, иммунизированных аллогенной тимомой RL1 [342].

Очевидно, однако, что более универсальным средством для изучения маркеров Т-супрессоров и регуляции их активности послужили бы ксеногенные антитела, которые ранее были индуцированы у кроликов различными вариантами Т-супрессоров: клетками тимомы EL-4 [63], Т-клетками (или их факторами), толерантными к Vi-антигену [17] или гаптену [390]. В этих случаях антисупрессорные сыворотки (АСС) оказывали влияние на функцию Т-супрессоров, которые подавляли образование антител или пролиферативную реакцию Т-клеток на Кон А.

Особый интерес имеет получение антител, избирательно инактивирующих СТС, но не влияющих на функции иных Т-субклассов, индуцированных *in vivo* в одной системе аллоантигенов. Из рис. 16 видно, что такой избирательный эффект крысиной АСС на СТС мыши может быть получен лишь при условии иммунизации крыс не суммарной суспензией клеток иммунной селезенки, а популяцией обогащенных СТС [1]. Поскольку СТС инактивируются в этом случае независимо от их антигенной спе-

цифичности, линейной принадлежности, величины их активности и присутствия компонента, следует думать, что соответствующие антитела направлены к универсальному дифференцировочному маркеру СТС, индуцированных аллоантигенами. Этот маркер, по-видимому, связан с функцией СТС и не имеет отношения к антигенам Thy-1 и I-J, хотя косвенные данные указывают на его частичный перекрест с Lyt-2 (или их близкое расположение на мембране) [278].

Особую ценность имеет тот факт, что однократная инъекция такой АСС мышам может вызвать два противоположных эффекта: элиминацию СТС, если АСС введена после иммунизации (т. е. при наличии «готовых» СТС *in vivo*), или стимуляцию образования супрессоров при введении АСС до или без иммунизации. Эти два эффекта — инактивация супрессоров и стимуляция их образования — отменяются после адсорбции АСС клетками разного происхождения, соответственно обогащенными СТС, и клетками тимом EL-4 или BW5147. В связи с этим следует полагать, что в АСС содержатся антитела по меньшей мере к двум разным маркерам, один из которых экспрессирован на СТС, а другой — на предшественниках супрессоров (оба маркера отсутствуют на нормальных периферических Т-клетках, но представлены на незрелых тимоцитах, истощающих обе активности АСС) [2, 278]. Изучению этих маркеров будет способствовать сопоставление поликлональных антител, выделенных из АСС, с МкАТ крысы, которые, так же как АСС, индуцированы обогащенными СТС мыши и избирательно их инактивируют, не влияя на функции ЦТЛ и MIF-продуцентов.

В отличие от эффекта АСС эффект МкАТ осуществляется главным образом *in vitro* и только в присутствии компонента. Два таких МкАТ (C1 и C4, оба IgM класса) реагируют с неидентичными структурами, различающимися по мембранной экспрессии и молекулярной массе, по локализации на лимфоцитах и тимомах, а также на промежуточных филаментах фибробластов [278, 28]. МкАТ к антигену RT6, выявленному на 90% Т-клеток крысы, также реагирует с частью СТС, но не с ЦТЛ, индуцированных в одной и той же MLC [1755].

Напротив, мкАТ СТ1 и СТ2 мышей, иммунизированных аллогенным клоном ЦТЛ, избирательно инактивируют клоны ЦТЛ разных специфичностей, реагируя с углеводом мембранного белка T200, который выявляется также в секретированном из тех же клеток гликопротеиде gp155 [1163].

Поли- и МкАТ к избирательным маркерам СТС могут быть использованы для изучения механизмов дифференцировки СТС, включая связь между предшественниками СТС: неспецифических Т-супрессоров и иных Т-субклассов, природу дифференцировочных маркеров СТС и их функциональную роль в развитии супрессии. Приведенные данные перспективны для направленного усиления иммунного ответа при онкологических заболеваниях и его подавления при трансплантациях и аутоиммунных процессах. Реальность таких возможностей возрастает в связи с разде-

лением ЦТЛ и Т-супрессоров человека единого фенотипа T8/Leu2⁺3⁻: на поверхности ЦТЛ в отличие от Т-супрессоров экспрессирован маркер Tr44 (44кДа), выявляемый МкАТ 9.3 [424], а на поверхности Т-супрессоров в отличие от ЦТЛ — маркер, выявляемый МкАТ CD11 [2264b].

IV.2.4.4. „Интеракционная” рестрикция СТС и необходимость их близкого разморасположения с реагирующими Т-лимфоцитами для реализации супрессорного эффекта

Один из признаков неоднородности СТС — варьирование генетической рестрикции их функции в зависимости от условий индукции СТС. Как выше упоминалось, они могут реагировать либо на нативный антиген, либо на его комплекс с продуктами МНС. В каждом случае эта «презентационная» рестрикция индивидуальна, т. е. определяется только одним из продуктов — H-2K, H-2D, I-J, I-C, I-A, I-E. Однако при блокировке иммунными СТС первичного распознавания аллоантигенов в трехклеточной MLC возникает иной вопрос: достаточно ли для активации СТС в культуре их повторного контакта с соответствующим антигеном стимулятора или, помимо этого, необходимо прямое взаимодействие между СТС и реагирующим Т-лимфоцитом, как это показано на рис. 15?

Если предположить, что такое взаимодействие требует идентичности СТС и их мишеней — реагирующих Т-клеток — по экспрессированным на их поверхности определенным продуктам МНС, то для изучения этого вопроса следует варьировать источник реагирующих лимфоцитов при сохранении постоянного источника СТС и стимуляторов с таким расчетом, чтобы СТС избирательно совпадали с реагирующими лимфоцитами только по некоторым продуктам МНС.

Возникновение при этом аллогенных эффектов СТС и (или) реагирующих Т-лимфоцитов на неидентичные антигены друг друга могло привести к усилению или ослаблению пролиферации в трехклеточной MLC и неадекватной интерпретации полученных данных. Такие возможности были отвергнуты после экспериментального анализа главным образом за счет резкого количественного превышения стимуляторов по отношению к остальным клеткам в трехклеточной MLC [273, 276].

Использование СТС разных специфичностей — B10.D2 анти-B10 (анти-b), B10.A анти-B10 (а анти-b), B10.A анти-B10.BR (а анти-k), A.TL анти-B6 (Т1 анти-b) — привело к сходным результатам. Из группы опытов, представленных на рис. 17, видно, что супрессия не развивается (или ее величина минимальна) при совпадении между СТС и реагирующими Т-клетками только по аллелям H-2K и H-2D (гр. 3), I-A (гр. 4), I-E (гр. 5), I-J + I-E (гр. 6). Напротив, для развития супрессии необходима идентичность этих двух типов Т-клеток либо по I-C субрайону (гр. 7), либо по комплексу остальных I-субрайонов (I-A + I-J + I-E) (гр. 8). В действительности нет необходимости включения в последний комплекс субрайона I-J: супрессия развивается,

Группа опытов	СТС	Источник реагирующих лимфоцитов (РЛ)	Структура комплекса H-2 реагирующих лимфоцитов	Ингибирование синтеза ДНК в MLC, %
1		A.TL	K I-A I-J I-E I-C D s k k k k d	60 ± 5
2	A.TL	A.AL	k k k k k d	58 ± 12
3		A.TH	s s s s s d	2 ± 2
4	анти-B10	B10.A(4R)	k k b b b b	12 ± 5
5	(4)	B10.A(3R)	b b b k d d	14 ± 4
6		B10.A(5R)	b b k k d d	22 ± 6
7		B10.HTT	s s k k k d	55 ± 8
8		A	k k k k d d	44 ± 7
9	B10.HTT	B10.HTT	s s s k k d	52 ± 2
10	анти-B10	B10.S(9R)	s s k k d d	62 ± 2
11	(2)	B10.SM	v v v v v v	12 ± 2
12	B10.S(9R)	B10.S(9R)	s s k k d d	52 ± 2
13	анти-B10	B10.HTT	s s s k d d	32 ± 2
14	(2)	B10.SM	v v v v v v	14 ± 2

если СТС и реагирующие лимфоциты, различные по аллелям не только I-C, но и I-J, совпадают по аллелям I-A и I-E (гр. 10 и 13).

Совпадение в гр. 7 между СТС (A.TL) и реагирующими клетками (B10.HTT) не только по I-C^k, но и по молекулам K^s, D^d, I-E^k, по-видимому, не существенно, поскольку идентичность по каждому из трех последних продуктов не приводит к развитию супрессии. Такое заключение прямо следует из использования иной комбинации линий: совпадения СТС B10.A с реагирующими лимфоцитами B10.D2(R101) только по I-C^d (см. табл. 1) достаточно для полного развития супрессии; замена последних на B10.D2(R107), совпадающих с теми же СТС B10.A только по району D^d, приводит к отмене супрессии.

Очевидно, что рестрикция по I-C не является в этом случае «презентационной», т. е. не связана с распознаванием антигена супрессорами. Это следует из нескольких фактов: а) для развития супрессии не требуется идентичность по I-C субрайону между иммунизирующими *in vivo* клетками и стимуляторами в MLC, независимо от того, специфичны ли СТС к молекуле МНС класса I или II [278]; б) фракции СТС B10.D2 анти-B10, перекрестно реагирующие с посторонними гаплотипами B10.M и B10.A, выявляются и обогащаются с помощью специфической адсорбции СТС на монослоях клеток, несущих соответствующие посторонние антигены, несмотря на их отличие по всему МНС от иммунизирующих клеток B10 (гл. V.4.4); в) хотя два антигена — продукты I-J и I-C — представлены на поверхности СТС, иммунных к антигенам комплекса H-2, предварительная обработка СТС только анти-I-C (но не анти-I-J) антителами инактивирует их в отсутствие комплемента (табл. 35), т. е. при сохранении экспрессии I-C продукта на остальных клетках в MLC [277]. По-видимому, экранировка антителами I-C (но не I-J) продукта на поверхности СТС достаточна для предотвращения взаимодействия СТС с реагирующими Т-лимфоцитами. Такая же экранировка вовсе не препятствует связыванию тех же СТС с антигеном, судя по сохранению их способности специфически прикрепляться к монослою КМ [278].

Приведенные данные указывают на двойное взаимодействие: СТС реагируют не только с антигенной детерминантой стимулятора при помощи соответствующих рецепторов, но и с реагирующим Т-лимфоцитом, идентичным СТС по определенным I-субрайонам (I-C или комплексу I-A+I-E). Сходные данные получены при подавлении пролиферации Т-клеток в MLC неспе-

←
Рис. 17. Генетическая рестрикция функции СТС, индуцированных аллоантигеном

Клетки иммунной селезенки (см. рис. 15) A.TL анти-B10 (гр. 1—8), B10.HTT анти-B10 (гр. 9—11) и B10.S(9R) анти-B10 (гр. 12—14) обработаны МС, промыты и смешаны с РЛ лимфоузлов разного происхождения и облученными клетками-стимуляторами B10. Цифры в скобках — количество опытов. Аллели, идентичные для СТС и РЛ, заключены в квадрат. СТС и РЛ должны совпадать только по аллелю I-C или по аллелям I-A+I-E молекулы МНС класса II

цифическим TsF, секретированным анти-H-2 Т-супрессорами: супрессия наблюдалась при условии идентичности по I-C субрайону между продуцентами TsF и реагирующими Т-клетками [1681]. Кроме того, TsF адсорбировался только гомологичными ему по I-C бластами [1682], а также на анти-I-C иммуносорбентных колонках соответствующего гаплотипа MHC [1683].

По-видимому, тот же феномен наблюдается при взаимодействии активированных антигеном иммунных Т-хелперов (или их клонов) с «покоящимися» малыми В-лимфоцитами: для активации последних антигеном и дифференцировки в АОК необходимо их совпадение с Т-хелперами [953, 963, 1624] или их факторами [72] по I-району. В этом случае рестрикция также может быть не «презентационной», так как презентация антигена на сингенных А-клетках требуется только для активации Т-хелперов, но не для взаимодействия активированных Т-хелперов с покоящимися В-клетками. Таким образом, разделение этих двух этапов при Т-В взаимодействии, так же как при описанной выше системе Т-Т супрессии, позволило выявить новый феномен — «интеракционную» рестрикцию иммунного ответа по продуктам I-района MHC, связанную не с распознаванием антигена, а с взаимодействием клеток между собой независимо от того, какие антигены распознаются их рецепторами¹¹.

Необходимость совпадения по I-C субрайону между STC и реагирующими Т-лимфоцитами может быть связана с контактом идентичных или, напротив, комплементарных продуктов данного I-C района, экспрессированных на взаимодействующих Т-партнерах. Более вероятным, однако, представляется предположение о возникновении на поверхности STC или реагирующих Т-клеток при их активации аллоантигеном в MLC рецептора к «своему» I-C продукту. Контакт такого рецептора с соответствующим I-C продуктом, экспрессированным на сингенном Т-партнере, может обеспечить взаимодействие этих клеток.

На такую возможность указывает возникновение способности иммунных Т-хелперов после их селекции *in vitro* соответствующим антигеном на поверхности сингенных А-клеток связываться при 37° С в отсутствие антигена с А-клетками того же гаплотипа MHC [2075] (остается неизвестным, какой из продуктов MHC ответствен за это связывание). Поскольку для такого связывания необходима обработка селектированных Т-хелперов трипсином, предполагается, что возникающие после такой селекции рецепторы к собственным Ia-молекулам экранированы другими компонентами мембраны; напротив, такие же рецепторы Т-клеток, активированных аллоантигеном в MLC, могут быть обнажены на их поверхности, судя по способности этих клеток формировать обратимые антигеннезависимые кластеры с сингенными ДК, содержащими Ia-молекулу [917a].

¹¹ Взаимодействие эпителиальных клеток в культуре также требует их совпадения по продуктам MHC, но класса I [414].

Таблица 35

Действие антисывороток на активность СТС В10.А(2Р) анти-В6, обогащенных элюцией с монослоя клеток В6

Антисыворотка	Комплемент	Индекс ингибирования синтеза ДНК в МЛС *	Отмена эффекта СТС, %
—	—	76 (70,80)	
НСМ **	+	74 (71,77)	(контроль)
НСМ	—	82 (80,84)	
анти-I-C ^d	+	20 (14,26)	72,9
	—	19 (18,20)	77,2
анти-I-J ^k E ^k ***	+	23 (20,26)	68,9
	—	72 (64,80)	13,2
НСМ	+	64 (63,65)	(контроль)
анти-I-C ^d (1)	+	19 (9,30)	70,3
анти-I-J ^k E ^k (2)	+	19 (10,27)	70,3
(1) + (2)	+	24 (19,28)	62,5

* В скобках результаты двух отдельных опытов.

** Нормальная сыворотка мыши.

*** Антисупрессорный эффект сыворотки анти-I-J^kE^k связан с антителами к I-J^k, но не к I-E^k [277].

При иных описанных ниже (гл. IV.2.5.2) эффектах СТС последовательная активация субпопуляций Т-супрессоров ($Ts_1 \rightarrow Ts_2 \rightarrow Ts_3$) и способность Ts_3 подавлять функцию Т-хелперов также могут быть связаны с экспрессией рецептора к собственному I-J-продукту на поверхности некоторых из компонентов СТС и в структуре их TsF. На такую возможность указывает отмена супрессии, если молекула I-J на поверхности компонентов СТС, индуцированных гаптенем, экранирована МкАТ анти-I-J. Если же СТС индуцированы другими антигенами — алло-антигеном, LDH_B или лизоцимом курицы — супрессия отменяется при экранировке на поверхности СТС продуктов иных I-субрайонов, соответственно I-C (как описано ниже), I-A_T [909] или I-A [84a].

В любом случае подобная рестрикция требует близкого взаиморасположения СТС и подавляемого Т-лимфоцита. Это подтверждается результатами опытов, в которых использовали набор рекомбинантных линий мышей в качестве источника клеток в 3-клеточной МЛС с таким расчетом, чтобы СТС и реагирующие лимфоциты могли взаимодействовать с продуктами МНС, представленными либо на одних и тех же, либо на разных клетках-стимуляторах. Во всех вариантах выполнялись оба требования, необходимые для развития супрессии в МЛС: присутствие на стимуляторах того антигена, которым индуцировали СТС *in vivo*, и идентичность СТС и реагирующих лимфоцитов по аллелю субрайона I-C. На рис. 18 представлены результаты, полу-

ченные при использовании СТС узкой специфичности — анти- D^d [B10.A(2R) анти-B10.A]; подобные же результаты получены с СТС анти- K^k (A.TL анти-A.AL) [276]. В обоих случаях СТС совпадали с реагирующими лимфоцитами соответственно по субрайонам I- C^d и I- C^k .

Оказалось, что 30—40%-ное ингибирование синтеза ДНК наблюдается независимо от того, реагируют ли СТС и пролиферирующие лимфоциты на один и тот же антиген D^d (рис. 18, а) или на неидентичные продукты МНС, локализованные на одних и тех же стимуляторах. В частности, если в качестве реагирующих лимфоцитов вместо B10.A(2R) использовать B10.A(5R), то они распознают не D^d , а $K^k + I-A^k$ тех же стимуляторов B10.A (рис. 18, б). Напротив, если антигены, один из которых (D^d) распознается СТС, а другие ($K^k + I-A^k + I-E^k$) — реагирующим лимфоцитом, представлены на разных стимуляторах, супрессия не развивается (рис. 18, в). Отсутствие супрессии в этом случае не связано с использованием в качестве стимуляторов смеси клеток из двух источников: подобная смесь индуцирует супрессию, если только на одном ее компоненте локализован антиген, распознаваемый СТС и реагирующим Т-лимфоцитом (рис. 18, г).

Необходимость локализации двух антигенов на одной клетке, для того чтобы СТС, иммунные к одному из них, угнетали реакцию реагирующих клеток на другой, может быть связана по меньшей мере с тремя возможностями (см. рис. 19): а) угнетение пролиферации реагирующего лимфоцита осуществляется лишь при его прямом контакте с поверхностью СТС, для чего необходим контакт обеих этих клеток с одной клеткой-стимулятором; б) после контакта рецептора СТС с соответствующим антигеном стимулятора (1-й этап) выделяется короткодистантный медиатор (2-й этап), для супрессорного действия которого (3-й этап) необходимо устойчивое близкое расположение СТС и реагирующего лимфоцита; в) контактируя с соответствующим антигеном стимулятора, СТС стерически препятствует доступу реагирующей клетки к антигенам того же стимулятора или по крайней мере уменьшает вероятность контакта реагирующего лимфоцита со стимулятором.

Первая возможность представляется наиболее вероятной, ввиду того что взаимодействие между СТС и идентичным ему по I-С-субрайону реагирующим Т-лимфоцитом отменяется (и супрессия исчезает) после экранировки антителами I-С-продукта СТС [277]. Возможность, что такое взаимодействие опосредуется медиатором, несущим I-С-продукт неспецифических Т-супрессоров [1683], менее вероятна для СТС, хотя формально не может быть отвергнута. Во всяком случае, необходимость близкого взаиморасположения СТС и их мишеней — подавляемых ими Т-клеток — воспроизводится в разных системах, которые требуют локализации соответствующего и постороннего антигена на одной и той же клетке, для того чтобы СТС могли подавить реакцию на посторонний антиген. Этот факт установлен

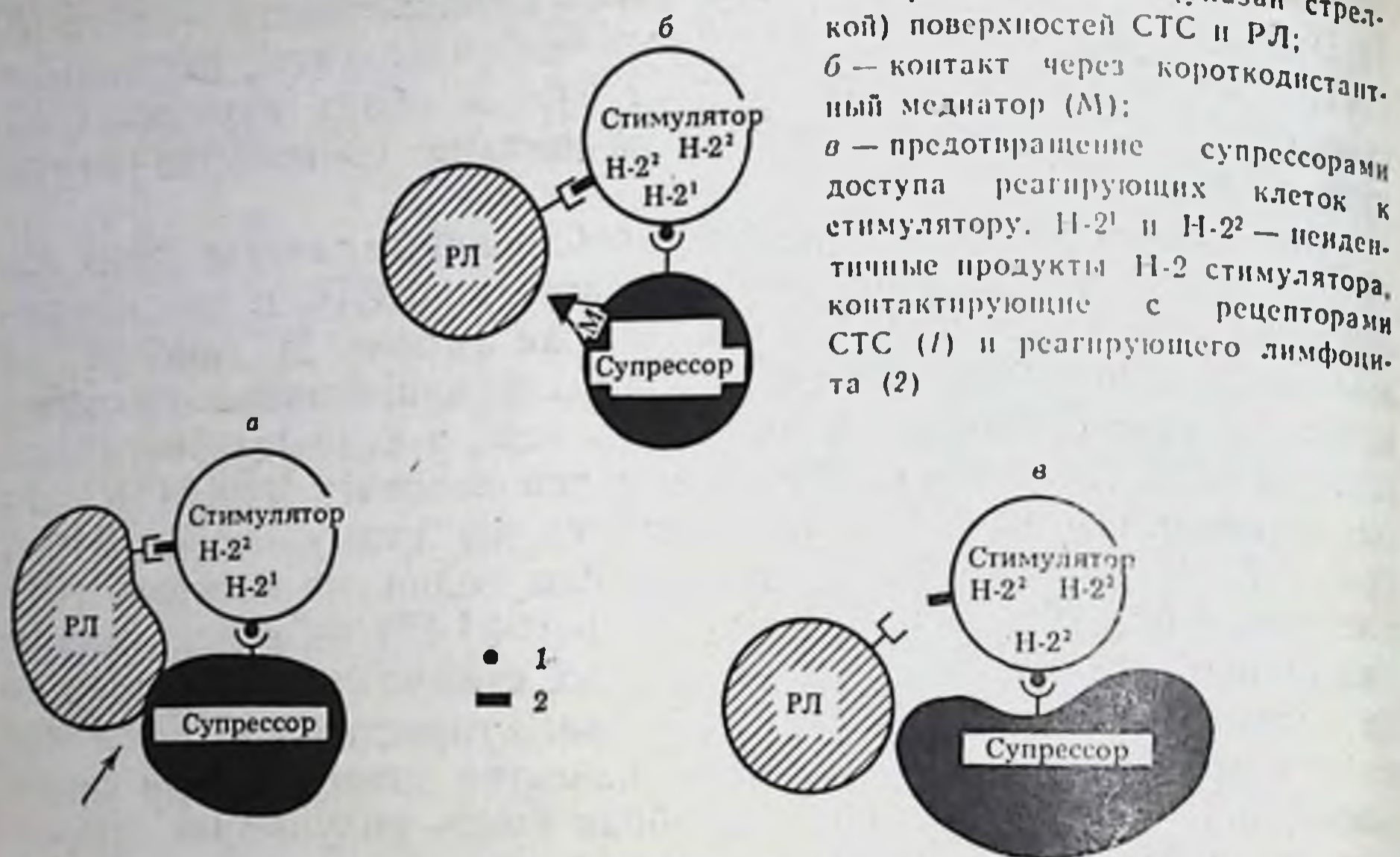


Рис. 19. Альтернативные пути взаимодействия СТС и реагирующих лимфоцитов (РЛ) в МЛС

в случае подавления генерации ЦТЛ [51] или пролиферативной реакции [870] на аллоантиген с помощью СТС, индуцированных в МЛС.

Важно, что тот же феномен полностью воспроизводится *in vivo* — с помощью СТС, индуцированных *in vivo* одним из Н-антигенов и подавляющих при введении мыши генерацию ЦТЛ [635] или реакцию ГЗТ на посторонний продукт МНС, если он локализован рядом с соответствующим антигеном [199, 1574]. Фактор TsF₃, специфичный к гаптену в комплексе с I-J продуктом (гл. IV.2.5.2), также подавляет ГЗТ на иные продукты МНС, если они локализованы на той же КМ [80]. Подобный результат получен при локализации двух разных антигенных детерминант на одной и той же молекуле белка: СТС, реагирующие с определенной детерминантой данного белка (лизоцима или β-галактозидазы), подавляют реакцию Т-хелперов к иной детерминанте того же белка, что приводит к торможению образования антител ко всей молекуле [699]. Совпадение результатов в разных моделях СТС означает, что описанный нами феномен отражает общую закономерность, обозначенную как «сцепленная супрессия» [276], или «супрессия одного корня» [80].

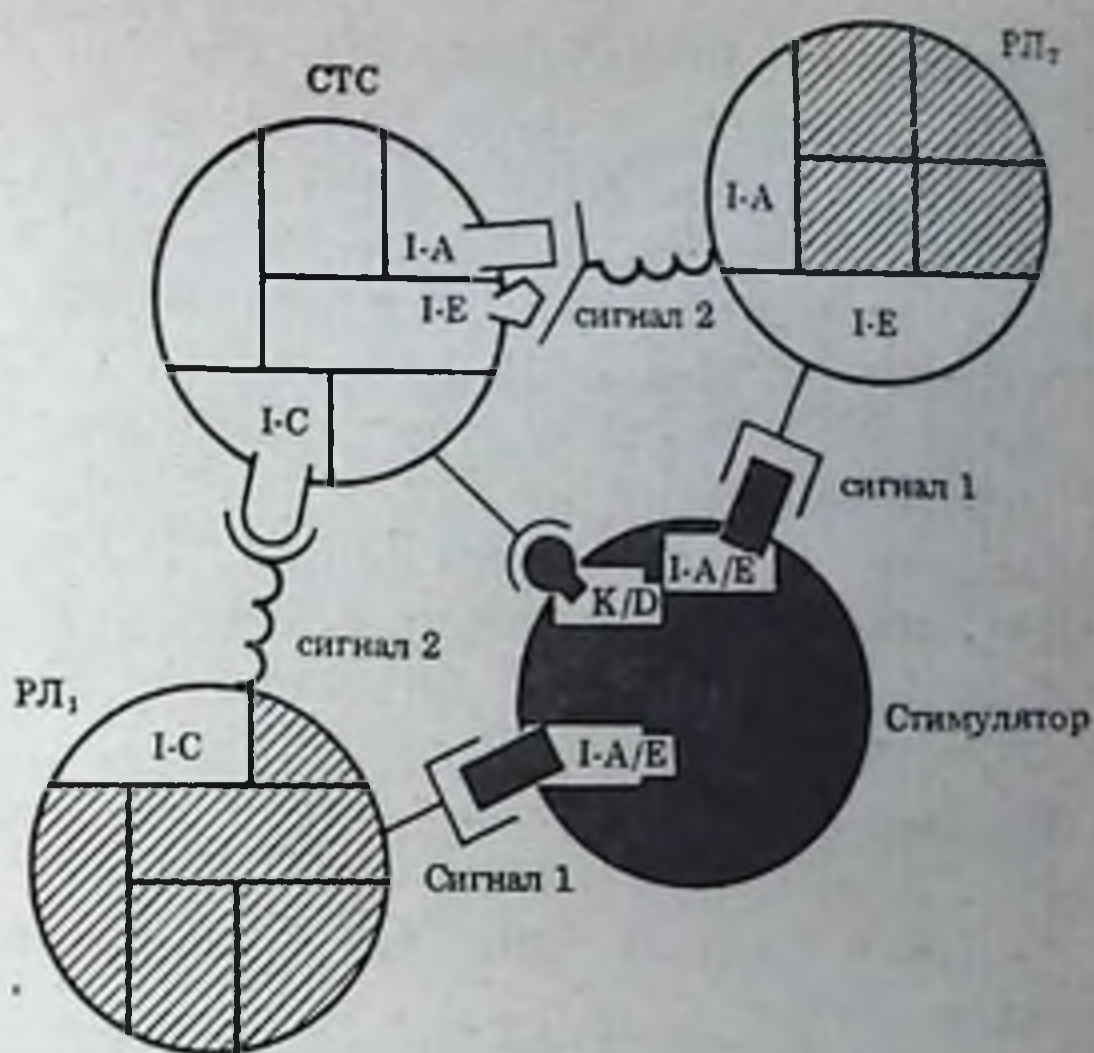
Таким образом, ограничения функции СТС связаны с необходимостью выполнения нескольких условий: а) контакта рецептора СТС (или TsF) с антигеном, который его индуцировал; б) совпадения СТС (или TsF) с подавляемыми клетками по тому или иному продукту I-района МНС (в зависимости от типа антигена, который индуцировал СТС); в) экспрессии этого про-

Рис. 20. Генетические и физические условия взаимодействия СТС с подавляемыми Т-лимфоцитами (модель «интеракционной» рестрикции супрессии)

РЛ₁ — реагирующий (пролиферирующий) Т-лимфоцит, совпадающий с СТС по молекуле I-C.

РЛ₂ — по молекулам I-A+I-E. Сигналы 1 и 2 см. в тексте.

Белые, черные и заштрихованные области — продукты различных аллелей районов/субрайонов МНС. Локализованы ли сигнальные молекулы I-C и I-A+I-E (распознаваемые «интеракционными» рецепторами РЛ) на одном и том же СТС, как показано на рисунке, или на разных СТС, остается невыясненным



дукта МНС на поверхности СТС (или в структуре TsF); г) близкого размораживания СТС и подавляемой клетки.

Эти факты позволили предположить, что на поверхности реагирующего Т-лимфоцита (мишень для СТС) в ходе взаимодействия его рецепторов с антигеном (в контексте МНС) возникает иная рецептор, специфичный к сингенной молекуле I-района — I-A_T или I-C — экспрессированной соответственно на TsF анти-LDH_B [809] или на СТС анти-H-2 [278]. На рис. 20 отражена модель двойного независимого распознавания реагирующим Т-лимфоцитом, который последовательно реагирует на аллоантиген стимулятора антигенсвязывающим рецептором (сигнал 1) и на сингенную I-C (или I-A+I-E) молекулу супрессора иным рецептором, возникшим после реакции на аллоантиген (сигнал 2). Основу этой модели составляет гипотеза «интеракционной» рестрикции супрессии». Ее принципиальное отличие от обычной «презентационной» рестрикции состоит в том, что контакт рецептора Т-клетки с сингенной молекулой МНС мембраны СТС не зависит от того, на какие молекулы МНС (аллогенные или сингенные в комплексе с чужеродным пептидом) реагируют другие (антигенсвязывающие) рецепторы той же Т-клетки.

Для выявления рецепторов, ответственных за «интеракционную» рестрикцию, могут быть использованы разные подходы: ингибирование межклеточных контактов в результате инактивации анти-Ia рецептора с помощью антиидиотипических антител к МкАТ, направленным к определенному продукту МНС класса II мембраны СТС [2321a]; специфическая адсорбция Т-клеток на монослое сингенных СТС (или их клонов), содержащих I-C молекулу. Последующая элюция Т-клеток, прикрепившихся к такому монослою, может привести к выделению «интеракционных» рецепторов и изучению их молекулярной структуры.

Другая возможность, обеспечивающая прямое взаимодействие СТС с реагирующим на антиген Т-лимфоцитом (пролифери-

рующим или Т-хелпером), связана со способностью СТС узнавать антиген лишь при условии его ассоциации не с продуктом МНС, а с рецептором Т-клетки, рестриктированным по продукту МНС [94]. Реакция СТС человека в отсутствие антигена на активированные антигеном рецепторы аутологичных Т-клеток хелперной группы (или их клонов) [423] позволила даже размножить и получить стабильную линию СТС, специфичных не к соответствующему антигену (ГА вируса гриппа), а к Т-хелперам той же специфичности [1126]. В этом случае также наблюдается двойное независимое распознавание: СТС (или их предшественники) реагируют на рецептор Т-хелпера (или сцепленную с ним молекулу ТЗ, см. гл. V.5.5.4) и сингенную молекулу МНС класса I на поверхности того же Т-хелпера. В связи с этим экранировка антителами (к ТЗ или к HLA) любой из этих двух молекул на поверхности Т-хелпера приводит к отмене активации СТС [426].

Способность СТС, так же как их предшественников, реагировать не с антигеном, а с идиотипической детерминантой антиген-связывающего рецептора иных Т-клеток, может оказаться существенной для двух процессов: а) дифференцировки предшественников СТС в зрелые $T_{\text{с}}$ в отсутствие антигена, т. е. при их совместной инкубации с иммунными $\text{и}T_{\text{с}}$ [425] или Т-хелперами [426]; б) взаимодействия $T_{\text{с}}$ (и их факторов) с подавляемыми ими Т-клетками — предшественниками хелперов [240], эффекторов ГЗТ [2267], ЦТЛ [733] (возможные механизмы этого подавления обсуждены в гл. IV.2.5.5). Подобное взаимодействие $T_{\text{с}}$ крысы, индуцированных *in vivo* аллоантигеном + антителами к нему, приводит к пролиферативной реакции $T_{\text{с}}$ *in vitro* на сингенные Т-бласты, активированные тем же аллоантигеном, что коррелирует со стойким приживлением аллотрансплантата почки [1130].

Таким образом, «интеракционная» рестрикция супрессии может быть связана с взаимной реакцией двух партнеров (СТС и подавляемых ими Т-клеток) на мембранные компоненты друг друга: в одном случае подавляемая Т-клетка взаимодействует с сингенной молекулой I-района МНС мембраны СТС, в другом — СТС с антигенсвязывающим рецептором подавляемой Т-клетки. Варианты природы, «интеракционной» рестрикции будут, вероятно, детально изучены в ближайшее время.

IV.2.5. Клетки-посредники, гуморальные медиаторы, механизмы и регуляция супрессии

IV.2.5.1. Необходимость межклеточной кооперации для развития супрессии

Из представленных выше данных остается неясным, почему «интеракционная» рестрикция по I-С субрайону, столь важная для реализации эффекта анти-Н-2 СТС, может быть заменена сов-

падением группы иных Ia-молекул (I-A+I-E) между СТС и реагирующими лимфоцитами. Можно предположить, что помимо I-C⁺ T_{с3} в популяции СТС содержится минорный компонент «промежуточных» СТС (I-C⁻), которые сами не подавляют реакцию на антиген, но могут активировать T_{с3} второго порядка в популяции реагирующих клеток с фенотипом Lyt-1-2⁺, I-C⁺. Если T_{с3} не функционируют (при отсутствии их взаимодействия с реагирующими лимфоцитами ввиду неидентичности I-C аллелей), промежуточные СТС, идентичные по комплексу I-A+I-E предшественникам T_{с3} второго порядка, активируют их в МЛС, что приводит к развитию супрессии. Хотя такая возможность в данной системе не исследована, она представляется вполне реальной в свете современных данных о множественных клеточных компонентах, взаимодействие между которыми необходимо для супрессии. В частности, при торможении пролиферации в МЛС неспецифический TsF угнетает реакцию не сам, а с помощью активации акцепторов — радиорезистентных Т-клеток с фенотипом Lyt-1⁺2⁺, возникающих после совместной инкубации TsF в течение 2 дней с нормальными лимфоцитами в отсутствие стимуляторов [156]. Продукентами TsF оказались клетки Lyt-2⁻, а акцепторами TsF — клетки Lyt-2⁺ [349].

Сходные данные получены в МЛС человека [990], а также *in vivo* — при генерации у мышей Т-супрессоров, специфичных к гаптену ТНФ. Угнетение такими Т-супрессорами в лимфоузлах антигензависимой дифференцировки ЦТЛ, лизирующих конъюгированные с ТНФ сингенные КМ, достигается в этом случае лишь при последовательной генерации двух неидентичных субпопуляций Т-супрессоров: одна из них чувствительна, а другая — резистентна к ЦФ [642].

Подобные явления наблюдаются в противоопухолевой системе: экстракт клеток тимуса или селезенки мышей-носителей сингенной фибросаркомы подавляет противоопухолевый иммунитет *in vivo* не сам по себе, а с помощью индукции у мышей Т-супрессоров, специфичных к той же опухоли [1572]. Радиорезистентные индукторы Т-супрессоров, возникающие при регрессии сингенной саркомы Молони, активируют (*in vivo* и *in vitro*) радиочувствительные Т-акцепторы, превращая их в T_{с3}, что приводит к прогрессивному росту той же опухоли [824].

Каскад клеточных взаимодействий, необходимых для развития супрессии, наиболее детально изучен при подавлении ГЗТ [478] и антителообразования [721] к гаптенам, белковым антигенам и ксеногенным эритроцитам. Последовательные этапы таких взаимодействий были выявлены в двух противоположных ситуациях, при которых выделенные из СТС (или секретированные ими) TsF специфически блокировали реакцию на антиген либо только нормальных клеток — афферентная супрессия *in vivo* [2034] или в культуре [983], либо, напротив, только иммунных к тому же антигену клеток — эфферентная супрессия. Последний феномен был выявлен при введении TsF иммунному животному [1196] или при совместном введении TsF с иммунными клетками облученному реципиенту [2042], а также при совместном культивировании TsF с иммунными Т-клетками

[2039], со специфичным клоном Т-хелперов [1061] или с эТ_{гат} [1401]. Во всех этих случаях TsF мог быть адсорбирован соответствующим антигеном, и его супрессорный эффект, как правило, мог быть выявлен на аллогенных клетках, т. е. не был рестриктирован по МНС, хотя, по некоторым данным, напротив, такая рестрикция оказывалась необходимой по части I-района [2039] или по К/D-районам [1401].

Приведенные данные означали, что TsF, специфически реагируя с антигеном, может либо индуцировать развитие супрессии, либо, напротив, прямо подавлять функцию эффекторных Т-клеток, причем генетические условия этих эффектов TsF неоднородны. Из этого следовало, что за индукцию супрессии и ее реализацию, т. е. за начальный и завершающий этапы ее развития, могли быть ответственны разные образцы TsF, продуцированные неидентичными категориями СТС. Не исключалась также возможность существования промежуточных этапов, поскольку активность TsF исчезала после его адсорбции только Т-клетками, которые не являлись Т-хелперами, подавляемыми тем же TsF [2039]. Кроме того, TsF прямо индуцировал — как при его введении мыши [2179], так и в культуре [1593] — новую популяцию Т-супрессоров, специфичных к тому же полипептиду или гаптену. Эти данные привели к открытию и детальному изучению этапов и механизмов межклеточной кооперации TsF₁ (индуктор или супрессоген) → Ts₂ (акцептор или трансдуктор) → Ts₃ (эффектор).

Для того чтобы понять, как действует система продуцируемых медиаторов (TsF₁, TsF₂, TsF₃), необходимо выяснить: особенности биологических свойств и антигенных маркеров каждого из указанных клеточных компонентов, что позволяет их разделять и получать соответствующие Т-гибридомы, изучать в отдельности их и продуцируемые ими TsF на моноклональном уровне; условия, необходимые для активации каждого из них, и их антигенную, идиотипическую и антиидиотипическую специфичность; генетическую рестрикцию контакта каждого TsF с клетками следующего этапа и участие А-клеток в этих контактах; механизмы активации клеток на каждом этапе; молекулярную структуру каждого TsF и его связь с рецепторами соответствующих клеток-продуцентов.

IV.2.5.2. Клеточные компоненты супрессии, этапы и механизмы их взаимодействия

Основной вклад в решение этих вопросов внесли группы исследователей, возглавляемые В. Benacerraf, К. Gershon и Т. Tada, причем наиболее детально изучена система СТС, индуцированных внутривенно конъюгатом клеток сингенной селезенки (КСС) с гаптенами — азобензоларсенатом (АБА) или 4-гидрокси-3-нитрофенил-ацетилом (NP) [730, 2016]. Через 5—7 дней после инъекции из селезенки реципиента можно выделить две субпо-

Таблица 36

Особенности субпопуляций ТС и этапы их взаимодействия при развитии супрессии

Т-супрессоры и их факторы	Ts ₁ и TsF ₁	Ts ₂ и TsF ₂	Ts ₃ и TsF ₃
функции	Супрессор афферентной фазы, индуктор клеток Ts ₂	Акцептор фактора TsF ₁ , активатор клеток Ts ₃ , прямой супрессор образования антител В-клетками CRI ⁺	Акцептор фактора TsF ₂ , супрессор эфферентной фазы
Условия прямой индукции	Антиген в/в *	TsF ₁ * ²	Антиген п/к * ³ + TsF ₂
А-клетки (I-J ⁺) для индукции	Антитела к идиотипу (анти-CRI) в/в	Конъюгат идиотипа (CRI) с КСС в/в	Антитела к идиотипу (анти-CRI) в/в
Маркер	Не требуются * ⁴	Требуются (презентируют TsF ₁) * ⁵	Требуются (презентируют антиген) * ⁵
Lyt	1+2 ⁻	1+2 ⁺	1-2 ⁺
I-J	+	+	+ или -
Идиотип	+	-	+
Антиидиотип	-	+	-
Igh-C	-	-	-
Чувствительность предшественников к ЦФ (20 мг/кг)	+	-	+
Прямой контакт (связывание без МНС)	С антигеном	С идиотипом	С антигеном
Рестрикция функции по			
МНС (I-J)	-	+	+
Igh-V	-	+	+

* Конъюгат гаптена (АБА, NP) с КСС [730, 2016, 2203], с I-J⁺ макрофагами [2121] или с пул-лулаком [2047]. Ts₁ могут быть индуцированы также в/бр инъекцией комплекса тирозин-гап-тен в адьюванте [940] или повторными в/бр инъекциями ГЦ [2014].

*² TsF₁ индуцирует Ts₂ в селезенке без антигена (АБА, NP) [2016] или в присутствии малой до-зы антигена (GAT, GT, TNBS) [1593, 2110].

*³ Ts₃ из регионарных лимфоузлов отделяется от иных Т-клеток (хелперов, эТ_{ГЗТ}) за счет экс-прессии I-J маркера.

*⁴ При индукции Ts₁ конъюгатом NP с КСС гаптен должен быть представлен на поверхности I-J⁺ МФ, резистентных к ЦФ и γ-облучению дозой в 500 рад [2121].

*⁵ МФ, необходимые для активации Ts₂ и Ts₃, отличаются ЦФ- и радиочувствительностью [478].

пуляции ТС — Ts₁ и Ts₂, различающиеся по фенотипу мембран-ных маркеров, иммунологической специфичности, биологическим свойствам, генетической рестрикции и функциональной активнос-ти (табл. 36).

В этих экспериментальных моделях внутривенная инъекция конъюгатов гаптена с КСС в большой дозе ($3-5 \cdot 10^7$ клеток) приводит к возникновению толерантности, т. е. избирательной индукции указанных субпопуляций СТС без активации иных Т-субклассов (хелперов и эффекторов ГЗТ, для образования которых необходима подкожная инъекция тех же конъюгатов). Тем не менее такие же субпопуляции СТС выявляются и в ходе обычного иммунного ответа, т. е. при индукции иных Т-субклассов. В этом случае, однако, активность СТС реализуется лишь через несколько дней (или недель) после пика положительного иммунного ответа, что весьма существенно для его регуляции (см. след. раздел).

Во всех случаях Ts_1 с фенотипом $Lyt-1^{+}2^{-}$, $I-J^{+}$, несущие антигенсвязывающий участок и доминантный перекрестно реагирующий идиотип (cross-reactive idiotype, CRI), могут быть отделены от остальных Т-клеток с помощью адсорбции—элюции на пластике, покрытом антигеном (например, комплексом АБА—БСА) или анти-CRI антителами. Очищенные таким образом Ts_1 , так же как клоны полученной из них Т-гибридомы, вызывают афферентную супрессию ГЗТ при введении как сингенным, так и аллогенным мышам, т. е. их эффект не рестриктирован по МНС [471, 1990]. Такими же свойствами и тем же действием обладает TsF_1 , экстрагированный из Ts_1 (или спонтанно секретированный ими в культуральную среду в течение 48 ч) и очищенный указанными методами, а также моноклональный TsF_1 , секретированный клетками Т-гибридом Ts_1 , специфичных к NP [1508, 1998] или АБА [2026]. В связи с указанными особенностями моноклональные Ts_1 могут быть убиты в присутствии комплемента антителами к I-J или к соответствующему идиотипу. Поскольку в обоих случаях (при обработке Ts_1 не только антиидиотипом, но и антителами к I-J) инактивация Ts_1 предотвращается добавлением соответствующего гаптена, не исключена возможность интимной ассоциации I-J молекул с антигенсвязывающим центром Ts_1 [1509].

Напротив, Ts_2 из селезенки того же реципиента, совпадая с Ts_1 только по экспрессии продукта I-J, отличается от Ts_1 по всем остальным признакам: несет антиген $Lyt-2$, не содержит идиотипа и не реагирует с антигеном, но прямо связывается с фиксированными на пластике идиотипсодержащими CRI⁺ антителами к соответствующему антигену [471, 2203] и может быть убит такими антителами в присутствии комплемента [2032, 2047]. Теми же свойствами обладает его продукт TsF_2 , который в отличие от TsF_1 связывается не с антигеном, а с иммунными к этому антигену клетками гибридомы Ts_1 , содержащими соответствующий идиотип. Особенно четко указанные свойства Ts_2 и секретируемого ими TsF_2 установлены с помощью специальных гибридом Ts_2 , подавляющих ГЗТ к NP [1374] или образование антител к ГЦ [2032].

Таким образом, на мембране Ts_2 (и в структуре молекулы TsF_2) экспрессирован антиидиотип, направленный к доминантной структуре идиотипа (CRI при иммунизации АБА или ГЦ и NP⁰ при иммунизации NP), что обеспечивает возможность для Ts_2 взаимодействовать с идиотипсодержащим TsF_1 .

Реальность такого взаимодействия связана с резким ограничением набора идиотипов, экспрессированных на клонах Ts_1 -гибридом, по сравнению с антителами, специфичными к тому же ГЦ [2032]. Это соответствует ограничению разнообразия антиидиотипов Ts_2 , которые, хотя и направлены к главному идиотипу анти-NP (NP^b), тем не менее не связываются с соответствующими МкАТ [1845].

Хотя, как выше указывалось, Ts_2 выявляются в селезенке одновременно с Ts_1 после внутривенной инъекции гаптенизированных КСС, в действительности в отличие от Ts_1 антиидиотипические Ts_2 индуцируются не антигеном, а идиотипсодержащим TsF_1 . Этот факт был прямо установлен с помощью внутривенной инъекции мышам без антигена очищенного [471, 2203, 2016] или моноклонального TsF_1 , секретированного Т-гибридомой [1508]. Индукция Ts_2 воспроизводится *in vitro* за 2 дня инкубации TsF_1 с клетками нормальной селезенки: образовавшиеся Ts_2 угнетают *in vivo* синтез антител к тому полипептиду, который вызвал образование TsF_1 [651]. TsF_2 , ответственный за супрессорные эффекты Ts_2 , секретируется клетками Т-гибридомы самопроизвольно [1374] или под действием TsF_1 [2032].

В пользу индукции идиотипсодержащим TsF_1 антиидиотипических Ts_2 свидетельствует еще несколько фактов: а) удаление предшественников Ts_1 с помощью инъекции ЦФ отменяет индукцию антигеном не только Ts_1 , но и Ts_2 , несмотря на резистентность предшественников Ts_2 к ЦФ [2203]; б) если линии донора и реципиента TsF_1 различаются по аллелю *Igh-V* гена, Ts_2 у реципиента образуются, но не обнаруживаются в собственном организме: они могут быть выявлены только при их взаимодействии не с сингенными клетками реципиента, а с клетками донора или иной линии, идентичной донору по *Igh-V* гену (феномен «псевдорестрикции»). Это означает, что реализация функции Ts_2 зависит от их взаимодействия с индуцирующим их идиотипом TsF_1 , экспрессия которого определяется аллелем *Igh-V* гена донора TsF_1 [2017, 1508]; в) Ts_2 могут быть индуцированы не только без антигена, но и без TsF_1 ; последний может быть заменен однократной инъекцией СРІ-содержащих антител, конъюгированных с КСС [2013, 732] (инъекция в этих опытах чистых анти-антител, напротив, индуцировала Ts_1 без введения антигена).

Таким образом, активация промежуточного Т-супрессор-трансдуктора (Ts_2), ответственного за передачу сигнала следующему Ts -компоненту, связана с реакцией не на антиген, а на идиотип активированных антигеном клеток Ts_1 .

Введение иммунным животным очищенных или моноклональных Ts_2 или TsF_2 , так же как инкубация иммунных Т-клеток с Ts_2 или с TsF_2 *in vitro*, приводит к эфферентной супрессии как образования антител [2044, 2032], так и ГЗТ [471, 2016, 1374], причем один и тот же моноклональный TsF_2 угнетает обе эти реакции [1846]. В отличие от афферентной эфферентная супрессия строго рестриктирована: для ее развития необходима идентичность между источником TsF_2 и объектом его действия — иммун-

ными Т-лимфоцитами — по аллелям двух генов — I-J и Igh-V (см. табл. 36).

Необходимость такой рестрикции требовала объяснения, поскольку подавляемые $\text{ЭТ}_{\text{ГЗТ}}$ не содержат ни I-J антигена, ни — в некоторых случаях — идиотипических детерминант. Оказалось, что TsF_2 действительно не взаимодействует с подавляемыми эффекторными Т-лимфоцитами ($\text{ЭТ}_{\text{ГЗТ}}$, $\text{T}_{\text{х3}}$), а активирует третью субпопуляцию супрессоров — Ts_3 , предшественники которой (пTs_3) появляются в регионарных лимфоузлах через несколько дней после подкожной иммунизации и содержатся в них вместе со своими потенциальными КМ — эффекторными Т-лимфоцитами. Решающая роль Ts_3 в супрессорных эффектах следует из того, что их избирательное удаление из иммунных лимфоузлов отменяет всю супрессию, вызванную Ts_1 , Ts_2 или их факторами. Элиминация Ts_3 при сохранении иных популяций Т-клеток (хелперов, $\text{ЭТ}_{\text{ГЗТ}}$) в иммунных лимфоузлах достигается благодаря избирательным особенностям пTs_3 : а) высокой их чувствительности к малой дозе ЦФ (20 мг/кг веса) и тимэктомии взрослых мышей [2014, 1990, 2047], не влияющих на функции иных эффекторных Т-клеток; б) способности пTs_3 прилипать к нейлоновой вате [2044]; в) экспрессии на пTs_3 нескольких маркеров — I-J и Lyt-2 — антигенов, CRI-идиотипа (см. табл. 36). В связи с этим супрессорные эффекты TsF_2 отменяются при его введении обработанным ЦФ иммунным животным или при его инкубации *in vitro* с иммунными клетками, лишенными тех Т-лимфоцитов, которые прилипают к нейлону [2044], несут I-J [1990] или CRI [2019].

Индукцированные антигеном *in vivo* Ts_3 могут быть не только избирательно элиминированы антителами к Lyt-2 , I-J или CRI, но, напротив, выделены за счет их способности специфически связываться с фиксированным антигеном или антиидиотипическими антителами, а затем гибридизованы с клетками тимомы. Полученные клоны Т-гибридомы [1507] или линии, выращенной ИЛ-2 [1037], имели тот же фенотип клеток Ts_3 , секретировали TsF_3 самопроизвольно или 6 ч спустя после 2-часовой предварительной инкубации с моноклональным TsF_2 в отсутствие антигена [1375]. Выделенный таким образом TsF_3 подавлял обе фазы — афферентную и эфферентную — не только ГЗТ, но и пролиферации Т-клеток, функции Т-хелперов и даже образования антител к соответствующему гаптену при прямом взаимодействии с I-J- В-лимфоцитами [1846]. Поскольку TsF_3 мог быть экстрагирован из цитоплазмы клеток этих клонов, а его секреция под действием TsF_2 не связана с синтезом *de novo*, стало очевидным, что функция TsF_2 состоит лишь в обеспечении выхода готового фактора TsF_3 из зрелых клеток пTs_3 , предварительно активированных антигеном.

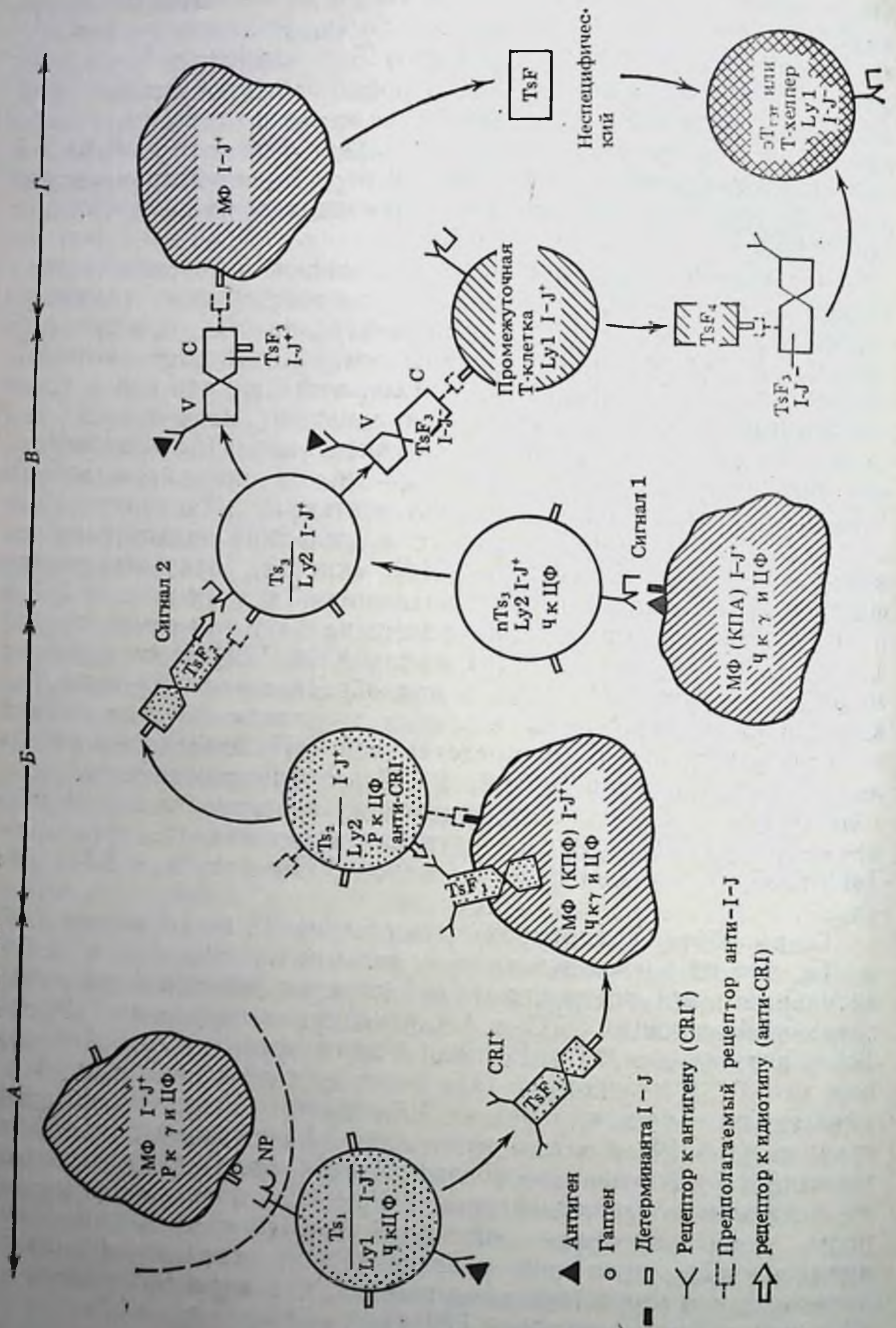
Сложность такого, казалось бы, простого процесса, происходящего в течение лишь нескольких часов, — взаимодействия TsF_2 с пTs_3 — связана с необходимостью совпадения между ни-

ми по трем параметрам: индуцирующего их антигена, I-J-продукта, представленного в факторе TsF_2 и на поверхности клеток pTs_3 , и аллеля Igh-V гена клеток Ts_2 и Ts_3 . Различие по любому из этих признаков отменяет функцию Ts_3 — секрецию TsF_2 и развитие супрессии. Даже если pTs_3 обрабатывается смесью двух TsF_2 , идентичных по специфичности, но не по генотипу своего источника, так что один из них совпадает с pTs_3 по аллелю I-J гена, а другой — по аллелю Igh-V гена, pTs_3 не активируются, несмотря на то что оба фактора связываются с их поверхностью [1376, 1375].

Очевидно, что в основе Igh-V-рестрикции лежит контакт антиидиотипической структуры TsF_2 с соответствующей идиотипической детерминантой, экспрессированной на pTs_3 , при условии, что они, во-первых, индуцированы тем же антигеном, который вызвал каскад $Ts_1 \rightarrow Ts_2$, и, во-вторых, несут аллель Igh-V гена, контролирующей соответствующий идиотип. Ясно также, что такого контакта недостаточно для активации pTs_3 . Оказалось, что механизм второй рестрикции — по I-J продукту — между TsF_2 и pTs_3 связан с тремя обстоятельствами. 1. Ts_2 генерируются под действием TsF_1 , только если последний представлен на поверхности I-J⁺ А-клеток — КПФ (клеток, презентирующих фактор); при этом рестрикция возникших Ts_2 (так же как TsF_2) по I-J не зависит от генотипа источника TsF_1 или самих клеток Ts_2 , а определяется только генотипом КПФ [79]. В частности, у мышей-гибридов $F_1(P_1 \times P_2)$ могут образоваться два типа Ts_2 , каждый из которых рестриктирован по аллелю I-J гена именно того родителя, чьи КПФ представляли TsF_1 , независимо от аллеля I-J гена источника TsF_2 . 2. pTs_3 индуцируются антигеном, только если последний представлен на поверхности I-J⁺ А-клеток — КПА [1228]. 3. Последующая активация pTs_3 фактором TsF_2 требует совпадения по I-J между КПФ для Ts_2 и КПА для Ts_3 .

Таким образом, необходимость рестрикции по I-J между TsF_2 и pTs_3 для их взаимодействия — явление иллюзорное: в действительности эта рестрикция определяется генотипом не самих взаимодействующих СТС, а А-клеток, презентирующих TsF_1 для Ts_2 и антиген для pTs_3 . В связи с этим возникает предположение, что Ts_2 и их продукт TsF_2 несут не только собственный I-J антиген, но и рецептор к тому I-J антигену, который был представлен на КПФ. Контакт этого анти-I-J рецептора с соответствующим I-J антигеном на поверхности Ts_3 может служить одним из механизмов взаимодействия TsF_2 с pTs_3 . На такую возможность указывает отмена активации фактором предполагаемых аналогов pTs_3 , если они предварительно обработаны анти-I-J антителами в отсутствие комплемента, т. е. если I-J антиген на их поверхности экранирован [2044].

Модель механизмов кооперации $Ts_1 \rightarrow Ts_2 \rightarrow Ts_3$, основанная на совокупности изложенных данных, представлена на рис. 21. Из нее следует, что в основе последовательных этапов активации



лежит единый принцип взаимодействия «фактор—антифактор—фактор», который реализуется по меньшей мере в двух процессах: идиотип→антиидиотип→идиотип и I-J→анти-I-J→I-J. В первом случае индукция антиидиотипа на клетках Ts_2 идиотипнесущими клетками Ts_1 , активированными антигеном, приводит к возможности взаимодействия Ts_2 с идиотипом pTs_3 , возникающим после их активации тем же антигеном, что и Ts_1 . Во втором случае контакты I-J→анти-I-J→I-J, возможны в связи с экспрессией I-J продуктов как на всех Ts-клетках (см. табл. 36), так и на А-клетках, презентирующих TsF_1 и антиген.

Приведенные факты позволяют уточнить трактовку последовательных событий дифференцировки Ts-клеток. В частности, становится ясно, что Ts_1 не ответственны за афферентную, а Ts_2 — за эфферентную супрессию: обе они реализуются клетками Ts_3 . Генетическая рестрикция взаимодействия Ts_2 → Ts_3 по I-J антигену в действительности определяется генотипом не этих лимфоцитов, а А-клеток, презентирующих фактор и антиген; хотя Ts_1 и Ts_3 аналогичны друг другу по всем свойствам, за исключением Lyt -маркеров (см. табл. 36), условия их активации и их функции кардинально различаются; наконец, несмотря на связывание Ts_2 и TsF_2 с идиотипом, экспрессированным на pTs_3 , этого контакта оказывается недостаточно для активации Ts_3 . Кроме того, описанная система кооперации отнюдь не универсальна: она проявляется, только если на СТС экспрессирован доминантный идиотип — при их индукции конъюгатами, включающими гаптены АБА или NP, а также гемоцианином. Напротив, три последовательные субпопуляции Ts_1 → Ts_2 → Ts_3 , индуцированные другими гаптенами — ТНФ, ДНФ, пикрил-хлоридом, некоторыми полипептидами (GAT, GT) или эритроцитами барана, существенно отличаются от описанной выше системы.

←
Рис. 21. Условия, последовательные этапы активации и характеристика компонентов супрессии антителообразования и ГЗТ при реакции на антигены и гаптены

А — активация Ts_1 и секреция TsF_1 : реакция на нативный антиген без участия А-клеток (пунктиром обозначен минорный вариант при иммунизации NP, представленном в комплексе с молекулой I-J МФ);

Б — активация Ts_2 при реакции на идиотип TsF_1 , представленного на МФ I-J+ (без участия антигена), и секреция TsF_2 , содержащего антиидиотип и рецептор к сингенной молекуле I-J;

В — активация Ts_3 : 1-й сигнал — реакция рецептора предшественника Ts_3 (pTs_3) с антигеном в комплексе с I-J МФ; 2-й сигнал — взаимодействие идиотипа рецептора Ts_3 с антиидиотипом TsF_2 и молекулы I-J Ts_3 с рецептором анти-I-J TsF_2 . Следствие — секреция TsF_3 , несущего антигенсвязывающий рецептор в V-домене и рецептор анти-I-J — в С-домене (детерминанта I-J может присутствовать или отсутствовать на TsF_3 в зависимости от антигена, см. табл. 37);

Г — реализация супрессии фактором TsF_3 с помощью активации либо МФ I-J+, либо промежуточной клетки Lyl I-J+ (в результате их взаимодействия с анти-I-J рецептором TsF_3 , активированным антигеном). В первом случае МФ секретирует неспецифический TsF_4 , активированным антигеном). Во втором — промежуточный фактор TsF_4 I-J+ доставляет TsF_3 I-J- к Т-В хелперу.

Р — резистентные, Ч — чувствительные к γ -облучению и ЦФ клетки

В частности, TsF_1 , индуцированный GAT, может подавлять образование антител к GAT в культуре клеток — либо аллогенных, либо только идентичных ему по I-J-продукту, в зависимости от того, индуцирован ли этот фактор у мышей арсаактивной (DBA/1) или реактивной к GAT линии (C57BL/6) [1917]. Строгая генетическая рестрикция по I-J необходима также для эффекта TsF_1 , индуцированного конъюгатом ТНФ с КСС [2110]. В обоих случаях для образования Ts_2 под действием TsF_1 необходимо также присутствие антигена (GAT или ТНФ), а Ts_2 специфичен не к идиотипу, а к антигену. Ts_3 , подавляющие ГЗТ к пикрил-хлориду, подобные Ts_3 по чувствительности к ЦФ и тимэктомии взрослых животных, а также по экспрессии $Lyt-2$ и I-J, в отличие от Ts_3 могут быть активированы посторонним антигеном и приобретают способность связываться с ним лишь после обработки фактором, секретированным и T_c [2308].

Описанные выше и T_c , активированные эритроцитами барана, хотя и подобны Ts_1 по своим маркерам, рестриктированы по $Igh-V$ -гену, не имеющему отношения к идиотипу (гл. IV.1), а индуцированные ими Ts_2 не активируют и Ts_3 , а, по-видимому, сами в них превращаются [1315]. Возникшие при этом эффекторные Ts_3 , хотя и несут обычный для них фенотип $Lyt-1-2^+$ и секретируют TsF_3 (обозначенный $Ly-2 TsF$), лишены I-J продукта. Наконец, при иммунизации конъюгатом КСС с ДНФ афферентные Т-супрессоры (аналог Ts_1) не только не индуцируют Ts_2 , но, напротив, нейтрализуют их активность [1366].

IV.2.5.3. Идиотипы Т-супрессоров при регуляции обратной связи в ходе иммунного ответа

Представленная на рис. 21 модель может отражать естественный процесс — активный способ негативной регуляции иммунного ответа. Резкое снижение обычной реакции ГЗТ к гаптену 3—6 дней спустя после ее пика обусловлено не уменьшением частоты $\varepsilon T_{гзт}$ в лимфоузлах, а активацией Ia^+ Т-супрессоров, которые обнаруживаются в тех же иммунных лимфоузлах одновременно с $Ia^- \varepsilon T_{гзт}$ (различие экспрессии Ia -маркеров позволяет их разделить). Кратковременная обработка этих специфичных к антигену Т-супрессоров, взятых на пике иммунного ответа (6-й день), аутоантиидиотипическими антителами, полученными из сыворотки иммунизированных мышей после снижения ГЗТ (на 9—15-й дни), достаточна для подавления функции находящихся в том же клеточном пуле $\varepsilon T_{гзт}$. По-видимому, эти Ia^+ СТС представляют собой аналог Ts_3 , сначала индуцированный антигеном, а затем активированный естественно возникшими в ходе иммунного ответа антиидиотипическими антителами. Этот процесс обеспечивает естественную регуляцию ГЗТ [2015], обозначенную как «регуляторная петля обратной связи» [1403], которая основана на способности Т-супрессоров, активированных антиидиотипом, реагировать на соответствующую детерминанту идиотипа — идиотоп. Хотя антитела при этом образуются, они лишены соответствующего идиотипа [507] вследствие прямого подавления идиотопспецифическими СТС пролиферации В-клеток, экспрессирующих данный идиотоп на своей поверхности [488]. Частота таких узкоспециализированных СТС составляла 14% клеток селезенки [1526], что указывало на бурную пролиферативную реакцию их предшественников на антиидиотипические антитела в комплексе с антигеном. Подобные СТС индуци-

рованы тем же методом за 3 дня в культуре [1023]; однако особенно эффективно массированное введение мышам МКАТ к идиотипу анти-АБА антител, что приводит в отсутствие антигена к индукции клеток Ts_3 , специфически связывающихся с АБА и угнетающих эффекторную фазу ГЗТ к АБА [2079].

Наиболее существенно, что решающую роль как в образовании Т-супрессоров, так и в реализации их эффекта могут играть не антитела к идиотипу Ig, а факторы иных Т-супрессоров, которые специфически реагируют с идиотипической или антиидиотипической детерминантой. Такие факторы подавляют не только экспрессию соответствующего идиотипа на антителах к гаптену [849], но и генерацию ЦТЛ, специфичных к тому же гаптену [733]. Поскольку эффекты таких TsF рестриктированы не по МНС, а по аллотипу Ig, который определяет экспрессию данного идиотипа, очевидно, что для реализации супрессии в этих случаях необходимо взаимодействие TsF с соответствующим идиотипом КМ.

Важнейшая физиологическая функция антиидиотипического фактора клеток типа Ts_2 , которые реагируют не с антигеном, а с идиотипом, состоит в прекращении иммунного ответа (ГЗТ и образования антител) после пика его развития в обычных условиях иммунизации, т. е. без введения антиидиотипов и развития толерантности. Этот факт установлен при внутрибрюшинном введении мышам конъюгата триметиламмония с тирозином в адьюванте [940] или фосфорилхолина с микобактериями [1985]. Индукция антиидиотипических супрессоров Ts_2 одновременно с развитием ГЗТ при внутривенном введении ТНФ-КСС в малой (не толерирующей) дозе позволила получить Т-гибридому, обладающую той же функцией — блокировкой ГЗТ [29].

Не исключена возможность, что такая же физиологическая функция клеток Ts_2 ($Lyt-1-$, $2+$), специфичных к носителю [841, 979], терминирует образование антител к гаптену после пика иммунного ответа. Хотя в этом случае потенциальные СТС генерируются одновременно с Т-хелперами, для реализации активности СТС может понадобиться описанный выше каскад клеточных взаимодействий, что замедляет функцию СТС по сравнению с Т-хелперами. Необходимо также иметь в виду, что антиидиотипические Ts_2 могут реализовать свой супрессорный эффект не только через Ts_3 , тормозящих функцию Т-хелперов, но и прямо (с помощью фактора TsF_2) прекращать секрецию Ig в результате контакта с поверхностным Ig В-клеток. Возможно, что именно этим объясняется разделение 32 супрессорных Т-гибридом, полученных в одних и тех же условиях, на две категории [1985]. Одна из них (идиотип+) специфически подавляет синтез антител к фосфорилхолину (эффект Ts_3), а другая — только секрецию IgE антител, независимо от их специфичности (прямой эффект Ts_2 на В-клетки, синтезирующие IgE).

Совокупность изложенных данных не только подтверждает теорию иммунной сети [950], ответственной за регуляцию иммунитета, но и указывает на то, что физиологическое обеспечение обратной связи антиидиотипическими антителами и TsF связано с активацией вариантов эффекторных СТС, экспрессирующих на своей поверхности либо соответствующий идиотип, либо рецепторы к нему.

Такие, казалось бы, чисто теоретические исследования регуляторных механизмов в индукции СТС имеют важнейшие прикладные аспекты, связанные с трансплантационным и противоопухолевым иммунитетом. Т-супрессоры, специфичные к аллоантигену и реагирующие на идиотип сингенных Т-бластов, которые индуцированы тем же аллоантигеном, ответственны за стойкое приживание трансплантата почки [1130]. Т-супрессоры, специфичные к алло- или идиотипической детерминанте Ig данной миеломы, подавляют не только синтез Ig ее клетками [33], но и пролиферацию этих клеток в культуре [587], что приводит к торможению ее роста *in vivo* [933]. Более того, ЦТЛ (с фенотипом Ly2, I-J⁻), специфичные к идиотипу миеломы, ассоциированному с продуктом МНС на ее поверхности, прямо лизируют клетки этой миеломы [2268]. Противоопухолевые ЦТЛ, специфичные к фибросаркоме, так же как Т-супрессоры, несут на своей поверхности идиотипическую детерминанту, которая индуцирует антиидиотипические ЦТЛ, лизирующие противоопухолевые ЦТЛ, что приводит к отмене противоопухолевого иммунитета [586]. Таким образом, антиидиотипическая реакция при противоопухолевом иммунитете приводит к тому, что функции СТС и ЦТЛ перекрываются: ЦТЛ участвуют в регуляции иммунного ответа, а СТС прямо тормозят рост опухоли.

IV.2.5.4. Молекулярная структура

медиаторов взаимодействующих компонентов СТС

Большое количество гуморальных TsF различается по условиям образования, химической природе, объекту, механизмам и специфичности действия.

Изучение специфических TsF, блокирующих реакцию только на тот антиген, который индуцировал СТС, привело к открытию нового класса молекул, узнающих антиген, но не являющихся Ig и не несущих антигенные детерминанты ни одного из классов Ig. Анализ молекулярной структуры TsF оказался возможным в связи с получением моноклональных TsF, секретированных клонированными Т-гибридами и стабильными линиями СТС, а также с помощью аффинной хроматографии на антигенном иммуносорбенте и (или) на фиксированных антителах к I-J-продукту, который во многих случаях входит в структуру TsF. Это свойство отличает I-J-молекулу от иных мембранных маркеров клеток-продуцентов TsF (Thy-1, Lyt-1, Lyt-2), которые обычно в TsF не содержатся. Хотя все три категории специфических TsF — индукторные, акцепторные и эффекторные — ингибируют иммунные реакции, в первых двух случаях эта функция реализуется посредством активации эффекторных субпопуляций СТС, и только в последнем случае мишенью TsF могут служить подавляемые им Т-лимфоциты (Т_{хэ}, эТ_{гэт}, пролиферирующие клетки). Из этих трех категорий факторов наиболее неоднородны индукторные TsF, различающиеся в зависимости от антигенной системы (табл. 37).

Таблица 37 Молекулярные свойства специфических факторов Т-супрессоров

Фактор	Антиген	Метод получения и очистки *	Цепи	Маркеры	Свойства	М. м., кДа
Индукторный TsF ₁	GT → DBA/1*2	1 → 3	Две (S=S)	H: Id ⁺ , I-J ⁻ L: Id ⁻ , I-J ⁺	Гидрофобный гликопротеид	24
	GAT → DBA/1*2	2a → 3	Одна			
	GAT-МФ → C57BL*3 или → новорожденный	МРНК 16S → синтез 2a → 3	Одна	Id ⁺ , I-J ⁺ Id ⁺ , I-J ⁺	Протенин	29—30*4 19
	GAT, GT	2в → 3 2a → 3	Одна	Id ⁺ , I-J ⁺	Гликопротеид, чувствительный к рН 3,0 и трипсину, термолабильный	18*4
Акцепторный/эф-факторный TsF ₂ *5	ГЦ	1 → 3 2a → 3 МРНК 13S МРНК 11S 2a → 3a	Две (S=S) Две: H и L Две (S=S)	H: Vt ⁺ , I-J ⁻ L: Vt ⁻ , I-J ⁺ Те же	Цепи ассоциируются независимо от гаплотипа MHC	66 (42+35)
	LDH _B	1 → 3a	Две: H и L	Те же H: Vt ⁺ , Ia ⁻ L: Vt ⁻ , I-A _B ⁺ /I-E _B ⁺	Гликопротеид	45 (H)+ 28 (L) 29—34 (H) 25—27 (L) 120—160 (86+37)
	ЭБ	2б → 3	Одна из 2 доменов	1-й: Vt ⁺ , I-J ⁻ 2-й: Vt ⁻ , I-J ⁻ Vt ⁺ , Id ⁺ , I-J ⁻		70 (24+45)
	ЭБ АБА	2в → 3 1 → 3 2a → 3 2в → 3	Одна	Id ⁺ , I-J ⁻ I-J ⁻ I-J ⁻ Vt ⁺ , I-J ⁺	рI 4,9 Чувствителен к протеазам	68 92
Эффекторный TsF ₃	TNBS	2б	Одна			
	ГЦ NP	2a	Две (S=S)			70 (25+45) 75

* 1 — экстракт клеток, разрушенных ультразвуком. 2 — секрция в среду: из Т-гибридом (2a). из стабильной линии (2б). из иммунных клеток + антиген (2в). 3 — очистка на колонке, покрытой антигеном или МКАТ к I-J продукту (в случае 3а использованы МКАТ к I-A_T или I-E_T). *2 Антиген вводится мышам ареактивной линии. *3 Антиген вводится мышам реактивной линии. *4 Образуют агрегаты — 65 кДа. *5 При иммунизации указанными антигенами акцепторный и эффекторный факторы не различаются и специфически реагируют с антигеном, подобно TsF₂. Сокращения: Id — идиотип; Vt — антигенспецифицирующий участок рецептора Т-клетки. H — тяжелая цепь, —S—S— — ковалентная связь цепей (в остальных случаях (нековалентная)).

Помимо индуцированного эритроцитами барана TsIF (гл. IV.1), состоящего из двух нековалентно сцепленных субъединиц по 68—72 кДа (см. табл. 32), вариант этого фактора (TsF₁), индуцированный GT, также включает две субъединицы, которые, однако, сцеплены дисульфидным мостиком. После их разобщения дитиотрептолом и алкилирования йодацетамидом одна из них связывается с антигеном и несет идиотипическую детерминанту, а вторая — неспецифическая — несет продукт I-J, аллель которого определяет возможность ассоциации со специфической цепью (без такой ассоциации супрессия отсутствует) [1169]. Существование подобной двухцепьевой молекулы TsF₁ (110—130 кДа) подтверждено с помощью двух мРНК, выделенных из специфичной к фосфорилхолину Т-гибридомы и гибридизующихся с разными клонами кДНК: продукт трансляции только смеси этих двух мРНК (но не каждой из них в отдельности) блокирует реакцию на фосфорилхолин [1986].

Более простой вариант TsF₁, индуцированный GAT, представляет собой одну цепь гидрофобного гликопротеида с молекулярной массой 24 [1101] или 29—30 кДа [815]. Он легко образует агрегаты, взаимодействует с липидами клеточной мембраны и содержит все обычные элементы: антигенсвязывающий участок, CRI и I-J. мРНК, выделенная из продуцирующей его Т-гибридомы и транслированная в бесклеточной системе, обеспечивает синтез негликозилированного протеина с молекулярной массой 19 кДа, сохраняющего специфическую супрессорную активность TsF₁ анти-GAT [2233]. Однако и в этом случае наблюдается вариант: TsF₁, индуцированный у мышей не активной (DBA/1), а реактивной к GAT линии (C57BL), хотя и относится к тому же семейству гидрофобных гликопротеидов, имеет молекулярную массу 18 кДа и отличается термолабильностью (56° С, 30 мин), чувствительностью к рН 3,0 и трипсину [1918].

В отличие от индукторных акцепторные TsF₂, произведенные Т-гибридомами Ts₂ и участвующие в активации T_{с3}, значительно более однородны независимо от индуцирующих их антигенов — GAT, GT [984] или ГЦ [2043]. Они представляют собой димер из двух субъединиц, ковалентное сцепление которых через —S—S— связь происходит только в процессе спонтанной секреции из клеток. Те же две субъединицы, экстрагированные из цитоплазмы клеток Т-гибридом после разрушения их ультразвуком, разобщены и могут быть легко очищены на иммуносорбенте за счет неидентичных маркеров.

Цитоплазматическая Н-цепь (34 кДа), так же как мембранная (45 кДа), состоит из двух доменов, один из которых связывается с антигеном, а другой — с МкАТ к предполагаемому константному участку (Ct) рецепторов СТС [2088], тогда как L-цепь (28 кДа) связывается только с МкАТ к I-J. В связи с этим они ответственны за разные функции: Н-цепь определяет специфичность, а L-цепь — рестрикцию супрессорного эффекта

по аллелю I-J MHC [1988]. Независимо от способа их получения — на иммуносорбентах [2045, 984] или с помощью транс-ляции соответствующих мРНК (13S и 11S) [2046] — эти две чистые субъединицы ассоциируются, причем для подавления образования антител или пролиферации Т-клеток они могут быть добавлены в культуру неодновременно: H-цепь в 0 ч, а L-цепь — 3 дня спустя [984]. Указанные цепи (42 и 35 кДа соответственно) формируют молекулу TsF_2 (66 кДа), специфичную к GAT [2112a].

Вариантным (акцепторно-эффекторным) TsF_2 является фактор, продуцированный супрессорной Т-гибридомой Ly123, специфичной к LDH_B. Подобно акцепторному TsF_2 , этот гликопротеин с молекулярной массой 120—160 кДа состоит из двух цепей (76—86 и 32—37 кДа), сцепленных ковалентно или нековалентно (см. табл. 37) в зависимости от способа его получения, как указано выше [911]. Найдено два варианта неспецифической к LDH_B L-цепи: она содержит детерминанту либо цепи I-A_T молекулы I-A (реагирующую перекрестно с I-J_T), либо цепи I-E_T молекулы I-E. Два соответствующих фактора — TsF -A и TsF -E, разделенных иммуносорбентом, покрытым МкАТ к указанным молекулам, блокируют пролиферативную реакцию иммунных Т-клеток на комплекс LDH_B с молекулами I-A и I-E соответственно [908].

Эффекторные TsF_3 (и их аналоги), подавляющие функции иммунных Т-лимфоцитов Ly1, казалось бы, сравнительно однородны по своей структуре, независимо от индуцирующего их антигена — эритроцитов барана [612, 2276], гаптенa АБА [698] или TNBS (тринитробензолсульфоновая кислота) [1724], ГЦ [1037]. Эти факторы спонтанно секретируются как иммунными Т_{с3} (Ts_3), так и выращенными из них клонами Т-гибридом или стабильных линий и отличаются от остальных TsF по своей структуре. Они представляют собой единичный гидрофобный, чувствительный к протеазам полипептид с молекулярной массой 68—70, 75 или 92 кДа (см. табл. 37), который легко разоб-щается на два домена при мягком расщеплении папаином или спонтанно — при связывании с антигеном эритроцитов — глико-форином [614].

Специфический домен (24 кДа) связывается с антигеном и несет идиотип — продукт Igh-V гена, но не влияет на иммунный ответ, тогда как за супрессию ответствен не реагирующий с антигеном константный домен (45 кДа), который в отличие от всех остальных TsF , не содержит ни I-J-молекулы, ни иных продуктов MHC [612, 2276, 698, 1724]. Поскольку, однако, TsF_3 , индуцированный гаптенom NP, содержит I-J-продукт [1846, 1376], неоднородность эффекторных TsF_3 может выявиться в зависимости от индуцирующих их антигенов.

Изучение структуры TsF_3 позволяет подойти к выяснению механизмов супрессорного эффекта (см. след. раздел). В любом случае очевидно, что для развития супрессии необходим предва-рительный контакт TsF_3 с подавляемыми им Т-клетками Ly1 (Т-хелперами или эТ_{хст}). Парадоксальной выглядела необходи-мость рестрикции по I-J-аллелю для взаимодействия TsF_3 (I-J-),

специфичного к эритроцитам барана, с Т-хелперами $Ly1(I-J^-)$, т. е. между фактором и клетками, которые, так же как и фактор, не содержат I-J-продукта. Оказалось (см. рис. 21), что инкубация в течение 48 ч $TsF_3(I-J^-)$ с антигеном и нормальными Т-клетками $Ly1(I-J^+)$ приводит к секреции последними промежуточной (акцепторной) молекулы $I-J^+(TsF_4)$, которая после этого связывается с $TsF_3(I-J^-)$ и доставляет этот фактор на поверхность Т-хелперов $Ly1(I-J^-)$. Кроме того, для взаимодействия указанного комплекса двух факторов ($TsF_3 I-J^- + TsF_4 I-J^+$) с Т-хелпером $Ly1 I-J^-$ последний должен совпадать по Igh-V гену с акцепторной клеткой $Ly1 I-J^+$ [590]. При этом существенно, что акцепторная молекула $TsF_4 I-J^+$, необходимая для реализации супрессии, не может быть заменена $I-J^+$ молекулой $TsiF$, хотя последняя также продуцирована клетками $Ly1$ (nT_c) и рестриктирована по Igh-V гену (см. гл. IV.1). Сходные данные получены в иной системе — при супрессии $ЭT_{гзт}$, специфичных к гаптену ТНФ [1629], NP [80] или пикрил-хлориду [97].

Приведенные факты позволяют предположить, что одноцепьевая молекула TsF_3 содержит, помимо рецептора к антигену, рецептор к собственному I-J продукту; это означает, что рестрикция эффекта TsF_3 связана с контактом I-J—анти-I-J, как это выше предполагалось, при рестрикции TsF_2 . Кроме того, данные указывают на существование неидентичных $I-J^+$ молекул, ответственных за индукцию CTC ($TsiF$) и реализацию их эффекта (TsF_4).

IV.2.5.5. Неспецифические TsF и механизмы супрессорных эффектов

Помимо TsF , специфично реагирующих с антигеном, особый интерес представляет множество неспецифических TsF , роль которых весьма существенна в регуляции иммунного ответа, в особенности при аллергических заболеваниях, трансплантационном и противоопухолевом иммунитете [1460]. Наиболее детально изучена молекулярная структура «семейства» таких TsF , секретированных кортизончувствительными $Ly2$ клетками тимуса или селезенки при их активации Кон А *in vitro*, большой дозой овальбумина *in vivo* или при росте опухоли у мышей. Эту группу TsF можно разделить по меньшей мере на две категории гликопротеидов, которые различаются структурой, объектом и механизмом супрессорного эффекта. Одна из них (IDS или IDP)¹² функционирует за счет углеводного компонента (инактивируется периодатом Na или нейраминидазой), а также проназой, частично разрушается только при 80°С и имеет молекулярную массу 20 или 14,5 кДа при активации соответственно Кон А [942] или в ходе роста опухоли [551]. Угнетение синтеза

¹² IDS — inhibitor of DNA synthesis (ингибитор синтеза ДНК). IDP — inhibitor of DNA polymerase (ингибитор ДНК-полимеразы).

ДНК только в Т-клетках обусловлено в этом случае активацией их аденилатциклазы с последующим возрастанием внутриклеточного уровня cAMP.

Напротив, другая категория неспецифического TsF (SIRS)¹³, хотя и продуцируется клетками Ly2, активированными Кон А в тех же условиях (молекулярная масса 11 кДа) после тщательной очистки фактора, секретированного соответствующей Т-гибридомой [2197а], подавляет синтез ДНК и дифференцировку преимущественно В-клеток, что приводит к угнетению образования антител. Этот эффект SIRS обусловлен его взаимодействием не с В-клетками, а с МФ. Двух часов инкубации с МФ достаточно для окисления SIRS перекисью водорода с последующей секрецией из МФ нового фактора — пероксидазы с молекулярной массой 50—55 кДа (эффект МФ может быть заменен 20-минутной обработкой SIRS перекисью водорода) [110]. В связи с этим образование TsF отменяется каталазой и цианидом, разрушающими H_2O_2 , а супрессорный эффект окисленного SIRS — субстратом пероксидазы, а также сульфгидрильными агентами (2-меркаптоэтанолом, дитиотреитолом). Последние препятствуют окислению пероксидазой мембранных компонентов В-клеток, существенных для их деления [109]. Торможение метаболической активности МФ *in vivo* большой дозой декстрана (10 мг на мышь) также сопровождается отменой супрессии, что приводит к усилению ГЗТ к гаптену [144].

Однако функция МФ, служащих посредником в реализации супрессорных эффектов, не исчерпывается превращением SIRS в пероксидазу. В гл. III.4.5 описана активация лимфокином секреции PGE_2 из МФ, что приводит к индукции радиорезистентных Т-супрессоров, специальные TsF которых угнетают продукцию ИЛ-2 Т-амплифайерами или ИЛ-2-зависимую пролиферацию и генерацию ЦТЛ [124]. Помимо этой функции PGE_2 , его секреция не МФ, а самими Т-супрессорами прямо подавляет пролиферацию КМ в результате возрастания внутриклеточного cAMP. Такие Т-супрессоры-продуценты PGE_2 выявляются среди прилипающих к нейлоновой вате Т-клеток селезенки нормальных мышей [2196], а также неприлипающих Т-клеток мышей-опухоленосителей [626].

В других случаях инкубация Т-клеток с выделенным макрофагами PGE_2 приводит к секреции фактора PITS¹⁴ (М. м. 2 кДа), обладающего широким спектром супрессорных эффектов — угнетением как пролиферативной реакции Т-клеток на митогены и аллоантигены, так и образования В-клетками антител к тимуснезависимым антигенам после 2—4 ч их обработки [1713]. Кроме того, активированные МФ человека секретируют фосфолипиды, которые связываются с соответствующими

¹³ SIRS — soluble immune response suppressor (растворимый супрессор иммунной реакции).

¹⁴ Prostaglandin-induced T-cell-derived suppressor (супрессор Т-клеточного происхождения, индуцированный простагландином).

рецепторами на предшественниках Т-супрессоров с фенотипом $T4^-$, $T8^+$, что также приводит к их активации [2153] и торможению иммунитета при инфекциях и травмах (гл. IV.2.1).

Из приведенных данных следует, что один и тот же процесс — ингибирование синтеза ДНК, вызванный разнообразными TsF, обусловлен разными механизмами, даже если эти TsF синтезируются в одних и тех же условиях Т-клетками данного субкласса. Осуществляя связь между различными типами клеток (Т-супрессоры → МФ → В- или Т-лимфоциты), TsF обеспечивают цепь последовательных событий в ходе реакции на антиген. В частности, поскольку SIRS и MIF представляют собой одно и то же вещество [2024], которое, выделяясь при локальном контакте Т-клеток с антигеном, может концентрировать МФ в очаге воспаления (действие MIF) и, контактируя с этими МФ, тормозить пролиферацию В-клеток на антиген (действие окисленного SIRS), оно регулирует, таким образом, интенсивность реакции. Наконец, TsF из естественных Т-супрессоров блокирует аутоиммунную реакцию ГЗТ Т-клеток $Ly1$ также не прямо, а лишь после адсорбции этого TsF на МФ-подобных клетках [2052].

Регуляция интенсивности воспаления может, по-видимому, осуществляться в обратном направлении: В-лимфоциты (или тучные клетки, базофилы) → Т-супрессоры → Т-лимфоциты. В этом случае гистамин, выделяющийся при контакте некоторых В-клеток с аллергеном, реагирует с рецепторами к гистамину H_2 , экспрессированными только на Т-супрессорах (и их предшественниках), что приводит к выделению из них TsF с молекулярной массой около 40 кДа, тормозящего пролиферацию других Т-клеток при их реакции на антиген или митоген [1696, 1697]. Кроме того, гистамин, активирующий выделение TsF из Т-супрессоров, может быть продуцирован самими Т-лимфоцитами после их иммунизации аллотрансплантатом и повторного контакта с аллоантигеном в MLC [494].

Изложенные данные касаются участия МФ в механизмах эффектов неспецифических Т-супрессоров и их медиаторов, что, вероятно, будет детально изучено благодаря использованию клонов макрофагальных гибридов, которые блокируют пролиферацию в MLC, не угнетая ни секрецию ИЛ-2, ни экспрессию ИЛ-2-рецепторов [960a]. Вместе с тем функция специфических эффекторных TsF (TsF_3 и их аналогов) также может быть связана не с прямым их взаимодействием с подавляемыми Т-клетками. Контакт TsF_3 с антигеном на поверхности МФ, выполняющих, таким образом, функцию акцепторов для реализации супрессорного эффекта TsF_3 , выявляется при их идентичности по аллелю I-J. В этом случае TsF_3 , специфичный к гаптену NP, блокирует реакцию ГЗТ, если МФ, обработанный NP, несет на поверхности I-J молекулу и отличается чувствительностью к ЦФ [80]. Поскольку тот же механизм реализует супрессию противоопухолевого иммунитета, избирательная элиминация из организма малой фракции МФ с фенотипом $I-A^-$, $I-J^+$ может привести к отмене супрессии и усилению противоопухолевого иммунитета [1775].

На основании приведенных данных можно предположить, что для реализации супрессорного эффекта необходимо двойное или тройное взаимодействие участков TsF_3 : антигенсвязывающего участка с антигеном, а анти-I-J рецептора с детерминантой I-J макрофага и (или) промежуточной (акцепторной) молекулы TsF , продуцированного клетками $Ly1$ (см. рис. 21). Это приводит к неспецифической супрессии, которая осуществляется активированным МФ с помощью двух независимых механизмов: выделения одного из неспецифических TsF и угнетения собственной функции, например, «презентации» антигена Т-лимфоцитам [1627]. Таким образом, специфические TsF действительно вызывают неспецифическую супрессию к постороннему антигену, если последний локализован рядом с соответствующим антигеном, как это описано в разделе IV.3.4.4. В любом случае очевидно, что вскрытие механизмов супрессорных эффектов моноклональных TsF приведет к возникновению новой области — «супрессологии».

IV.2.5.6. Регуляция супрессорной функции

Для поддержания нужного уровня иммунных реакций или их восстановления необходима регуляция активности Т-супрессоров, угнетающих эти реакции. В основе такой регуляции, происходящей в естественных условиях иммунизации, лежат по меньшей мере три процесса: а) саморегуляция Т-супрессоров, связанная с их физиологическими особенностями, т. е. не требующая участия иных клеток и дополнительных механизмов; б) обеспечение обратной связи Т-супрессоров с иными Т-клетками; в) контрсупрессия, осуществляемая специальным субклассом T_{sc} .

Один из механизмов саморегуляции Т-супрессоров связан с тем, что их эффект в отличие от эффекта Т-хелперов и иных Т-субклассов имеет не линейную, а пороговую зависимость от их количества. Это означает, что, хотя генерация Т-супрессоров часто предшествует образованию других Т-субклассов (гл. IV.2.3), их тормозящее действие не проявляется до тех пор, пока число Т-супрессоров не достигнет пороговой величины. Такой момент, по-видимому, совпадает с избыточным накоплением клеток других Т-субклассов. Этот факт ранее был установлен при сопоставлении активностей Т-супрессоров и Т-хелперов, индуцированных Кон А [1774] или антигеном [496, 340]. Следующая особенность само- или авторегуляции состоит в том, что даже после преодоления порогового количества супрессорный эффект во многих случаях проявляется по отношению не к иммунным Т-лимфоцитам, созревшим под действием антигена к тому же времени, а к их предшественникам (гл. IV.2.4.2), т. е. угнетается только антигензависимая дифференцировка оставшихся нормальных Т-клеток. Это означает, что функция иммунных Т-клеток чаще всего не меняется под действием Т-супрес-

соров, хотя выше описаны их варианты, блокирующие эфферентную фазу некоторых иммунных реакций.

Саморегуляция Т-супрессоров может быть связана также с их избирательной инактивацией высокой концентрацией сАМР, не влияющего на функцию Т-хелперов, А- и В-клеток, что приводит к стимуляции образования антител [2058].

Наращение числа Т-супрессоров, увеличивающих уровень сАМР (гл. IV.2.5.5), должно сопровождаться избыточным накоплением сАМР и избирательной инактивацией супрессоров, т. е. восстановлением иммунного ответа. Механизм инактивации Т-супрессоров сАМР, так же как вопрос о том, какие из категорий Т-супрессоров чувствительны к сАМР, остаются неизученными.

Помимо саморегуляции, весьма существенной для ограничения супрессорной функции является обратная связь между зрелыми (эффекторными) супрессорами и их индукторами. Оказалось, что 24—48 ч совместной инкубации активированных СТС Ly2 с Т-хелперами Ly1(Qa-1⁻, I-J⁻) или с иТ_с Ly1(Qa-1⁺, I-J⁺) при последующем удалении СТС из таких смесей (с помощью обработки анти-Ly1-2 антителами) достаточно для угнетения функций Т-хелперов в первом случае и иТ_с — во втором. Такие эффекты СТС Ly2 приводят к блокировке образования соответственно антител и в еще большей степени самих себя, причем второй эффект даже более чувствителен к действию СТС, чем первый [718].

Хотя механизм этой обратной связи — угнетения иТ_с их производными СТС — не выяснен, можно предположить, что в его основе лежит взаимодействие между рецептором эффекторных СТС (или их TsF) к одному из аутологичных продуктов I-района МНС и самим этим продуктом, экспрессированным на иТ_с. В пользу такой концепции свидетельствует ряд описанных выше данных о строгих ограничениях мембранных взаимодействий СТС (или их факторов) с подавляемыми ими Т-клетками («интеракционная рестрикция»). Такие ограничения связаны с необходимостью для развития супрессии совпадения СТС с подавляемыми ими Т-клетками по определенному I-субрайону и не обусловлены презентацией антигена в комплексе с продуктами МНС (гл. IV.2.4.4). Это означает, что один из возможных механизмов регуляции СТС — требование для реализации их функции последовательного распознавания антигена рецептором сингенного продукта МНС класса II.

Еще один механизм обратной связи, ограничивающий активность СТС, может быть связан с взаимодействием идиотип—антиидиотип, важным для образования тех же СТС, как это описано выше для кооперации Ts₁→Ts₂→Ts₃. Действительно, прямое смешивание СТС, несущих идиотип, с идиотипспецифичными СТС, несущими антиидиотип, приводит к их взаимной инактивации в разных экспериментальных системах [1024, 1366]. Два таких противоположных по своим свойствам TsF могут со-

существовать при условии их низкой концентрации [849] и даже секретироваться клетками одного клона данной Т-гибридомы [910]. В последнем варианте разделение двух TsF на антительном иммуносорбенте за счет содержания разных Ia-молекул — I-A(TsF-A) или I-E(TsF-E) — и введение каждого из них в отдельности мышам, иммунизированным соответствующим антигеном, приводит в первом случае к отмене генетической реактивности (вследствие активации CTC), а во втором, наоборот, — к ее возникновению у мышей ареактивной линии (вследствие торможения дифференцировки CTC).

Несмотря на множество возможных путей ограничения функции T_{cs} , основную роль в этом процессе, по-видимому, играет специальный субкласс Т-лимфоцитов, функционирующий в качестве T_{kc} , что обеспечивает состояние гипериммунитета (см. обзор [721]). Существование T_{kc} было впервые выявлено [656] после активации T_{cs} эритроцитами барана (ЭБ) в культуре. Очищенные T_{cs} Ly2, I-J⁻, иммунные к ЭБ, подавляли образование антител к ЭБ при совместной инкубации с суммарной популяцией нормальных Т- и В-клеток. Это подавление отсутствовало (т. е. функция T_{cs} не выявлялась), если T_{cs} Ly2 содержали смесь клеток I-J⁻ и I-J⁺. Функция T_{cs} вновь восстанавливалась, если указанную смесь иммунных клеток Ly2 добавляли не к суммарной популяции нормальных лимфоцитов, а к очищенным клеткам Ly1 (источник Т-хелперов) вместе с В-клетками. Возникло предположение, что в иммунной к ЭБ популяции клеток Ly2 содержатся не только T_{cs} I-J⁻, но и индукторы T_{kc} I-J⁺, которые сами не препятствуют эффекту T_{cs} на очищенные хелперы Ly1. Если же среди нормальных Т-лимфоцитов содержатся не только хелперы Ly1, но и клетки Ly1⁺2⁺, то часть их, несущая I-J, служит акцептором (трансдуктором) индукторов T_{kc} Ly2, I-J⁺, что приводит к образованию эффекторных T_{kc} , угнетающих функцию T_{cs} Ly2, I-J⁻. Дальнейшие исследования подтвердили эту концепцию и позволили охарактеризовать фенотип каждой из категорий T_{kc} (индукторы, трансдукторы и эффекторы), разделить их с помощью МкАТ и выяснить некоторые их биологические особенности (табл. 38).

Оказалось, что индукторы T_{kc} Ly2, I-J⁺, отличающиеся от T_{cs} Ly2 экспрессией I-J, секретируют фактор TcsiF, который также можно отделить от узкоспецифичного I-J-IsF, секретированного иммунными клетками Ly2, за счет содержания I-J и способности перекрестно связываться с эритроцитами лошади [2274]. Обработка трансдукторов T_{kc} Ly12, I-J⁺ фактором TcsiF приводит к образованию эффекторов T_{kc} Ly1, I-J⁺, несущих рецептор к лектину *Vicia villosa*, что позволяет отделить их от предшественников Т-хелперов того же фенотипа Ly1: последние лишены I-J, не прикрепляются к указанному лектину и не нуждаются в клетках Ly2 для своего образования [717]. T_{kc} I-J⁺ могут быть отделены не только от Т-хелперов I-J⁻, но и от любых I-J⁺ субпопуляций CTC, поскольку на T_{kc} экспрессирован продукт I-J₃, выявля-

Таблица 38

Сопоставление свойств Т-супрессора и Т-контрсупрессора мыши, специфичных к эритроцитам барана (ЭБ)

Свойства	Супрессор			Контрсупрессор		
Возникновение в онтогенезе	Эмбрион			2-й день жизни		
Специфичность к ЭБ	Строгая			Перекрестная *		
Индуктирующая доза антигена	Низкая или высокая			Промежуточная (оптимальная)		
Спонтанное образование в культуре лимфоцитов	Взрослых			Новорожденных (2—8-й день) и старых		
Связывание с лектином <i>V. villosa</i>	Нет			Есть		
Экспрессия рецептора к гистамину	H ₂			H ₁		
	Индуктор	Трансдуктор	Эффектор	Индуктор	Трансдуктор	Эффектор
Маркер						
Lyt	1+2 ⁻	1+2 ⁺	1-2 ⁺	1-2 ⁺	1+2 ⁺	1+2 ⁻
I-J **	+ (D-7 ⁻)	+ (D-7 ⁻)	- (D-7 ⁻)	+ (D-7 ⁺)	+ (D-7 ⁺)	+ (D-7 ⁺)
Qa-1	+	+	—	+	+	—
Фенотип						
Ly, I-J	Ly1, I-J ₁ ⁺	Ly12, I-J ₁ ⁺	Ly2, I-J ⁻	Ly2, I-J ₃ ⁺	Ly12, I-J ₃ ⁺	Ly1, I-J ₃ ⁺

* Реактивность и связывание с эритроцитами лошади.

** D-7 — МкАТ к I-J₃.

емый МкАТ D-7, которые не реагируют с I-J, на поверхности СТС [2278]. Кроме того, они различаются рецепторами к гистамину: H₂ на СТС и H₁ на Т_{кc} (цит. по: [721]).

Разделение предшественников Т-хелперов и эффекторных Т_{кc} (с помощью иммуносорбента, покрытого антителами к I-J и/или лектином *Vicia villosa*) позволило смешать эти две популяции клеток, инкубировать их совместно в течение 48 ч, а затем снова выделить предшественники Т-хелперов. Последние оказались резистентными к действию Т_{св}, утративших, таким образом, способность блокировать образование антител. Эти данные означают, что способность Т_{кc} контролировать функцию СТС связана не с прямым их влиянием на СТС, а с защитой Т-хелперов от супрессорного эффекта. Подобные Т_{кc} с фенотипом Ly1, I-J⁺, *V. villosa*-рецептор⁺ прямо защищают В-лимфоциты, реагирующие на тимуснезависимый антиген (полисахарид пневмококка), от эффекта Т_{св} и отличаются от последних еще более высокой чувствительностью к ЦФ [255].

Еще одно важное различие между T_{Hc} и $T_{\text{сэ}}$ состоит в том, что последние активируются очень высокой или низкой дозами антигена, тогда как T_{Hc} — промежуточной его дозой [717]. Предполагается, что именно по этой причине промежуточная доза антигена оптимальна для активации Т-хелперов в результате приобретения ими резистентности к супрессии под действием T_{Hc} . В связи с этим возникновение естественных T_{Hc} со 2-го дня жизни приводит к отмене эффектов высокоактивных Т-супрессоров эмбрионов и новорожденных к концу 1-й недели жизни мыши (гл. IV.2.2.1). Логично предположить, что этот срок соответствует завершению функции Т-супрессоров по обеспечению ауто-толерантности и подавлению иммунологической реакции матери на антигены плода. Повторное возникновение естественных T_{Hc} у старых мышей [721] объясняет резистентность последних к эффектам собственных супрессоров, что приводит к развитию с возрастом аутоиммунных процессов.

Сходный феномен — гиперактивность (доминантность) T_{Hc} у взрослых мышей линий с генетической основой В10 — обеспечивает, как оказалось, уникальную особенность этой группы линий: резистентность их Т-лимфоцитов к эффекту собственного $T_{\text{сF}}$ [2040]. Избирательное удаление в этом случае индукторов T_{Hc} (обработкой клеток $\text{Ly}2$ анти-I-J антителами) или продуцированного ими фактора $T_{\text{ссiF}}$ (адсорбцией на анти-I-J сорбенте или на перекрестно реагирующих эритроцитах лошади) отменяет генерацию эффекторных T_{Hc} , что приводит к возникновению чувствительности Т-клеток мышей В10 к супрессорному эффекту собственного $T_{\text{сF}}$ [2274].

Механизм защиты Т-хелперов и В-лимфоцитов от СТС, которую обеспечивают T_{Hc} , не выяснен. Тем не менее очевидно, что такая защита способствует развитию многих иммунных реакций *in vivo*: ГЗТ к гаптену у мыши [930, 1630], локальной РТПХ у крысы [1897], реакции Т-хелперов на антиген стрептококка у человека [1166]; сохранению локального образования IgA антител в пейеровых бляшках [719] и подчелюстных лимфоузлах [339], несмотря на развитие системной супрессии в остальной лимфоидной ткани — при кормлении животных большими дозами белков. Генетическая неспособность мышей линии СЗН/НеJ развивать толерантность к ЭБ, введенным *per os*, также обусловлена T_{Hc} , которые при адоптивном переносе в малой дозе мышам СЗН/НеN подавляют развитие у них толерантности к ЭБ [1999a]. Наконец, индукция T_{Hc} гаптеном при его введении мышам в виде конъюгата с клетками аутологичной опухоли приводит к защите противоопухолевого иммунитета от угнетающего действия СТС, что сопровождается торможением роста опухоли [721].

Поскольку, однако, состояние резистентности к супрессии может приводить к возникновению аутоиммунных процессов, функция T_{Hc} также должна быть регулируемой. Оказалось, что эта задача осуществляется специальной категорией Т-супрессоров второго уровня, которые, хотя и несут обычный фенотип клеток-трансдукторов (Lyt-1^{+2+} , I-J^{+} , Thy-1^{+}), экспрессируют такое большое количество антигена Thy-1 , что могут быть избирательно элиминированы малой дозой McAT F7D5 к антигену Thy-1

[720]. Такая процедура приводит к усилению активности $T_{\text{кc}}$, что сопровождается возникновением резистентности к СТС у мышей C57BL/6, которые в отличие от мышей В10 обычно высокочувствительны к собственному TsF. Особенно важно, что регуляторы $T_{\text{кc}}$ возникают в онтогенезе между 8-м и 15-м днем жизни, т. е. на 1—2 недели позже, чем сами $T_{\text{кc}}$. В связи с этим «поздно» произведенная тимэктомия (на 3—8-й день жизни), хотя и не оказывает существенного влияния на развитие иммунитета, но приводит к искусственному возникновению аутоиммунных реакций — в результате предотвращения возникновения регуляторов $T_{\text{кc}}$ [1900].

Из приведенных данных следует, что последовательность возникновения в онтогенезе Т-супрессоров, $T_{\text{кc}}$ и регуляторов $T_{\text{кc}}$ необходима для обеспечения соответственно толерантности к собственным антигенам (естественной ауто толерантности), иммунитета к чужеродным антигенам и предотвращения развития аутоиммунных процессов. Очевидно, таким образом, что указанные регуляторные Т-субпопуляции обеспечивают сохранение и prolongation жизни млекопитающих даже в отсутствие каких-либо инфекций.

IV.3. Цитотоксические Т-лимфоциты

Если решающую функцию в саморегуляции иммунного ответа выполняют Т-супрессоры, то основными эффекторами служат ЦТЛ, ответственные за реализацию многих видов иммунитета. Выше описаны: условия дифференцировки пЦТЛ в онтогенезе (гл. II.4.7—8) и в отсутствие тимуса (гл. II.2.3), антигензависимой генерации ЦТЛ в культуре (гл. III.3.1) и *in vivo* (гл. IV.2.4.3); Lyt-маркеры ЦТЛ и их варианты в зависимости от условий иммунизации (гл. III.2.4), а также иные антигенные маркеры и биологические особенности, позволяющие различать (и разделять) ЦТЛ и СТС (гл. IV.2.4.3); участие ЦТЛ и их клонов в отторжении трансплантатов и опухолей *in vivo* (гл. III.5.1). В настоящем разделе детально анализированы этапы и особенности активации антигеном пЦТЛ, этапы и механизмы цитотоксичности, соотношения ЦТЛ с другими типами киллеров, противовирусные эффекты ЦТЛ *in vivo*. Проблема специфичности рецепторов и клональной структуры ЦТЛ рассматривается в гл. V.4.

IV.3.1. Фазы и особенности активации пЦТЛ антигеном

Антигензависимая дифференцировка пЦТЛ в MLC разграничена на две фазы (1806). I. пЦТЛ «наивный» (пЦТЛ-Н) → пЦТЛ активированный (пЦТЛ-А); II. пЦТЛ-А («промежуточный ЦТЛ» или «пре-киллер») → ЦТЛ. В действительности для фазы I также необходим предварительный этап: экспрессия на пЦТЛ-Н рецепторов к ИЛ-2 и к TCF, (гл. III.4.5). Этот процесс требует 6—12 ч совместной инкубации пЦТЛ с аллоантигеном класса I, не нуж-

дается в экспрессии Ia-молекулы на клетках-стимуляторах [931] и сопровождается изменением физиологического состояния ДНК. Последнее выявляется с помощью ДНК-специфичного флуоресцентного зонда [1124].

Именно этот начальный этап фазы I дифференцировки пЦТЛ-Н требует экспрессии на их поверхности маркера Lyt-2: предварительная обработка пЦТЛ-Н антителами к Lyt-2 (или добавление этих антител в MLC с 0 ч) отменяет возникновение рецепторов к ИЛ-2 на их поверхности и последующее созревание ЦТЛ, независимо от того, индуцировано ли оно аллоантигеном или лектином Кон А (873, 1145). Напротив, добавление анти-Lyt-2 антител после 5 ч инкубации пЦТЛ с лектином или 18 ч с аллоантигеном не оказывает влияния на последующую дифференцировку пЦТЛ-Н.

Только после этого предварительного этапа пЦТЛ-Н приобретают чувствительность к ИЛ-2 (секретированному в обычной MLC амплифайерами Lu1 при реакции на Ia-молекулу), что приводит к вступлению пЦТЛ-Н в пролиферативный цикл к концу вторых суток (даже если антиген был удален) и сопровождается их активацией, т. е. превращением в клетки пЦТЛ-А. В отличие от фазы I дифференцировка пЦТЛ-А→ЦТЛ начиная с 3-го дня MLC может происходить без антигена, чему способствует ИЛ-2 и возникновение внутри клеток свободных сульфгидрильных групп в результате проникновения тиолов (меркаптоэтанола и дитиотрентола), добавленных в культуральную среду [796, 700].

Хотя антигенные маркеры, позволяющие разделять пЦТЛ-Н и пЦТЛ-А, не найдены, и различия между ними (табл. 39) строго не доказаны, большой интерес к ним связан с выяснением закономерностей и изменений свойств пЦТЛ в ходе антигензависимой дифференцировки.

пЦТЛ-Н могут быть избирательно удалены из популяции клеток за счет экспрессии на их поверхности рецепторов к гистамину, которые отсутствуют на ЦТЛ, т. е. исчезают в ходе дифференцировки этого типа Т-клеток [1836]. Напротив, при параллельной индукции в MLC неспецифических Т-супрессоров, блокирующих дифференцировку ЦТЛ, рецепторы к гистамину на их поверхности сохраняются. В связи с этим фракционирование взятых из MLC клеток на колонке, покрытой гистамином в комплексе с сывороточным альбумином кролика [1776], или их обработка пириламином (гл. IV.2.4.2) приводят соответственно к избирательному удалению или инактивации неспецифических Т-супрессоров, что сопровождается стимуляцией дифференцировки пЦТЛ-Н, чувствительной к этим супрессорам [1806].

Можно предположить, что именно пЦТЛ-Н чувствительны к гормону роста (выделенному из слюнных желез свиньи), присутствие которого в бессывороточной среде в течение первых двух дней MLC, т. е. до массовой пролиферации, обеспечивает генерацию ЦТЛ [1861]. Напротив, рецептор к инсулину, выявляемый на бластах и части ЦТЛ, индуцированных в MLC [823], отсутствует на пЦТЛ-Н, но, по-видимому, появляется на пЦТЛ-А, обеспечивая их пролиферацию при добавлении инсулина в бессывороточную среду MLC после второго дня культуры.

Таблица 39

Свойства пЦТЛ на этапах антигензависимой дифференцировки

Свойства	пЦТЛ-Н	пЦТЛ-А	ЦТЛ
Рецепторы к гистамину	+		—
гормону роста	+	—	
инсулину	—	+	+(50%)
Fc-фрагменту IgG	—		+(80%)
Зависимость от ИЛ-2, CTDF (или Т-ампли- файеров Ly1)	+	+	—
Необходимость антигена (убитых стимулято- ров) для индукции или функциональной ак- тивации	+	—	+
Цитотоксический потенциал *	—	+	+
Чувствительность дифференцировки или ак- тивации к			
анти-Lyt-2	+	—	+
Т-супрессорам	+		—
γ-облучению **	+	—	—
Маркер			
гликопротеид T145, 35 кДа, связывается с V. villosa	—	+	+
Ly6	—		+
Qat-4 и 5	+		—***
углевод белка T200	—		+

* Цитотоксичность пЦТЛ-А выявляется в присутствии Кон А.

** Доза облучения 600 рад in vivo или 5000 рад in vitro.

*** Отсутствуют на ЦТЛ, специфичных к аллоантигену.

Сходные фазы дифференцировки ЦТЛ, хотя и с иной кинетикой, имеют место in vivo после иммунизации мышей аллогенной опухолью [2038]. Короткий (3 ч) радиочувствительный период после введения аллогенных клеток или экстракта из них необходим (хотя и недостаточен) для индукции ЦТЛ и может соответствовать наиболее раннему этапу фазы I, связанному с возникновением рецепторов к ИЛ-2 на пЦТЛ. Необходимость присутствия аллоантигена в организме мышей в течение первых 3 дней и последующая его ненужность для возникновения ЦТЛ к 7-му дню могут соответствовать фазам I и II дифференцировки пЦТЛ-Н и пЦТЛ-А. На такую возможность указывает прямая дифференцировка в ЦТЛ клеток селезенки [975] или регионарных лимфоузлов [2158], извлеченных из мыши через 3 дня после иммунизации и культивированных еще 24—72 ч без антигена при 37° С. Эти «пре-киллеры» (аналог пЦТЛ) представляют собой малые Т-лимфоциты высокой плотности в градиенте БСА, причем их дифференцировка в ЦТЛ отменяется ингибитором

синтеза белка, а также стимуляторами сАМР. Важно отметить, что такие пЦТЛ-А, быстро индуцированные *in vivo* ультразвуковым экстрактом аллогенных клеток [1738] или введением последних в малой дозе [432], хотя и не несут аффинных антиген-связывающих рецепторов (не адсорбируются на монослое клеток донора), обладают цитотоксическим потенциалом: лизируют КМ в присутствии Кон А. Этот факт указывает на независимость возникновения цитолитического механизма на промежуточном этапе созревания пЦТЛ от экспрессии аффинных рецепторов к антигену, которые обычно выявляются только на зрелых ЦТЛ.

Из приведенных выше данных (гл. III.3.1) и табл. 39 следует, что ЦТЛ могут быть отделены от их предшественников (пЦТЛ-Н) в результате изменений мембранных маркеров в ходе дифференцировки: а) возникновения рецепторов к инсулину и $Fc\gamma R$ при индукции ЦТЛ в МЛС [1962, 70] или *in vivo* [1739], а также антигена Ly6, гликопротеида T145, связывающего ЦТЛ с лектином *V. villosa* [1027], белка T11 [639], гликозилирования мембранного белка T200 [1163]; б) исчезновения рецепторов к гистамину и антигенов Qat-4 и 5. В действительности, однако, мембранная экспрессия указанных маркеров чрезвычайно лабильна, варьирует на ЦТЛ в зависимости от сроков и условий их активации и неспецифична для ЦТЛ: большинство этих маркеров могут быть выявлены на Т-блестах, не имеющих цитотоксической активности. Выявляются даже минорные варианты ЦТЛ, отличающиеся от остальных ЦТЛ по способности прилипать к пластику [952] или высокой радиочувствительности [1920]. Тем не менее ЦТЛ могут быть отделены не только от пЦТЛ-Н, но и от пЦТЛ-А в связи с указанной выше неспособностью пЦТЛ-А в отличие от ЦТЛ адсорбироваться на монослое КМ.

Необходимо отметить существенное различие ЦТЛ, дифференцированных в МЛС и *in vivo*, даже если в обоих случаях дифференцировке предшествует пролиферация, вызванная одними и теми же аллогенными клетками. Независимо от варьирования кинетики генерации ЦТЛ (от 5 до 15 дней) при различных условиях иммунизации мышей (интактными или облученными клетками опухоли или селезенки, введенными внутрибрюшинно или в подушечку лапок), во всех случаях пик образования бластов и пролиферации Т-клеток селезенки, ПЭ или регионарного лимфоузла предшествует на 1—5 дней пику активности ЦТЛ. Этот факт, установленный с помощью фракционирования клеток в градиенте плотности БСА, эмбриональной телячьей сыворотки или перколла, соответствует данным, полученным в МЛС (гл. III.2.1).

Тем не менее если большая часть ЦТЛ, индуцированных в МЛС, представляет собой бласты (диаметр более 9 мкм, плотность 1,067) в пролиферативном цикле, то большая часть ЦТЛ на пике иммунного ответа, индуцированных *in vivo* любым способом, — малые лимфоциты (диаметр около 7,5 мкм) высокой плотности (1,077) [1567, 73, 903, 1028]. Их пребывание вне

цикла установлено с помощью многократного введения ^3H -тимидина мышам в течение всего срока иммунизации: лишь около 5% иммунных селезеночных Т-клеток, образующих конъюгаты с КМ, включают ^3H -тимидин [1028].

Из этих данных следует, что для дифференцировки пЦТЛ *in vivo*, в отличие от того же процесса в МЛС, необходима бласттрансформация и пролиферация не самих пЦТЛ, а, возможно, Т-амплифайеров. Можно предположить, что в основе этого различия лежат два обстоятельства: а) дефицит ИЛ-2 *in vivo*, что требует пролиферации Т-амплифайеров для обеспечения нужного количества продуцируемых ими лимфокинов; б) бласттрансформация пЦТЛ требуется для их выживания (и дифференцировки) только в культуре, тогда как *in vivo* антигензависимая дифференцировка может происходить в малых пЦТЛ при условии эффективной помощи Т-амплифайеров. Таким образом, хотя основные фазы созревания пЦТЛ могут совпадать при активации их антигеном в МЛС и *in vivo*, созревшие в этих условиях ЦТЛ существенно различаются по своей морфологии и пролиферативной активности, что может обуславливать неидентичность их цитолитических механизмов (см. ниже).

IV.3.2. Этапы и механизмы взаимодействия ЦТЛ с КМ

Несмотря на интенсивное исследование цитолитических механизмов ЦТЛ, ясности в этой проблеме не существует. Тем не менее основные закономерности, определяющие мембранные и молекулярные взаимодействия ЦТЛ с КМ на различных этапах, четко установлены (см. обзоры [690, 182, 185, 1292, 233, 1742, 306, 828]) и могут быть суммированы следующим образом. (1). Многофазность: для цитолиза необходимы четыре последовательных этапа (табл. 40).

Этап I. Установление слабой неспецифической гидрофобной связи, что приводит к транслокации мембранных липидов между ЦТЛ и КМ в течение нескольких минут и может быть количественно измерено с помощью флуоресцентного липофильного зонда [180]. Угнетение этого процесса лецитином отменяет последующий цитолиз КМ (не исключена возможность, что ингибирование цитолиза при длительной преинкубации ЦТЛ с 25-ОН-холестеролом, угнетающим синтез холестерина [822], или при добавлении в среду насыщенных жирных кислот [198] также связано с угнетением транслокации липидов между ЦТЛ и КМ).

Этап II. Возникновение стабильного специфического интимного контакта мембран ЦТЛ и КМ, обеспечивающего запуск литического механизма и разделенного по меньшей мере на две субстадии. **А. Узнавание рецептором ЦТЛ антигена КМ** — единственный специфический компонент взаимодействия ЦТЛ—КМ, тестированный адсорбцией ЦТЛ на монослое КМ (гл. V.2.1) или определением спонтанных конъюгатов ЦТЛ—КМ при мягком встряхивании их смеси [127]. Эта процедура может происходить

Таблица 40
Фазы взаимодействия ЦТЛ с КМ

Фаза	I. Установление гидрофобной связи	II. Стабильный специфический контакт ЦТЛ—КМ		III. Летальный удар	IV. Деструкция КМ (независимая от присутствия ЦТЛ)
		А. Узнавание рецептором ЦТЛ антигена КМ	Б. Стабилизация контакта		
Тесты	Поляризация флуоресценции дифенилгекса-триена	Адсорбция ЦТЛ на монослое КМ	Частота конъюгатов ЦТЛ—КМ после ресуспендирования осажденной смеси	Необратимые изменения КМ (последующий лизис)	Выход из КМ пептидов, меченных ^{51}Cr
Условия взаимодействия	Инкубация КМ с иммунными ЦТЛ	Частота конъюгатов ЦТЛ—КМ в смеси с вращением	Разрыв конъюгатов набором стандартных сил		
Ингибиторы	Лецитин в липосомах [25-ОН-холестерол]	25° С, время — 2—3 ч (на монослое или в смеси с вращением) или 1—2 мин в осажденной смеси. Функция микрофиламентов.	Частота конъюгатов ЦТЛ—КМ в смеси с вращением	37° С, Ca^{++} или Sr^{++} , 10—20 мин (в осажденной смеси), глюкоза 0,1 М	37°—41° С, 1—20 ч
	[Насыщенные жирные кислоты]	Цитохалазин А, Б Протеазы, декстран (500 кДа)	Мg $^{++}$, глюкоза 0,1 М Mn $^{++}$ вместо Mg $^{++}$, 2-ДГ, ЭДТА, цитохалазин Б	Охлаждение до 15° С, ЭДТА, ЭГТА, цитохалазин Б, колхицин, винбластин, 2-ДГ, TLCK, глюкокортикоиды, ингибиторы фосфолипазы А (лецитин, фосфатидилхолин), cAMP и его стимуляторы, трипанблау, хлорохин, лидокаин, гепарин	Охлаждение до 15° С Декстран с М. м. 40 кДа

Ингибиторы метаболизма: азид Na, динитрофенол, ДМСО, ишанид, йодацетат, бензиловый спирт

Примечание. В квадратных скобках: функция ингибитора в данной фазе не доказана. ЭДТА — этилендиаминтетраацетат, 2-ДГ — 2-дезоксиглюкоза, ДМСО — диметилсульфоксид, TLCK — N-тозил-L-лизил-хлорметилкетон.

не только при 37°, но и при 20—25° С в течение 2—3 ч и ингибируется антителами к соответствующим МНС-продуктам КМ, но не к МНС-продуктам самих ЦТЛ [283, 6, 2083]. Высокоспецифическое связывание ЦТЛ с соответствующим продуктом МНС класса I воспроизведено при искусственном введении этого продукта или содержащей его очищенной плазматической мембраны в мембрану живых КМ, лишенных данного антигена [764, 1783], или в подложку липидного монослоя [1456]. Поскольку сама по себе очищенная молекула Н-2К/Д обычно не связывается с иммунными к ней ЦТЛ и не ингибирует их связывание с живыми КМ, очевидно, что для ее узнавания рецептором ЦТЛ необходимо ее включение в структуру мембранного липида.

Для специфического узнавания рецептором ЦТЛ антигена КМ не требуются ни двухвалентные катионы [1860], ни присутствие в среде глюкозы [1255], но необходима функция микрофиламентов, поскольку обратимая отмена цитолиза цитохалазином Б (ЦБ) [337] и А (ЦА) [691] в концентрации 5—10 мкг/мл, присутствующим в среде с 0 ч, связана с резким торможением контактов ЦТЛ с КМ при 20° С [344] и специфической адсорбции ЦТЛ на монослое КМ [1976]. Указанные особенности позволяют отделить специфическое узнавание (субстадия А) от последующей стабилизации контакта ЦТЛ—КМ (субстадия Б), которая требует присутствия Mg^{++} (0,5 мМ) и глюкозы (0,1 мМ), но не ингибируется ЦА.

Необходимость Mg^{++} не для возникновения контакта ЦТЛ—КМ, а для его стабилизации следует из того, что такая необходимость отпадает, если стабилизация достигается искусственно — с помощью центрифугирования смеси ЦТЛ и КМ [1860] (в этом случае для установления специфического контакта ЦТЛ с КМ достаточно 1—2 мин [1288]). Неидентичность двух субстадий следует также из различия эффектов ЦБ и ЦА. Это различие состоит в том, что добавление ЦА после Mg^{++} не влияет на последующие события, а добавление ЦБ отменяет их [691]. Очевидно, что эффект ЦБ в этом случае (после установления стабильного контакта) связан не с разрушением микрофиламентов, а с нарушением транспорта глюкозы, на который ЦА не влияет [285].

О важной роли глюкозы для стабилизации контакта свидетельствует также угнетение образования конъюгатов ЦТЛ—КМ (и последующего лизиса КМ) в присутствии антиметаболита глюкозы — 2-дезоксиглюкозы (5 мМ), угнетающее действие которой отменяется избытком глюкозы и не связано с нарушением синтеза гликопротеидов: туникамицин не влияет ни на возникновение конъюгатов, ни на ингибирующий эффект 2-дезоксиглюкозы [1242]. Количественное определение силы связи ЦТЛ—КМ (с помощью разрыва конъюгатов набором стандартных вариантов давления) показало, что, несмотря на 100-кратные колебания этой силы в разных конъюгатах, ее пороговый уровень (10^{-8} Н), необходимый для последующего цитолиза, достаточен для раз-

рыва мембраны КМ, как показано в случае искусственного разделения образованного конъюгата при определенной силе давления [235]. Такое же варьирование силы связи мембран ЦТЛ — КМ — в зависимости от условий иммунизации ЦТЛ и использования разных КМ для образования конъюгатов с ЦТЛ — проявляется в разной степени обратимости этих конъюгатов под действием избытка «свободных» КМ различного происхождения [126].

Следствием установления стабильного контакта рецепторов ЦТЛ с трансмембранным белком КМ является этап III — запуск цитолитического механизма — летальный удар («программирование лизиса»), что приводит к необратимым изменениям КМ и их последующей гибели даже в отсутствие ЦТЛ. Этап III четко отделим от предыдущих (см. табл. 40), поскольку он происходит лишь при 37° С и требует присутствия Ca^{++} (0,5 мМ) или в 10 раз большей концентрации Sr^{++} . Разграничение этапов II и III достигается в результате: а) предотвращения новых контактов ЦТЛ с КМ при добавлении в среду ЦА или высокомолекулярного декстрана; б) активации летального удара при добавлении в среду Ca^{++} . Избирательное связывание Ca^{++} в разные временные периоды с помощью 0,25 мМ ЭГТА¹⁵ показало, что летальный удар длится 10—20 мин [1290, 690].

Такое же разобщение двух основных сигналов — контакта лимфоцитов с КМ и запуска лизиса КМ — достигнуто при активации последнего митогенным лектином Кон А (LDCC)¹⁶ или антителами к КМ (ADCC). В обоих случаях нелетальную адгезию лимфоцитов к КМ, вызванную немитогенным лектином (WGA¹⁷, PNA¹⁸, SBA¹⁹), можно превратить в летальную при последующем добавлении к готовым конъюгатам Кон А или антител к КМ — в условиях неспособности этих «летальных» агентов вызывать адгезию клеток (введение их в растворе декстрана с молекулярной массой 500 кДа [1555] или насаивание на преформированные конъюгаты в агарозе [234]).

Этап IV — деструкция КМ оценивается количественно по выходу из КМ пептидов, меченных ⁵¹Cr [283], ¹⁴C-никотинамида, ¹²⁵I-иоддезоксинуридина, ⁷⁵Se (селенометионина), ³H-пролина, а также включением изотопов в КМ, сохранившиеся после инкубации с ЦТЛ [486, 279]. Особую ценность имеют супермикроварианты метода в объеме 10—15 мкл [2036, 2095]. Этот завершающий этап требует определенной температуры и времени: начинается при температуре не ниже 30° С и достигает максимума при 37—40° С [179], продолжается от 1 до 20 ч в зависимости от активности ЦТЛ, их частоты, условий инкубации с КМ, чувствительности КМ к цитолизу, а также от количества ЦТЛ, прикрепившихся в данной КМ. Деструкция КМ может быть отделена от предыдущих этапов, поскольку она происходит в отсутствие катионов (при добавлении ЭДТА, разобщающего конъюгаты

¹⁵ Этиленгликолететраацетат.

¹⁶ Lectin-dependent cell cytotoxicity — лектинзависимая клеточная цитотоксичность.

^{17, 18, 19} Агглютинины зародыша пшеницы, земляного ореха и сои.

ЦТЛ—КМ), не требует энергетического метаболизма КМ [1290, 690] и даже присутствия ЦТЛ: элиминация последних антителами к Thy-1 после летального удара [1761] не предотвращает гибели КМ. Полная их готовность к лизису после летального удара сохраняется, даже если лизис был временно (в течение 5 ч) предотвращен охлаждением КМ [1290].

Из изложенного следует закономерность (2): если ранний специфический этап (узнавание рецептором антигена) и заключительный этап (деструкция КМ) наименее требовательны к условиям, то промежуточные этапы (стабилизация контакта ЦТЛ—КМ и летальный удар) развиваются лишь при наличии определенных двухвалентных катионов, энергетического метаболизма ЦТЛ, поддержания низкого уровня сАМР в ЦТЛ, сохранения активности цитоскелета и ферментов ЦТЛ. В связи с этим оба этих промежуточных этапа могут быть заторможены широким спектром нетоксичных для клеток агентов: ингибиторов метаболизма, функций цитоскелета и лизосом, ферментативных активностей, стимуляторов сАМР (см. табл. 40). Следствием ингибирования промежуточных этапов является отсутствие лизиса КМ, несмотря на то что сам по себе лизис (этап IV) не чувствителен к указанным агентам.

Хотя синтез ДНК и РНК в ЦТЛ не требуется для цитолитической активности, вопрос о необходимости синтеза белка однозначно не решен: одни ингибиторы синтеза белка — пактаминин [2080] или циклогексимид [490] не влияют на цитолиз (при обработке ЦТЛ), тогда как пуромицин обратимо ингибирует активность ЦТЛ при постоянном присутствии в среде [264, 1970].

На основании приведенных данных можно сделать вывод: (3). Разные структуры ЦТЛ ответственны за распознавание антигена КМ и последующий лизис КМ. Это означает, что после установления прочного и специфического контакта ЦТЛ—КМ лизис КМ может быть предотвращен. Из табл. 41 видно, что избирательное ингибирование лизиса КМ, несмотря на сохранение их прочного взаимодействия с ЦТЛ, может быть достигнуто после предварительного прогревания ЦТЛ в течение 10 мин при 44° С и воздействия на ЦТЛ агентами: формальдегидом [181], дексаметазоном [1787], колхицином [1609], холерным энтеротоксином — стимулятором сАМР [1969] и даже трипсином (при условии последующего центрифугирования смеси ЦТЛ с КМ) [581]. Такая же дискриминация связывания ЦТЛ с КМ и лизиса КМ выявляется при прямом введении в культуральную среду ЭГТА [690], кортикостероидов [268, 1942], винбластина [830], дибутирил сАМР и разнообразных его стимуляторов [829], ингибиторов лизосомальных ферментов [268, 638]. Отмена цитолиза TLCK (ингибитором сериновых протеаз) также, по-видимому, не влияет на связывание ЦТЛ—КМ, поскольку эффект TLCK выявляется лишь в Ca^{++} -зависимой фазе [345]. Получены даже антисыворотки крысы против ЦТЛ мыши, которые инактивируют цитолиз, не влияя на связывание ЦТЛ—КМ, и реагируют с ЦТЛ только после их связывания с КМ [855, 2183], хотя природа со-

Таблица 41

условия избирательного ингибирования специфической и неспецифической фаз активности ЦТЛ

Воздействие и реагент	Концентрация	Условия предварительной обработки клеток	Обработанные клетки	Ингибирование*	
				взаимодействие ЦТЛ—КМ	механизм лизиса КМ
Прогревание 44° С		10 мин	ЦТЛ	—	+
Охлаждение 20—25° С			Среда *3	—	+
Формальдегид	0,2—1,2%	0° С 30 мин	ЦТЛ	—	+
Дексаметазон	10 ⁻¹⁰ —10 ⁻⁷ М	20° С 3 ч	ЦТЛ	—	+
Колхицин	10 ⁻⁵ —10 ⁻³ М	37° С 1 ч	ЦТЛ или среда	—	+
Холерный энтеротоксин		37° С 1 ч	ЦТЛ	—	+
Трипсин	1—2 мг/мл	37° С 30 мин	ЦТЛ	—*4	+
ЭГТА	0,25 мМ		Среда *2	—	+
Преднизолон	10—100 мкг/мл		»	—	+
Гидрокортизон	1 мкг/мл		»	—	+
Винбластин	10 ⁻⁶ —10 ⁻⁴ М		»	—	+
DB-cAMP и его стимуляторы: теofilлин, PGE ₂ , гистамин, аденозин, изопротеренол	10 ⁻³ М		»	—	+
Ингибиторы лизосомальных ферментов					
лидокаин	10 ⁻² М				
трипанблау	50 мкг/мл		»	—	+
хлорохин	10 мкг/мл		»	—	+
Ингибитор сериновых протеаз: TLCK	0,2—2,10 ⁻⁴ М		»	—	+
Цитохалазин А	5—10 мкг/мл		»	+	—
Антитела к антигенам Lyt-2 и 3, L3T4, LFA-1			ЦТЛ или среда *2	+	—
Антитела к МНС класса I			КМ	+	—
Формальдегид	0,2—1,2%	0° С 30 мин	КМ	—	—
Глютаровый альдегид	0,15%	20° С 10 с	КМ	—	—

* (+) ингибирует, (—) не ингибирует.

*2 Реагент добавлен в культуральную среду без или после предварительной обработки клеток.

*3 Ингибируется активность ЦТЛ, индуцированных *in vivo*, но не ЦТЛ-бластов, индуцированных в MLC.

*4 Связывание ЦТЛ—КМ не ингибируется при условии центрифугирования смеси ЦТЛ—КМ [581], но ингибируется при спонтанной адсорбции ЦТЛ на монослой КМ [268].

ответствующего антигена на активированных ЦТЛ мышши окончательно не выяснена [970].

Напротив, белок ЦТЛ человека, ответственный за эту функцию, хорошо известен: МкАТ к ТЗ (гл. II.4.2.2), так же как их F(ab)₂-фрагмент, необратимо инактивируют ЦТЛ (не убивая их); эффект этих МкАТ связан с отменой летального удара без влияния на связывание ЦТЛ с КМ [1133, 2106].

В пользу закономерности (3) свидетельствует обратный эффект: неспособность ЦА [691] и антител к продуктам МНС КМ [232], ингибирующих связывание ЦТЛ—КМ, влиять на механизм цитолиза КМ, если они добавлены в фазе летального удара.

Особый интерес представляет обратимое ингибирование связывания ЦТЛ—КМ антителами к маркерам ЦТЛ, не имеющим прямого отношения к их рецепторам: Lyt-2,3 и L3T4, если ЦТЛ мышши специфичны к продуктам МНС соответственно класса I (аллогенным [465, 1855] или сингенным в комплексе с гаптенем или вирусом [1931]) и класса II [2007]. Зависимость указанного эффекта антител от специфичности ЦТЛ к классам продуктов МНС полностью воспроизводится на ЦТЛ человека с помощью МкАТ к соответствующим белкам: Leu2a/T8 (аналог Lyt-2 мышши) и Leu3a/T4 (аналог L3T4 мышши) [1923, 2006, 204]. Отмена сцепления ЦТЛ—КМ происходит еще более эффективно с помощью МкАТ к иному маркеру ЦТЛ — LFA-1²⁰, идентичному по своей структуре у мышши и человека и имеющему две нековалентно связанные цепи с молекулярной массой 180 (α) и 94—95 кДа (β)²¹. Хотя его количество на мембране ЦТЛ в 2,5—10 раз меньше, чем продуктов МНС и антигена Thy-1, антитела к последним в отсутствие комплемента не ингибируют связывание ЦТЛ с КМ [1291].

Поскольку Lyt-2,3 и LFA-1 топографически разъединены на мембране, смесь соответствующих антител вызывает аддитивный эффект [1855]. Хотя экранировка антителами каждого из этих маркеров нарушает адгезию ЦТЛ, не оказывая влияния в фазе летального удара (после добавления Ca⁺⁺ в систему), преимущество LFA-1 по сравнению с Lyt-2,3 в обеспечении прочности сцепления мембраны Т-лимфоцитов состоит в следующем: в отличие от антител к Lyt-2,3, анти-LFA-1 антитела ингибируют связывание независимо от специфичности рецепторов ЦТЛ, даже при добавлении в среду Кон А, а также диссоциируют преформированные конъюгаты ЦТЛ—КМ [692]. В связи с этим снижение экспрессии LFA-1 на лимфоцитах, так же как его аналога Mac-1 (170+95 кДа, отличающегося от LFA-1 только пептидами α-цепи) на моноцитах, приводит к тяжелым иммунодефицитам, а искусственное снижение их экспрессии с помощью введенных *in vivo* МкАТ к β-цепи [1932] может оказаться эффективным иммуносупрессором при аллотрансплантации и росте сингенной опухоли [1293].

Ввиду неидентичности двух основных последовательных сигналов, необходимых для цитолиза (взаимодействие ЦТЛ—КМ и летальный удар), следующие закономерности касаются каждого из них в отдельности.

²⁰ LFA — lymphocyte functional antigen — функциональный антиген лимфоцита.

²¹ МкАТ к LFA-1 мышши — H35-89.9 [1595] и M7/14 [433], к LFA-1 человека — МНМ23 и МНМ25 [845].

(4). Однонаправленность взаимодействия ЦТЛ—КМ («head to tail»). После летального удара ЦТЛ не только остается живым, но отделяется от КМ и рециркулирует, т. е. последовательно убивает несколько КМ [1289, 1733]. В связи с этим частичная взаимная инактивация двух популяций ЦТЛ, иммунных друг к другу, при их совместной инкубации [1106] обусловлена гибелью только одного из таких ЦТЛ в каждом индивидуальном конъюгате [581].

(5). Полярность структуры сцепления. Реакция локальна, т. е. происходит не по всей поверхности ЦТЛ, а в ограниченном участке ее контакта с мембраной КМ. В связи с этим, если к ЦТЛ прикреплены две КМ, одна из которых — за счет специфического контакта ее антигена с рецептором ЦТЛ, а вторая (посторонняя) — искусственно (с помощью лектина WGA), то, несмотря на лизис первой, вторая остается живой [2200]. Напротив, при специфическом сцеплении даже трех КМ с соответствующим ЦТЛ они разрушаются все, но не одновременно, а последовательно с интервалом около 30 мин [2298]. Это означает, что цитолитический механизм функционирует в данный момент только в одном мембранном участке ЦТЛ, несмотря на связывание антигенов КМ рецепторами разных участков той же мембраны ЦТЛ.

Сходные данные получены при неспецифическом лизисе — LDCC или ADCC: лизируется только одна из двух КМ, хотя они обе прикреплены к одной и той же лимфоидной клетке. При LDCC такая дискриминация достигается с помощью предварительной обработки двух КМ соответственно летальным и нелетальным митогеном [254], а при ADCC — если одна из КМ обработана антителами, контактирующими с FcR цитолитической клетки, а другая — химическим агентом [2201].

На локальность цитолиза указывают также морфологические и цитохимические исследования контактов ЦТЛ с КМ. Помимо взаимной инвагинации микроворсинок ЦТЛ и КМ («интердигитальные» взаимодействия), в зоне контакта быстро формируется активно движущаяся специальная структура ЦТЛ — червеобразный вырост (projection), глубоко внедряющийся в структуру КМ, располагающийся близко к ее ядру и вызывающий смещение ее органелл [1744, 1760]. Такая морфология особенно характерна для малого (перитонеального) ЦТЛ, вся цитоплазма которого может переместиться в этот вырост (рис. 22). Обычно внутри выроста содержатся лишь микрофиламенты, а на самом его конце, контактирующем с мембраной КМ, концентрируется актин (но не миозин), который перемещается в данную зону только в момент контакта с КМ [1746]. В других клетках (В-лимфоцитах при «кэппинге» Ig или нейтрофилах при образовании их псевдоподий) поляризация актина носит иной характер и коррелирует с поляризацией миозина.

Помимо внедрения выроста ЦТЛ в КМ, иная форма их взаимодействия — стабильный многоточковый контакт относительно плоских поверхностей — также сопровождается перемещением в зону контакта иных органелл ЦТЛ: гипертрофированных ва-

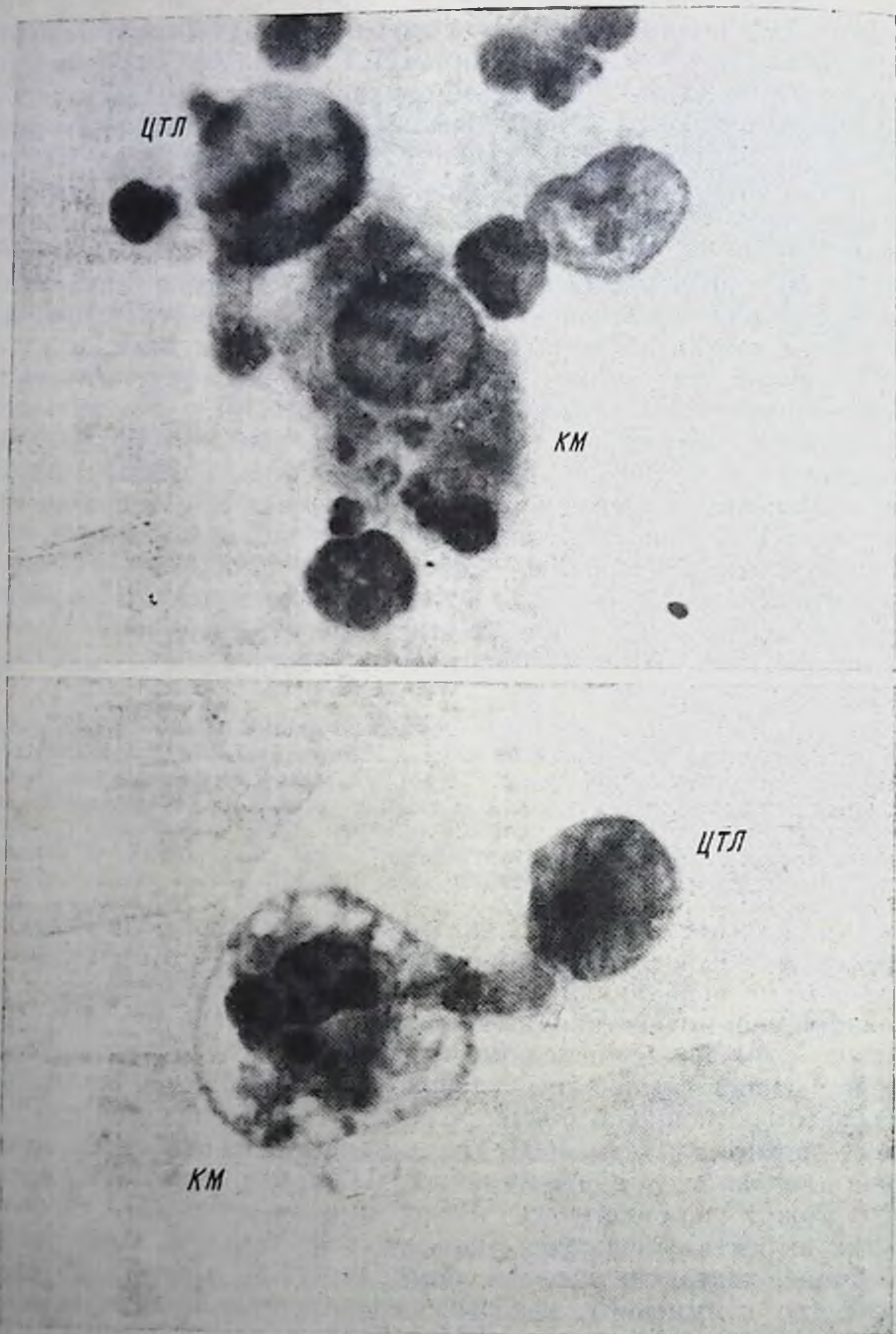


Рис. 22. Активное взаимодействие цитоплазматического выроста индуцированных *in vivo* ЦТЛ с макрофагальной клеткой-мишенью (KM) (X900)

куолей комплекса Гольджи, секреторных гранул и лизосом [304], центриоли, обнаруженной с помощью антител к тубулину [648], талина (белка цитоскелета, ассоциированного с плазматической мембраной) [1105a], а также ферментов — АТФазы [1569] и кислой фосфатазы [2299]. В самих КМ не выявляется ни поляризация актина, ни переориентация органелл в зону контакта.

Слияние вакуолей с плазматической мембраной ЦТЛ [306] может способствовать увеличению площади его поверхности, контактирующей с КМ, что обеспечивает стабилизацию их сцепления, подобно эффекту актина, поляризованного в зоне контакта червеобразного выроста ЦТЛ с КМ. Выделение из индуцированных в МЛС ЦТЛ-бластов (или их клонов) гипертрофированных везикул в узкую зону межклеточного контакта с КМ [305, 826] может сопровождаться встраиванием этих везикул, несущих «тубулярные комплексы», в мембрану КМ и возникновением в ней трансмембранных каналов с внутренним диаметром 15 и 5—7 нм [451].

Хотя интерпретация морфологических данных не однозначна (см. ниже) и их связь с механизмом цитолиза не ясна, они убедительно свидетельствуют в пользу узкой локализации цитолитического процесса в ограниченном участке мембраны ЦТЛ.

IV.3.3. Запуск, закономерности и возможные механизмы цитолитического процесса, вызванного ЦТЛ

Закономерность (6): взаимодействие рецептора (или иной лиганды) ЦТЛ с продуктом МНС (или иным трансмембранным белком) КМ не служит промежуточным этапом всего процесса, а запускает литический механизм. Это утверждение основано на том, что без взаимодействия рецептора с антигеном ЦТЛ не разрушает КМ, несмотря на высокую силу их сцепления, вызванную «нелетальным» лектином, даже при предварительном насыщении цитоплазмы ЦТЛ ионами Ca^{++} с помощью ионофора А-23187 [1292]. Та же закономерность воспроизводится при неспецифической активации литической функции иммунных ЦТЛ с помощью обработки посторонних или сингенных КМ лектином Кон А [183] или окисления периодатом натрия терминальных остатков сиаловых кислот на поверхности ЦТЛ, что приводит к возникновению на ней альдегидных групп, реактивных с КМ [543]. В обоих указанных случаях обратимое удаление продуктов МНС с поверхности данных посторонних КМ (с помощью обработки их папаином) или экранировка именно этих (но не иных) мембранных молекул КМ соответствующими антителами отменяет неспецифический цитолиз. Очевидно, что для его запуска лектинами или оксидантами необходимо также взаимодействие мембранных лиганд ЦТЛ с продуктами МНС мишеней.

Из приведенных данных следует закономерность (7). Функция КМ в запуске лизиса — пассивная. Она обеспечивает активацию ЦТЛ и чувствительность к цитолизу благодаря экспрессии на мембране КМ: а) МНС-продуктов (или их ассоциации с чужеродным белком, химическим агентом, лектином); б) других

белковых структур, контакт которых с иными, помимо рецепторов, лигандами ЦТЛ (Lyt-2,3, LFA-1, T3) необходим для стабилизации контакта рецептора с антигеном и(или) для развития летального удара. Удаление этих белков с поверхности КМ при обработке их папаином [2084, 742] или их обнажение при обработке нейраминидазой [268, 254] соответственно снижает или усиливает чувствительность КМ к цитолизу, а также их способность вызывать «холодное» ингибирование цитолиза необработанных меченых КМ. На пассивную роль КМ указывает также полное сохранение их чувствительности к специфическому цитолизу, несмотря на отмену синтетических процессов и энергетического метаболизма в их цитоплазме, а также «кэппинга» их мембранных белков в результате предварительной (до добавления ЦТЛ) мягкой фиксации глутаровым альдегидом [285] или формальдегидом [1849] (см. табл. 41).

Возможно, что при такой фиксации сохраняется активность некоторых (лизосомальных) ферментов КМ. Получены также данные о возможной активации ядерной эндонуклеазы КМ мышцы в фазе летального удара, что ведет к фрагментации их ДНК до начала цитолиза (весь процесс ингибируется Zn^{++}) [490]. Значение этого процесса для развития цитолиза остается, однако, неясным, поскольку чувствительность к цитолизу сохраняется в безъядерных КМ [1870, 761], так же как в крупных липосомах, если они содержат на наружной поверхности мембраны белок Н-2, а на внутренней — стабилизирующие белки мембранного матрикса [1342]. Кроме того, в отличие от КМ мышцы фрагментация ДНК вовсе не наблюдается в различных КМ человека в ходе их лизиса ЦТЛ [367].

(8). Лизис КМ не связан с проникновением в их цитоплазму токсических агентов — ни из ЦТЛ, ни из среды. Низкомолекулярные производные флуоресцеина, пептиды, РНК или липиды, меченные соответственно ^{51}Cr , 3H -уридином и 3H -холином, не обмениваются между ЦТЛ и КМ в индивидуальных конъюгатах, хотя подобный межклеточный обмен выявляется при культивировании диплоидных фибробластов [973, 1759]. Даже Ca^{++} , необходимый для летального удара, не проникает в цитоплазму тучных КМ при их интимном контакте на этой стадии с мембраной иммунных ЦТЛ; само по себе проникновение Ca^{++} в цитоплазму КМ с помощью ионофора А23187 не приводит к их лизису даже при условии неспецифического прикрепления КМ к ЦТЛ «нелетальным» лектином [1292].

Закономерность (8) следует также из электронно-микроскопических исследований: при самых глубоких мембранных инвагинациях не наблюдаются нарушения непрерывности обеих контактирующих мембран, их разрыва или слияния в зонах контакта [973, 1744, 304], что свидетельствует против участия щелевидных контактов (gap junctions) в механизме цитолиза [1762]. Эти данные отнюдь не исключают возможность разрыва субмембранных матричных структур КМ, что ведет к дестабилизации мембран [1342], нарушению ионной проницаемости и проявляется в ускоренном выходе ^{86}Rb (аналога K^+) из цитоплазмы КМ [1290] в самом начале летального удара, т. е. до выявления каких-либо иных изменений в этих клетках.

(9). Ферменты ЦТЛ ответственны за реализацию их функций при взаимодействии с КМ. Ингибиторы фосфолипазы А₂ (фосфатидилхолин или синтетический аналог лецитина) [621] и трипсиноподобных сериновых протеаз (TLCK) [345, 1656], действуя в нетоксичных концентрациях на ЦТЛ до или во время их контакта с КМ, отменяют цитолиз. 300-кратное превышение содержания сериновой протеазы (М. м. 28 кДа) в клонах ЦТЛ по сравнению с нецитотоксическими клонами Т-клеток коррелирует с отменой активности клонов ЦТЛ ингибиторами этой протеазы (днизопропилфторфосфатом или фенилметилсульфонилфторидом) [1558]. Такой же эффект ингибитора метилтрансфераз (3-деазааденозина) [2312], низкомолекулярных субстратов трипсина или антител к трипсину [1656] выявляется только при постоянном их присутствии в среде. Разные фазы взаимодействия ЦТЛ с КМ могут оказаться объектом последовательного действия указанных ферментов (см. ниже).

(10). Механизмы лизиса малыми ЦТЛ, индуцированными *in vivo*, и ЦТЛ-бластами, индуцированными в МЛС, не идентичны. На такую возможность указывает ряд косвенных данных. А. Аффинитет рецепторов ЦТЛ-бластов значительно ниже, чем перитонеальных ЦТЛ [1245]. В связи с этим экранировка Lyt-2 антигена на поверхности ЦТЛ-бластов (и их клонов) с помощью МкАТ дестабилизирует контакт их низкоаффинных рецепторов с антигеном КМ, что отменяет цитотоксичность. Напротив, активность перитонеальных ЦТЛ (и большинства их клонов), имеющих такую же плотность Lyt-2 на своей поверхности, резистентна к анти-Lyt-2 антителам, поскольку их высокоаффинные рецепторы не нуждаются в дополнительной стабилизации их контакта с помощью Lyt-2 [1247]. То же различие аффинитета рецепторов может лежать в основе значительно более выраженной перекрестной реактивности ЦТЛ-бластов по сравнению с ЦТЛ, индуцированными *in vivo* [636]. Корреляция перекрестной реактивности Lyt-2-зависимых клонов ЦТЛ с их способностью лизировать только те КМ, на поверхности которых с помощью предварительной обработки ИФ-γ [1854а] резко увеличена плотность молекул H-2K/D, указывает на низкую аффинность рецепторов таких ЦТЛ-клонов. Б. Морфологические различия при контакте с КМ: у перитонеальных ЦТЛ преобладают узкие червеобразные выросты [1762], а у ЦТЛ-бластов — широкая площадь многоточковых контактирующих поверхностей [306]. В. Различия чувствительности к агентам: в отличие от перитонеальных ЦТЛ, высокочувствительных к стимуляторам сАМР [1608] и дексаметазону [1787], ЦТЛ-бласты резистентны к этим агентам, но легко инактивируются 2-дезоксиглюкозой, не влияющей на активность перитонеальных ЦТЛ [1242].

(11). ЦТЛ, в особенности при индукции *in vivo*, отличаются по механизмам лизиса от некоторых других лизирующих клетки агентов, в особенности системы антитело + комплемент. Такое заключение основано на том, что события, происходящие в КМ

в фазе летального удара, не связаны с коллоидно-осмотическим лизисом («гипотоническим шоком»). В частности, ранний выход из КМ ^{86}Rb не сопровождается последовательным выделением иных компонентов с постепенно возрастающей молекулярной массой. Наблюдаемый в той же фазе зейозис (острый выход из КМ «пузырей», содержащих агрегаты микрофиламентов) также, по-видимому, связан с изменением не осмотических процессов, а структуры цитоскелета [1762, 1177].

Указанная выше фрагментация ДНК и выход меченой ДНК в цитоплазму [1741] происходят в КМ до начала их лизиса. Лишь после этих событий наблюдается дезинтеграция КМ, проявляющаяся в морфологических изменениях плазматической мембраны, нарушениях структуры митохондрий и других оргanelл, набухании цитоплазмы. Последовательность этих событий означает, что коллоидно-осмотический шок, вызывающий быструю (в течение 30 мин) гибель КМ под действием комплемента, который формирует поры в мембране КМ (размером в 5 нм в эритроцитах и 10 нм в ядерных клетках) [1292, 451], в случае действия ЦТЛ, напротив, является не причиной, а лишь конечным проявлением гибели КМ. Многие из указанных выше ингибиторов летального удара ЦТЛ (стимуляторы сАМР, ЦБ, диметилсульфоксид и др.) вовсе не влияют на токсичность комплемента, несмотря на то что присутствие Ca^{++} необходимо для развития обоих этих процессов.

Столь же отдаленным является механизм деструкции гранулоцитами, прикрепившимися к КМ, покрытым антителами; в этом случае секреция токсических гранул (которая также требует Ca^{++}) приводит к гибели КМ с такой же кинетикой и изменением морфологии, как и под действием комплемента, т. е. без зейозиса и фрагментации ДНК. Совокупность этих данных, включая также факт гибели тимоцитов под действием глюкокортикоидов, активирующих Ca^{++} -зависимую эндонуклеазу [381], означает, что участие Ca^{++} в цитолизе клеток имеет множество механизмов, каждый из которых проявляется в зависимости от цитолитического агента. Разнообразие роли Ca^{++} в цитолизе подтверждается тем, что даже при использовании двух категорий киллеров — натуральных (НК) и ЦТЛ — объектом действия Ca^{++} могут служить разные структуры клетки: в первом случае — кальмодулин цитоплазмы, ингибирование связывания которого с Ca^{++} с помощью стелазина (трифторперазина) отменяет активность НК [1636], тогда как во втором случае транспорт Ca^{++} в цитоплазму ЦТЛ или КМ не требуется для цитолиза [1292].

Наиболее вероятной представляется следующая последовательность событий при лизисе КМ под действием ЦТЛ. Следствием стабильного взаимодействия рецепторов ЦТЛ с продуктом МНС (или иной трансмембранной молекулой) КМ является модификация конформационной структуры (аккомодация) таких рецепторов. Это, в свою очередь, приводит к двум послед-

ствиям: аллостерической активации (в присутствии Ca^{++} или Sr^{++}) мембранных ферментов ЦТЛ и локальному смещению контактирующего с рецептором ЦТЛ трансмембранного белка КМ, что сопровождается нарушением его физиологической связи с липидом и обнажением фосфолипидов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты [184]. Таким образом, на мембране КМ обнажается субстрат для активированной на мембране ЦТЛ фосфолипазы А. Дестабилизации мембранных фосфолипидов способствует их метилирование (эффект метилтрансферазы).

Следствием нарушения белково-липидного взаимодействия в локальном участке мембраны КМ является увеличение чувствительности ее белкового субстрата к активированной трипсиноподобной (сериновой) протеазе мембраны ЦТЛ в фазе летального удара. Необратимость последнего этапа коррелирует с полной отменой цитолиза при инактивации сериновой протеазы TLCK, вызывающего ковалентную модификацию ее активного центра, который, возможно, сцеплен с белком T200 на поверхности ЦТЛ [1557].

Расщепление протеазами трансмембранных белков КМ (в частности, продуктов МНС) приводит: а) к нарушению и проницаемости мембраны, и структуры элементов цитоскелета, сцепленных с этими белками, что сопровождается выходом K^+ из КМ и зейозисом; б) локальному проникновению Ca^{++} в ядро КМ в участке ее контакта с червеобразным выростом ЦТЛ, что сопровождается активацией эндонуклеазы и межнуклеосомной фрагментацией ДНК. Последний процесс, по-видимому, способствует ускорению цитолиза некоторых КМ, хотя не является для него обязательным.

Изложенная концепция отвергает участие в цитолизе секретиции токсических агентов из индуцированных *in vivo* ЦТЛ и проникновение их в мембрану или цитоплазму КМ, что характерно для описанных ниже механизмов цитолиза НК. Тем не менее не исключена роль секретированных гранул в цитолизе, если он вызван индуцированными *in vitro* ЦТЛ-бластами [306] или выращенными из них клонами [1615, 828]. Участие в механизмах цитолиза лизосомальных ферментов как самих ЦТЛ, так и КМ также остается неисследованным.

IV.3.4. Разнообразие киллеров и неоднородность механизмов цитолиза

Особый интерес представляет соотношение между ЦТЛ и НК животных и человека, для выявления цитолитической активности которых, в отличие от ЦТЛ, предварительная иммунизация не требуется. Несмотря на разноречивость данных о природе НК, их маркеров, мишенях, механизмах цитолиза и биологических эффектах, в самое последнее время наступило некоторое прояснение этих проблем (см. обзоры [1521, 25, 21]). Стало очевидным, что большая часть НК — «большие гранулярные лимфо-

циты» (LGL)²², составляющие около 3% мононуклеарных клеток крови и селезенки. Около 80% LGL не только лизируют чувствительные КМ, но и секретируют множество лимфокинов — ИЛ-1, ИЛ-2, интерферон, CSF, что способствует генерации ЦТЛ в аллогенной MLC [1999]. Часть LGL продуцирует BCGF [1624a] и выполняет функцию А-клеток [1773a].

Реализация всего этого комплекса функций даже клонированными линиями LGL [833], связана, по-видимому, с обилием азурофильных гранул в их цитоплазме. Хотя НК/LGL не несут Ig, т. е. не относятся к категории В-клеток и подобны моноцитам по морфологии (диаметр 16—20 мкм, «почкообразная» форма ядра, высокое цитоплазменно-ядерное отношение), они моноцитами также не являются: не прилипают к нейлоновой вате и пластику, не фагоцитируют, не содержат неспецифическую эстеразу и С3R. До сих пор дискутируется вопрос о том, к какой категории костномозговых потомков принадлежат НК/LGL. Большая их часть имеет специальные маркеры, выявляемые MkAT к НК-1, НК-2 и НК-3 мыши [1616] и к НК человека — N901 [740] и B73.1 (детерминанта FcR [1575]). Отсутствие этих маркеров на других клетках позволило бы отнести НК к специальной клеточной популяции, если бы они не отличались разнообразием экспрессии иных маркеров, общих с теми или другими кроветворными клетками. В частности, маркеры НК Leu11 и 3G8 (детерминанты FcR) экспрессированы на гранулоцитах, Mac-1 мыши и ОКМ-1 человека — на моноцитах/МФ, асиало-GM1 — на тех и на других, Thy-1, Lyt-1, Lyt-2, Ly-5 мыши, ОХ8 крысы, Т8, Т10, Т11/Leu5, HNK-1 человека — на тимоцитах и части периферических Т-клеток.

Экспрессия на НК множества разнообразных маркеров иных клеток и несовпадение некоторых субпопуляций НК по экспрессии маркеров (например, Т11 и ОКМ-1 человека) указывают на происхождение НК из ранних потомков плюрипотентных СКК, дифференцирующихся в разных направлениях (Т-лимфоидное, миелоидное, моноцитарное) с остановкой дифференцировки на одной из ранних стадий. В пользу последнего предположения свидетельствует отсутствие на НК специализированных маркеров зрелых моноцитов (МО2, Leu-M1, Leu-M3) и зрелых Т-клеток человека (Т3, Т4/Leu3) [1521, 1582], одновременная экспрессия на малой части НК маркеров двух разных линий дифференцировки — Т-лимфоцитов (Т11) и моноцитов (ОКМ-1) [2306], а также высокая НК-активность промоноцитов, выделенных из костного мозга мыши [1209]. Связь части НК с предшественниками Т-лимфоцитов, а не со зрелыми Т-клетками, следует из того, что частота и активность НК (в том числе несущих низкий уровень антигена Thy-1) резко возрастает при отсутствии дифференцировки Т-лимфоцитов у бестимусных мышей [1022] и крыс [1678], при угнетении той же дифференцировки неонатальной

²² Large granular lymphocytes.

тимэктомней [1493] или даже при искусственной элиминации зрелых Т-клеток (включая пЦТЛ) введенными мышам МкАТ к Thy-1 [1164]. Резкое снижение экспрессии одного из основных маркеров НК — асиало-GM1 — на тимоцитах в ходе их дифференцировки в эмбриогенезе также указывает на принадлежность НК к низкодифференцированным клеткам.

Мишенью для цитолитического эффекта НК служат низкодифференцированные клетки — опухолевые или нормальные, происходящие из костного мозга (включая стволовые клетки) или тимуса (в особенности эмбрионального). Высокая чувствительность лейкоцитов и лимфоцитов к НК, а солидных фибросарком (растущих в виде прикрепленного к подложке монослоя) — к НК-клеткам (натуральные цитотоксические клетки — вариант НК/LGL, лишенный большинства перечисленных выше маркеров) связана с трансформацией соответственно лимфоцитов и фибробластов [1203]. Искусственная индукция *in vitro* дифференцировки разнообразных опухолевых клеток, в особенности эмбриональной карциномы [1953], приводит к исчезновению их чувствительности к НК-цитотоксичности и даже способности ингибировать цитотоксичность, т. е. связываться с НК-клетками [659]. Природа структуры, распознаваемой НК-клетками на поверхности чувствительных КМ, не выяснена. Одной из таких структур может оказаться гидрофобный фрагмент (М. м. 70 кДа) рецептора к трансферрину (Т9), экспрессированного на многих низкодифференцированных клетках и существенного для их пролиферации [2144], или иная структура, экспрессия которой на поверхности клеток связана с Т9 [473].

Очевидно, что НК не относятся к категории ЦТЛ, независимо от возможности экспрессии сходных маркеров на их поверхности. В отличие от индуцированных *in vivo* специфичных ЦТЛ, НК, так же как выращенные из них клоны, лишены специфичности [1583, 55], не имеют иммунологической памяти, т. е. не подвержены антигензависимой дифференцировке. Их эффект не рестриктирован по МНС, не требует экспрессии продуктов МНС на КМ (НК лизируют клетки тератокарциномы, лишенные МНС) [1954], не ингибируется антителами к продуктам МНС [832] и даже возрастает при отсутствии экспрессии этих продуктов на клетках опухолей [1208a].

Хотя активность НК возрастает в аллогенной МЛС даже до дифференцировки ЦТЛ, две указанные категории киллеров (и их предшественники) могут быть четко разделены и в этом случае: а) пре-НК и пЦТЛ — разные клетки крови, поскольку они могут быть физически разделены с помощью флуоресцентного сортера после обработки соответствующими МкАТ [1964]; б) в отличие от дифференцировки ЦТЛ рост НК-активности в МЛС не требует синтеза ДНК [1538]; в) высокоактивные НК и ЦТЛ, созревшие в 5-дневной МЛС, не только различаются спектром своей специфичности [229], но несут разный фенотип и в связи с этим могут быть разделены (НК — Leu1⁺3⁺11⁺, а ЦТЛ — Leu1⁺3⁺11⁻) [1582]. МкАТ к этим и иным маркерам разделяют ЦТЛ и НК не только из МЛС, но и выращенные из этих клеток клоны [1562]. Даже если некоторые из высокоспецифичных клонированных ЦТЛ обратимо приобретают в определенных условиях культивирования свойства и маркеры НК [280, 36], ли- зис клетками такого типа двух разных КМ (чувствительных к

ЦТЛ и НК) связан с активностью двух независимых рецепторов, экспрессированных на одном и том же клонированном киллере «двойной» специфичности мыши [208] и человека [1408].

Несмотря на сходство основных этапов цитолиза, вызванного НК и ЦТЛ [856], детальное рассмотрение этих этапов указывает на существенные различия их маркеров, участвующих в цитолизе. Хотя оба маркера киллеров — *Lyt-2* и *Ly5*, необходимые для цитолитической активности, могут быть экспрессированы на поверхности и НК и ЦТЛ мыши, экранировка *Lyt-2* соответствующими МкАТ отменяет цитолиз только ЦТЛ, но не НК [692], а экранировка *Ly5*, напротив, — только НК, но не ЦТЛ [1377, 1819]. Подобные результаты получены при избирательной инактивации НК, но не ЦТЛ человека МкАТ к LGL (9.1C3) даже при добавлении их после прочного связывания НК с КМ [297].

Таким образом, разные мембранные маркеры НК и ЦТЛ ответственны за одни и те же этапы их цитолитической активности даже при экспрессии этих маркеров на киллерах обоих типов (более универсальный маркер *LFA-1*, см. выше, стабилизирует межмембранные контакты, необходимые для цитолиза любыми киллерами [845]).

Еще отчетливее различия механизмов цитолиза, осуществляемого НК и ЦТЛ. Определяющую роль в цитолитическом механизме действия НК играет секреция азурофильных гранул из их цитоплазмы: отсутствие или снижение числа таких гранул в НК некоторых линий мышей (например, *beige* мутанта *bg/bg*) или их естественная элиминация с возрастом приводит к исчезновению цитолитической активности в аналогах LGL — клетках LAL (*large agranular lymphocytes*), несмотря на сохранение их способности связываться с чувствительными КМ [927]. Подобная корреляция снижения НК-активности LGL с исчезновением их азурофильных гранул наблюдается при хронической лимфоидной лейкемии человека [1001].

На решающую роль гранул НК в реализации их цитолитической активности указывают более прямые данные: а) искусственная дегрануляция LGL при их обработке Sr^{++} (5—10 мМ) [1471] или нарушение внутриклеточного перемещения гранул монензином [326] приводит к обратимой отмене цитолитической активности НК (без влияния на их связывание с КМ), которая восстанавливается параллельно с возникновением новых гранул или при возобновлении их транспорта в цитоплазме; б) ингибирование арилсульфатазы — одного из ферментов гранул НК, который перемещается в зону контакта НК с КМ до их лизиса, — резко снижает активность НК [2321]; в) очищенные гранулы LGL (но не других клеток) воспроизводят литический эффект НК на чувствительные КМ в присутствии Ca^{++} [827], а антисыворотка к белкам этих гранул инактивирует не только гранулы, но и живые НК [1293, 828]; г) литический эффект НК связан с выделением из секретированных ими гранул протеогликана

(200 кДа), поскольку предотвращение его выделения МкАТ к КМ отменяет их лизис [1790a].

Цитолитическая активность индуцированных *in vivo* ЦТЛ в отличие от НК, видимо, не связана с секрецией гранул или каких-либо токсических факторов. Такое предположение следует из того, что Sr^{++} , инактивируя НК посредством их дегрануляции, напротив, стимулирует активность ЦТЛ, заменяя Ca^{++} в фазе летального удара (см. выше). Кроме того, антитела к белкам гранул нейтрализуют НК, но не влияют на активность ЦТЛ. Наконец, обязательным этапом НК-цитоллиза является секреция ими цитотоксического фактора (ЦФНК — протеина с молекулярной массой 12 кДа, возможно, одного из продуктов секретируемых гранул). Этот процесс активируется после контакта только НК/LGL ($Thy-1^{-}$, асиало-GM1⁺) с чувствительными к ним КМ, что сопровождается связыванием ЦФНК с поверхностью КМ и их последующим лизисом [2255].

Напротив, цитолитический фактор, ответственный за функцию классических ЦТЛ (рестриктированных по молекуле МНС класса I), до сих пор не идентифицирован (обнаружение его некоторыми авторами не подтверждено). Лимфотоксин, как известно, является продуктом субкласса Т-лимфоцитов Ly1 или их клонов, не имеющих отношения к классическим ЦТЛ [395]. Нейтрализующие лимфотоксин антитела, как правило, не влияют на функцию ЦТЛ, а инактивирующие ЦТЛ стимуляторы сАМР, напротив, не тормозят секрецию лимфотоксина [831]. Еще один лимфокин — ИФ- γ , который стимулирует функцию НК в результате увеличения активности секретируемого ЦФНК в фазе летального удара [2257] или, напротив, подавляет функцию НК в результате торможения секреции ЦФНК при предварительной обработке КМ [2258], в обоих случаях не оказывает существенного влияния на функцию ЦТЛ [2099].

Тем не менее, помимо классических ЦТЛ Ly-2 (L3T4⁻), найдена иная категория ЦТЛ (и выращены их клоны), имеющих обратный фенотип $Ly1-1+2^{-}$, L3T4⁺, рестриктированных по молекуле МНС класса II (I-A или I-E), специфичных к вирусу гриппа [1233], к ОВА [2082a], к Ig сингенных В-лимфоцитов [472a]. Связь литического механизма подобных вариантов ЦТЛ Ly1 с секрецией лимфотоксина не исключена, хотя окончательно не доказана.

В пользу различия механизмов цитолиза, вызванного НК и ЦТЛ, свидетельствует также избирательность его чувствительности к ингибиторам синтеза белка и ферментативных активностей. В частности, КМ, резистентные к эффекту НК и чувствительные к эффекту ЦТЛ, приобретают чувствительность к НК, если в КМ подавлен синтез белка, что вовсе не отражается на степени их чувствительности к ЦТЛ [1559]. Указанные выше ингибиторы функции ЦТЛ — Zn и TLCK — не влияют на функцию НК, тогда как ингибитор химотрипсиноподобных протеаз (TRCK)²³ напротив, инактивирует НК, но не ЦТЛ [1636]. Кроме

²³ Тозилфенилхлорметилкстон.

того, ТРСК отменяет активацию мембранных ферментов НК до добавления Ca^{++} , тогда как инактивирующий эффект ТЛСК на ЦТЛ проявляется только во время летального удара, т. е. прямо отменяет механизм цитолиза.

Таким образом если в основе НК-цитолiza лежит Ca^{++} -зависимая секреция содержащих ЦФНК гранул, полимеризация субъединиц ЦФНК, адсорбция их на рецепторах чувствительных КМ и внедрение в мембрану КМ [857, 2259], то в основе цитолиза, вызванного индуцированными *in vivo* ЦТЛ, лежит, по-видимому, иная цепь событий. Как указано выше, она связана не с секрецией токсического агента, а с локальным контактом мембранных рецепторов и ферментов ЦТЛ (активация которых также требует Ca^{++}) с соответствующими субстратами мембраны КМ, что сопровождается изменением их пространственного расположения в мембране с последующим нарушением структуры цитоскелета и ядра.

Различия механизмов как активации, так и реализации цитолиза могут проявиться даже при одновременном лизисе двух разных КМ, прикрепившихся к одному НК за счет разных структур, если аффинные FcR на поверхности данной НК связывают IgG. В этом случае одна из КМ чувствительна к НК, а вторая, покрытая антителами, — к К (киллерной)-клетке (феномен ADCC). Поскольку лизис только второй КМ подавляется при элиминации или блокировке FcR, очевидно, что механизмы активации цитолиза в одной и той же эффекторной клетке (НК/К) не совпадают [253]. Можно предположить, что и механизмы реализации цитолиза двух указанных КМ данной НК/К не идентичны: ADCC приближается по своему механизму, морфологии и чувствительности к ингибиторам к эффекту ЦТЛ, а не НК [690, 1762]. Таким образом, механизмы цитолиза, вызванного разными категориями эффекторных клеток, могут быть неидентичными, несмотря на сходство феноменологии, этапов, участия Ca^{++} и некоторых ферментов.

Следует также иметь в виду, что, помимо ЦТЛ, НК и К-клеток, в ауто-, аллоMLC и в MLTC мыши и человека генерируются «атипичные», или «аномальные», киллеры (АК) [1826, 708]. Они образуются также при культивировании лимфоцитов с ИЛ-2 (ЛАК — киллеры, активированные лимфокином) [741] или просто при длительном культивировании клонов лимфоцитов человека [584] и мыши [1880] — старые «aged» клетки, также обозначенные как АК. Мишенями для АК и ЛАК являются сингенные и аллогенные клетки опухолей, полученные непосредственно от больных и резистентные к эффекту НК, что может оказаться существенным для иммунотерапии метастазов [1722]. Чувствительность клеток меланомы человека к лизису АК связана с экспрессией на ее поверхности ганглиозидов, взаимодействующих с рецептором лектинового типа, который возникает на АК при их активации в MLC [2216a]. Хотя АК и ЛАК не являются НК, несут маркеры активированных Т-лимфоцитов, выяв-

ляются у beige, но не у nude мышей, они отличаются и от классических ЦТЛ отсутствием специфичности и генетической рестрикции, а также происхождением не из Т-клеток [741, 1658]. Можно полагать, что возникновение АК и ЛАК в культуре связано с дифференцировкой ПТ, а не зрелых пЦТЛ.

Эти два процесса могут быть разделены: АК не возникают в МЛС при добавлении в среду малой концентрации глюкокортикоидов, не снижающих генерацию ЦТЛ из их зрелых предшественников [1435]. Таким образом, несмотря на разнообразие киллеров, индуцированных в культуре, они могут быть разделены не только с помощью МкАТ к их маркерам, но также и в результате определенных различий в свойствах предшественников и условий их дифференцировки.

IV.3.5. Протективный эффект ЦТЛ при вирусных инфекциях

Биологические эффекты *in vivo* ЦТЛ и других вариантов киллеров имеют прямое отношение к иммунотерапии ряда заболеваний. Помимо описанных в гл. III противоопухолевых эффектов ЦТЛ и их клонов, особый интерес представляет способность ЦТЛ, специфичных к вирусным белкам, подавлять репликацию вируса, введенного мышам в летальной дозе, что приводит к их полному выздоровлению, а также предотвращению вирусоносительства. Для получения этих эффектов достаточно однократной инъекции инфицированным мышам ЦТЛ, специфичных к вирусам лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) [951], оспы [1011], гриппа [2284], осповакцины [2315]. Протективный эффект ЦТЛ воспроизведен у 63 добровольцев, инфицированных вирусом гриппа: исчезновение вируса коррелирует в этих случаях не с возникновением антител, а с эффективностью противовирусных ЦТЛ [1329].

Для индукции протективных ЦТЛ достаточно однократной инъекции живого вируса *in vivo* или повторной иммунизации *in vitro* инфицированными сингенными клетками. Протективный эффект коррелирует с активностью ЦТЛ в культуре и требует идентичности между инфицированными иммунизирующими клетками и реципиентом хотя бы по одному из продуктов МНС класса I (H-2K/D); напротив, совпадение по I-району МНС не требуется для протективного эффекта ЦТЛ. Это означает, что не только в культуре (гл. III.1), но и *in vivo* ЦТЛ распознают вирусный антиген при условии его ассоциации с молекулами H-2K/D инфицированных клеток. В связи с этим мутантного изменения одной из молекул МНС — H-2K^b при инфекции вирусом ЛХМ [2314], эктромелии [215], Сендай [459] или H-2D^b при инфекции вирусом лейкемии Молони [1971] или Френд [350] — достаточно для снижения или исчезновения противовирусной или противоопухолевой активности ЦТЛ, специфичных к тому же вирусу в комплексе с антигеном H-2 дикого типа. Во всех этих случаях инактивация противовирусных ЦТЛ сочетается с полно-

ценной экспрессией вирусных антигенов на поверхности КМ и нормальной их реакцией с противовирусными антителами.

Несмотря на зависимость протективного эффекта ЦТЛ *in vivo* от степени цитолиза *in vitro* КМ, инфицированных тем же вирусом, противовирусной активности ЦТЛ в культуре недостаточно для протективного эффекта. Во-первых, такой эффект ЦТЛ Lu23, специфически лизирующих *in vitro* КМ, инфицированных вирусом ЛХМ, проявляется *in vivo* только в сочетании с ЦТЛ Lu123, специфичными к тому же вирусу [2134]. Во-вторых, если вторичные ЦТЛ [1278] или их клоны [1415, 2057], специфичные к данному вирусу, активированы *in vitro* не вирусом, а митогеном или ИЛ-2, их высокая (и специфическая) цитолитическая активность *in vitro* не сопровождается протективным эффектом *in vivo* ввиду неспособности таких ЦТЛ с измененной поверхностью взаимодействовать с клетками стромы селезенки, что приводит к их миграции в печень и быстрому разрушению, и производить ИФ-γ, который, возможно, защищает их самих от вируса.

Особенно эффективно защищают от инфекции клоны ЦТЛ, если они выращены в присутствии не только ИЛ-2, но и антигена (инфицированных вирусом сингенных клеток). В этом случае однократная внутривенная инъекция мышам, предварительно инфицированным летальной дозой вируса гриппа, $3 \cdot 10^6$ ЦТЛ Lu23 приводит к 5-кратному продлению срока жизни [1202], а $10 \cdot 10^6$ ЦТЛ — к полному излечению [1232] (подобный протективный эффект получен при введении мышам противовирусного клона ЦТЛ с фенотипом $L3T4^+$, $Lyt-1^+2^-$, рестриктированного по молекуле I-E МНС класса II [1233]).

Важно отметить совпадение перекрестной специфичности протективного эффекта *in vivo* и цитолиза *in vitro*: при инфицировании мыши двумя субтипами вируса гриппа А ее защищает только тот клон ЦТЛ, который перекрестно реагирует *in vitro* на оба эти субтипа, тогда как клон, узкоспецифичный к одному из субтипов, защищает при условии инфекции только тем же, но не другим и не обоими субтипами.

В связи с этим специальный интерес для иммунотерапии представляют особенности специфичности противовирусных ЦТЛ, распознающих разные белки данного вируса или разные детерминанты данного белка. Как правило, в отличие от узкоспецифичных антител, реагирующих с определенной детерминантной ГА вируса гриппа только данного субтипа, большинство ЦТЛ и их клонов, реагирующих с тем же белком, неоднородны по своей специфичности, перекрестно реагируя на белки нескольких субтипов данного типа вируса гриппа [505, 1201, 1528]. Та же закономерность выявляется при иммунизации основным гликопротеидом вируса везикулярного стоматита [1825, 1726], включая его мутантный вариант [2316]. Детальное изучение специфичности противовирусных ЦТЛ показало, что их можно разделить на несколько субпопуляций или клонов, распознающих разные белки вируса: мембранный ГА [2322, 247], матричный белок или нуклеопротеид вируса гриппа [1014, 2092] и неструктурный «ранний» белок [1655], синтезируемый в течение 10—40 мин после инфекции и экспрессированный на мембране

КМ до сборки и репликации вирусных частиц и даже в отсутствие репликации.

Реакцию противовирусных ЦТЛ с ГА и нуклеопротеидом вируса гриппа на поверхности инфицированной КМ можно считать твердо установленной: чувствительность неинфицированных КМ к специфическому эффекту таких ЦТЛ возникает при слиянии КМ с липосомами, содержащими ГА [1063], при трансфекции в L-клетки мыши гена ГА [250] или в клетки Р815 мыши гена нуклеопротеида, включенного в рекомбинантный геном вируса вакцины [2287]. Хотя в отличие от ГА нуклеопротеид вируса экспрессируется на наружной поверхности мембраны лишь некоторых клеток на низком уровне [2287], его эффективное распознавание клонами ЦТЛ может быть связано со способностью данных КМ «процессировать» этот белок, что приводит к экспрессии на мембране его фрагментов, не определяемых антителами и ассоциированных с молекулой МНС класса I. Не исключена также возможность формирования в цитоплазме комплекса Н-цепи этой молекулы с вирусным нуклеопротеидом, что меняет конформационную структуру одного (или обоих) компонентов такого комплекса, экспрессированного на поверхности КМ и распознаваемого только рецепторами ЦТЛ, но не антителами.

Перекрестная реактивность ЦТЛ выявляется также при их специфичности к онкорнавирусам. Некоторые клоны ЦТЛ, специфичные к белку вируса SV40 и ответственные за иммунитет к индуцированной им опухоли, реагируют на белок иного вируса из семейства Рарова, что приводит к перекрестному противоопухолевому иммунитету [313]. В подобных случаях при иммунизации вирусами лейкемии Френд [385], Гросса [723] или саркомы Молони [2049] ЦТЛ распознают мембранный вирусный белок — гликопротеид с молекулярной массой 70 кДа, что прямо показано с помощью трансфекции гена *env*, кодирующего этот белок, в неинфицированные КМ [592]. Возможно, что реакция именно на этот белок высокоактивных ЦТЛ, возникающих *in vivo* после внутритимусной инъекции мышам вируса лейкемии Молони, приводит к отмене виремии и возникновению лимфом [2303].

Несмотря на свою неоднородность, ЦТЛ, специфичные к одному мембранному вирусному белку, по-видимому, распознают в таком белке иную структуру по сравнению с противовирусными антителами, реагирующими с тем же белком вируса. Основанием для такого предположения является неспособность (или очень слабая способность) указанных антител (в том числе МкАТ) [1726], предварительно адсорбированных на инфицированных КМ, ингибировать эффект ЦТЛ (в тех же условиях эффект ЦТЛ легко ингибируется антителами к определенной молекуле Н-2К/Д, ассоциированной с вирусным белком на поверхности КМ).

Очевидно, что важнейшей проблемой для изучения тонкой специфичности рецепторов противовирусных ЦТЛ, создания эффективных вакцин и выращивания протективных клонов ЦТЛ является выяснение распознаваемых ими пептидных фрагментов данной молекулы вируса (подобные исследования пептидов ГА вируса гриппа, распознаваемых Т-хелперами, описаны в гл. V.3.2), их очистка и синтез. Иной (не менее важный) подход — противовирусная вакцинация путем введения вместо ви-

русных антигенов антиидиотипических антител к антителам, рецепторам Т-хелперов или пЦТЛ, специфичным к определенным детерминантам вирусного белка. В этих случаях антиидиотипические антитела могут не только заменять вирусный белок в качестве вакцинирующего агента, но и индуцировать противовирусные ЦТЛ, специфичные к вирусу Сендай [535] или реовирусу [1830]. Рецепторы таких ЦТЛ обладают даже более высоким сродством к вирусному антигену, чем при иммунизации самим этим антигеном.

Таким образом, изучение тонкой специфичности рецепторов противовирусных Т-лимфоцитов, получение антиидиотипических антител к этим рецепторам и выделение (и синтез) пептидных фрагментов данного вирусного белка, распознаваемых рецепторами соответствующего Т-субкласса,—задачи, весьма перспективные как для теоретической иммунологии, так и для противовирусной и противоопухолевой медицины.

V

ГЛАВА

АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ Т-ЛИМФОЦИТОВ

V.1. Т-рецептор, иммуноглобулины и идиотипы

V.1.1. Трудности и артефакты при сравнительном исследовании Т-рецептора и иммуноглобулина

Каждый из Т-субклассов начинает свою деятельность с распознавания антигена при помощи специфических антигенсвязывающих рецепторов. Независимо от природы этих рецепторов, их можно определить как структуры, характеризующиеся четырьмя признаками: они находятся на поверхности лимфоидной клетки, синтезируются несущей их клеткой, специфически связываются с антигеном, активируя несущую их клетку, т. е. приводя ее в состояние, при котором она выполняет свойственную ей функцию.

Такие, казалось бы, элементарные условия идентификации Т-рецепторов трудно реализовать из-за их неспособности прямо связываться с нативным антигеном *in vitro*, низкой плотности, сложности строения и лабильности их экспрессии на мембране (гл. V.5). Здесь следует указать, что экспрессия FcR на поверхности части Т-клеток, в особенности после их активации антигеном или митогеном, приводит к связыванию Ig с поверхностью Т-клетки и возникновению таким образом «ложных» Т-рецепторов, реагирующих с антигеном. Последнее обстоятельство особенно существенно при неполной очистке Т-клеток (например, с помощью фильтрации клеток селезенки через нейлоновую вату или получения Т-химеры при введении тимоцитов летально облученной мыши). Малой примеси В-лимфоцитов (1—2%) достаточно в этих случаях для синтеза Ig (включая цитотфильные антитела), их пассивной адсорбции на Т-клетках, последующей модификации на мембране и получения экспериментальных артефактов [1208, 891]. Особенно показательны опыты по переносу облученным мышам [892] и крысам [899] лимфоцитов аллогенного донора, отличающегося от реципиента аллотипом Ig: весь Ig, выявленный в этих случаях на поверхности Т-лимфоцитов доноров (классов IgM и IgG), был синтезирован не ими, а либо В-клетками донора, либо происходил от клеток реципиента.

FcR Т-клеток имеют особенности, способствующие ложным результатам при изучении антигенсвязывающих рецепторов. 1. Два типа FcR, связывающих IgM (Fc_μR) и IgG (Fc_γR), экспрессируются на неперекрывающихся субпопуляциях Т-клеток селезенки мыши (соответственно 7—15 и 24%) [70, 1896] и человека [1411]. 2. Экспрессия FcR на поверхности Т-клеток чрезвычайно ла-

бильна. Особенно резко она возрастает на клетках Ly1, активированных Ia-молекулой в MLC [1412]. На клонированных Т-клетках может возникать набор FcR к разным изотипам Ig [418], а присоединение молекулы Ig к FcR Т-клетки стимулирует возникновение разнообразных FcR [417]. FcR легко слущивается с поверхности неспецифических Т-супрессоров в виде фактора IBF (гл. IV.2.1) с исследованной молекулярной структурой [959]. 3. FcR в отличие от Fc_γR синтезируются de novo при простой инкубации Т-лимфоцитов человека в течение 24 ч в культуральной среде и связывают IgM даже в неагрегированной форме (т. е. без его комплекса с антигеном) [1410], что увеличивает вероятность пассивной фиксации IgM на поверхности Т-клеток.

Появление Ig на поверхности Т-клеток, активированных аллоантигеном *in vivo* [1571, 892], или в MLC мыши [1441], а также крысы [563], связано не только с увеличением мембранной экспрессии FcR. Взаимодействие истинных анти-MHC рецепторов иммунных Т-клеток с соответствующим продуктом MHC сопровождается последующим связыванием с такой клеткой антител к тому же продукту. Этот феномен отменяется, т. е. доля иммунных Т-бластов, несущих Ig на поверхности, резко снижается, если В-клетки предварительно удалены из популяции реагирующих в MLC нормальных Т-лимфоцитов. Добавления лишь 1% В-клеток к очищенным нормальным Т-лимфоцитам достаточно для восстановления высокой доли Ig-несущих Т-бластов, активированных в MLC.

Выявление на Т-лимфоцитах *in vivo* не только цельной молекулы Ig, но и идиотипических детерминант антител также может быть связано с контаминацией В-клетками, синтезирующими антитела с данным идиотипом. Возможно, в связи с этим идиотипы антител к гаптену ТНФ, экспрессированные на части Т-клеток хелперной группы [1287], или к гаптену АБА в факторе TsF₁ [2021] перестают выявляться, если дифференцировка В-клеток *in vivo* подавлена многократным введением мыши анти-μ антител (другие возможные причины обнаружения идиотипа Ig на Т-клетках и их связи с функцией Т-рецепторов рассмотрены ниже).

Очевидно, что для исследования истинных Т-рецепторов необходимо учитывать их особенности и возможность их контаминации пассивно адсорбированным Ig. Несоблюдение этих принципов приводило к периодической публикации данных об иллюзорных рецепторах Т-клеток, идентифицированных не прямо, а на основании той или иной аналогии со свойствами Ig. К числу таких неадекватных подходов и интерпретаций полученных результатов относятся: выявление на поверхности Т-клеток цельной молекулы Ig или варианта IgM (обозначенного IgT), отличающегося от классического IgM (19S) константой седиментации (8S), повышенной чувствительностью к детергенту, отсутствием реакции с антителами к IgM; обнаружение на Т-клетках детерминант V_H- или V_L-цепи, а также идиотипов — продуктов V-генов Ig; синтез Ig в тимоцитах *in vitro* или *in vivo* — при переносе облученным аллогенным мышам клеток редуцированного тимуса «старых» мышей (в возрасте более 5,5 месяцев), содержащего

высокую долю предшественников В-клеток; инактивация данного Т-субкласса или, напротив, активация его функции антителами к Ig, V_H , V_L , идиотипу; выявление на Т-клетках продуктов генов, локализованных на XII хромосоме в комплексе с Igh-C геном. Множество косвенных данных подобного рода, не имеющих отношения к природе истинных рецепторов Т-клеток, подвергнуто критическому анализу в обзорах [410, 7, 948, 1083, 401].

V.1.2. Отличия Т-рецепторов от Ig и его фрагментов

При попытках в ранних исследованиях выявить истинные Т-рецепторы (гл. V.2) связывание последних с антигеном не блокировалось антителами к Ig трех классов, Fab-фрагменту, Н- и L-цепям Ig. Этот факт был установлен при специфической адсорбции аллоиммунных ЦТЛ мыши [267] или пЦТЛ крысы [2213] на монослое КМ, тогда как анти-Ig блокировал связывание В-лимфоцитов с теми же аллоантигенами в тесте розеткообразования [269]. Контакт рецепторов Т-лимфоцитов с 125 I-меченным белком или синтетическим полипептидом в условиях, исключающих пассивную адсорбцию Ig на Т-клетках, также не подавлялся антителами к Ig [772, 141, 1020]. Окончательное доказательство отсутствия связи рецепторов Т-клеток с синтезом как цельной молекулы Ig, так и его V- и С-доменов — отсутствие перестройки J- и С-генов Н-цепи в высокоспецифичных клонах ЦТЛ [331, 219] и Т-хелперов [1082], а также в Т-гибридомах с активностью хелперов [1084] и супрессоров [1453]. В связи с этим транскрипция V-генов Ig в Т-клетках не происходит даже при объединении в некоторых ЦТЛ-клонах одного из сегментов семейства D-генов с одним из J-генов Ig [1109]. Использование высокочувствительного теста гибридизации с кДНК, позволяющего выявлять единичную копию мРНК на клетку, не позволило обнаружить транскрипцию V-гена Ig в клетках стабильных линий и гибридом Т-хелперов и Т-супрессоров, специфичных к пептиду GAT [1070], фосфорилхолину [1453] и другим антигенам [1019].

Напротив, в клетках тимуса или тимом наблюдается транскрипция части генов Ig (κ -, μ - и α -цепей), что, однако, сопровождается низким уровнем синтеза Ig в культуре тимоцитов [1959] или полным отсутствием трансляции мРНК в клетках тимомы [2176].

В связи с отсутствием перестройки и транскрипции генов Ig, на поверхности или в структуре растворенной мембраны очищенных Т-клеток кролика [2236, 947], человека [1103] и мыши [1312, 1492, 680, 989] не экспрессируются ни цельная молекула Ig различных классов (включая IgM), ни константные участки их Н- и L-цепей, ни переменный участок Н-цепи (V_H), ни N-концевой отрезок Fab-фрагмента, объединяющий V-участки обеих цепей (V_H и V_L) и несущий всю специфическую активность антитела. Эти факты выявлены с помощью чувствительных тестов (вклю-

бильна. Особенно резко она возрастает на клетках Ly1, активированных Ia-молекулой в MLC [1412]. На клонированных Т-клетках может возникать набор FcR к разным изотипам Ig [418], а присоединение молекулы Ig к FcR Т-клетки стимулирует возникновение разнообразных FcR [417]. FcR легко слущивается с поверхности неспецифических Т-супрессоров в виде фактора IBF (гл. IV.2.1) с исследованной молекулярной структурой [959]. 3. FcR в отличие от Fc_γR синтезируются de novo при простой инкубации Т-лимфоцитов человека в течение 24 ч в культуральной среде и связывают IgM даже в неагрегированной форме (т. е. без его комплекса с антигеном) [1410], что увеличивает вероятность пассивной фиксации IgM на поверхности Т-клеток.

Появление Ig на поверхности Т-клеток, активированных аллоантигеном *in vivo* [1571, 892], или в MLC мыши [1441], а также крысы [563], связано не только с увеличением мембранной экспрессии FcR. Взаимодействие истинных анти-MHC рецепторов иммунных Т-клеток с соответствующим продуктом MHC сопровождается последующим связыванием с такой клеткой антител к тому же продукту. Этот феномен отменяется, т. е. доля иммунных Т-бластов, несущих Ig на поверхности, резко снижается, если В-клетки предварительно удалены из популяции реагирующих в MLC нормальных Т-лимфоцитов. Добавления лишь 1% В-клеток к очищенным нормальным Т-лимфоцитам достаточно для восстановления высокой доли Ig-несущих Т-бластов, активированных в MLC.

Выявление на Т-лимфоцитах *in vivo* не только цельной молекулы Ig, но и идиотипических детерминант антител также может быть связано с контаминацией В-клетками, синтезирующими антитела с данным идиотипом. Возможно, в связи с этим идиотипы антител к гаптену ТНФ, экспрессированные на части Т-клеток хелперной группы [1287], или к гаптену АБА в факторе TsF₁ [2021] перестают выявляться, если дифференцировка В-клеток *in vivo* подавлена многократным введением мыши анти-μ антител (другие возможные причины обнаружения идиотипа Ig на Т-клетках и их связи с функцией Т-рецепторов рассмотрены ниже).

Очевидно, что для исследования истинных Т-рецепторов необходимо учитывать их особенности и возможность их контаминации пассивно адсорбированным Ig. Несоблюдение этих принципов приводило к периодической публикации данных об иллюзорных рецепторах Т-клеток, идентифицированных не прямо, а на основании той или иной аналогии со свойствами Ig. К числу таких неадекватных подходов и интерпретаций полученных результатов относятся: выявление на поверхности Т-клеток цельной молекулы Ig или варианта IgM (обозначенного IgT), отличающегося от классического IgM (19S) константой седиментации (8S), повышенной чувствительностью к детергенту, отсутствием реакции с антителами к IgM; обнаружение на Т-клетках детерминант V_H- или V_L-цепи, а также идиотипов — продуктов V-генов Ig; синтез Ig в тимоцитах *in vitro* или *in vivo* — при переносе облученным аллогенным мышам клеток редуцированного тимуса «старых» мышей (в возрасте более 5,5 месяцев), содержащего

высокую долю предшественников В-клеток; инактивация данного Т-субкласса или, напротив, активация его функции антителами к Ig, V_H , V_L , идиотипу; выявление на Т-клетках продуктов генов, локализованных на XII хромосоме в комплексе с Igh-C геном. Множество косвенных данных подобного рода, не имеющих отношения к природе истинных рецепторов Т-клеток, подвергнуто критическому анализу в обзорах [410, 7, 948, 1083, 401].

V.1.2. Отличия Т-рецепторов от Ig и его фрагментов

При попытках в ранних исследованиях выявить истинные Т-рецепторы (гл. V.2) связывание последних с антигеном не блокировалось антителами к Ig трех классов, Fab-фрагменту, Н- и L-цепям Ig. Этот факт был установлен при специфической адсорбции аллоиммунных ЦТЛ мыши [267] или пЦТЛ крысы [2213] на монослое КМ, тогда как анти-Ig блокировал связывание В-лимфоцитов с теми же аллоантигенами в тесте розеткообразования [269]. Контакт рецепторов Т-лимфоцитов с 125 I-меченным белком или синтетическим полипептидом в условиях, исключающих пассивную адсорбцию Ig на Т-клетках, также не подавлялся антителами к Ig [772, 141, 1020]. Окончательное доказательство отсутствия связи рецепторов Т-клеток с синтезом как цельной молекулы Ig, так и его V- и С-доменов — отсутствие перестройки J- и С-генов Н-цепи в высокоспецифичных клонах ЦТЛ [331, 219] и Т-хелперов [1082], а также в Т-гибридах с активностью хелперов [1084] и супрессоров [1453]. В связи с этим транскрипция V-генов Ig в Т-клетках не происходит даже при объединении в некоторых ЦТЛ-клонах одного из сегментов семейства D-генов с одним из J-генов Ig [1109]. Использование высокочувствительного теста гибридизации с кДНК, позволяющего выявлять единичную копию мРНК на клетку, не позволило обнаружить транскрипцию V-гена Ig в клетках стабильных линий и гибридом Т-хелперов и Т-супрессоров, специфичных к пептиду GAT [1070], фосфорилхолину [1453] и другим антигенам [1019].

Напротив, в клетках тимуса или тимом наблюдается транскрипция части генов Ig (κ -, μ - и α -цепей), что, однако, сопровождается низким уровнем синтеза Ig в культуре тимоцитов [1959] или полным отсутствием трансляции мРНК в клетках тимомы [2176].

В связи с отсутствием перестройки и транскрипции генов Ig, на поверхности или в структуре растворенной мембраны очищенных Т-клеток кролика [2236, 947], человека [1103] и мыши [1312, 1492, 680, 989] не экспрессируются ни цельная молекула Ig различных классов (включая IgM), ни константные участки их Н- и L-цепей, ни вариабельный участок Н-цепи (V_H), ни N-концевой отрезок Fab-фрагмента, объединяющий V-участки обеих цепей (V_H и V_L) и несущий всю специфическую активность антитела. Эти факты выявлены с помощью чувствительных тестов (вклю-

чая радиоиммунопреципитацию) с использованием антисывороток или МкАТ к различным детерминантам «каркаса» V_H (включая V_H) — как общих для V_H данного класса Ig, так и аллотипических (экспрессированных либо на цельной молекуле Ig, либо только на изолированном V_H -фрагменте). Все эти детерминанты легко выявляются на нативных или фиксированных В-лимфоцитах.

Тем не менее не исключена возможность синтеза изолированного V_H -фрагмента цепи в некоторых минорных Т-субклассах, в особенности если они прямо происходят из кортикальных тимоцитов. В частности, анти- V_H антитела связываются с искусственно обогащенной популяцией специфических Т-супрессоров, предварительно адсорбированных на фиксированном антигене, а также с приготовленной из них Т-гибридомой и продуцируемым ими фактором TsF [2023, 1998]. В тех же условиях не наблюдалось никакой реакции с антителами к V_L , к цельной молекуле Ig или к изотипическим детерминантам ее Fc-фрагмента. Только анти- V_H антитела блокируют связывание антигена (представленного в комплексе с фрагментами клеточной мембраны) Т-клетками Lu1 [1212], Т-хелперами [1633, 508], иммунными Т-бластами мыши [517].

В связи с разноречивостью данных об экспрессии изолированного V_H -фрагмента Ig на Т-лимфоцитах и его связи с Т-рецепторами, проблема была исследована на клонах стабильных линий Т-клеток и Т-гибридом, специфичных к определенным пептидам или гаптенам. Однако и в этом случае результаты оказались не однозначными. С одной стороны, ни синтез V_H -фрагмента, ни его экспрессия на мембране не были обнаружены в клонированных Т-клетках с активностью ЦТЛ или хелперов. Более того, функция таких клонов (например, синтез ИЛ-2 при контакте с антигеном, представленным на МФ), так же как связывание подобного антигенного комплекса клетками клона, не ингибировались антителами к V_H [2150, 9896, 1281]. Утеря в некоторых клонах Т-гибридомы мышей хромосом иммунного партнера — VI, XVI, XII и XVII, гены которых контролируют соответственно κ -, λ -, H-цепь Ig и МНС, не сопровождается исчезновением или изменением их специфической хелперной активности, а сохранение хромосомы XII может сочетаться с исчезновением такой активности [1216, 1282].

Вместе с тем перекрестная реактивность (ПР) с V_H -продуктом была выявлена на клонах Т-хелперов, которые получены не только из Т-гибридомы, сконструированной на основе иммунных тимоцитов [537], но и из стабильных линий иммунных Т-клеток селезенки мыши [81, 1214, 1380], не синтезирующих Ig и не содержащих его идиотипических детерминант. С помощью панели ксеногенных антисывороток к большому пулу Fab-фрагментов моноклональных макроглобулинов в Т-клетках клонированной линии обезьяны [1273], а также в Т-лейкемических клетках и тимоцитах человека [1274] и мыши [1254] обнаружен белок (65—

68 кДа), который синтезируется в самих этих клетках, содержит весьма ограниченное число V_H -детерминант Ig и вовсе не содержит С-участков Н- и L-цепей Ig. Реактивность этого белка с антителами не только к V_H -, но и к синтетическому J_H -пептиду Ig может быть связана с серологическим перекрестом вариабельных фрагментов Ig и части Т-рецепторов (гл. V.5).

Связь экспрессии V_H -продукта с активностью Т-рецепторов на поверхности живых клеток не исследовалась. Тем не менее включение V_H -детерминанты в структуру Т-рецепторов предполагается в связи с наличием того же V_H -продукта в специфическом факторе, продуцированном тем же клоном. В действительности, однако, существенное различие в специфичности рецепторов клонов Т-хелперов и их фактора (TRF) состоит в том, что фактор независимо связывается с чистым антигеном и с Ia-молекулой в отдельности, т. е. ассоциация антигена с Ia-белком не требуется для его взаимодействия с фактором [1213, 443]. В связи с этим, несмотря на обнаружение мембранной V_H -детерминанты клона в структуре продуцированного им фактора, она может не иметь отношения к функции Т-рецептора этого клона.

Выявление детерминант, общих с V_H - или Fab-фрагментом Ig, на чистых Т-клетках и их клонах, не синтезирующих Ig, может быть обусловлено прежде всего перекрестной реакцией поли- или МкАТ к IgM и его фрагментам с иными мембранными гликопротеидами Т-лимфоцитов. Такая перекрестная серология действительно установлена в отношении белка gp70 вируса Молони [122], различных углеводов [1151], β_2 М мыши [709] и человека [2142], белка с молекулярной массой 200 кДа [1766], антигена тимом [1253]. Даже антитела к идиотипическим детерминантам Ig, которые ассоциированы с V_H определенного аллотипа, контролируемого соответствующим аллелем Igh-V гена [1073], несмотря на их строгую реактивность к антителам данной специфичности, связывались с белками, не имеющими отношения к Ig. Такие детерминанты найдены в белке нелимфоидной ткани (например, в печени) [371], в антигене Thy-1 [1601], рецепторах к митогену [400] или инсулину [1129], в белке беспозвоночных животных [2135].

V.1.3. Особенности идиотипов Т-лимфоцитов и их субклассов

Очевидно, однако, что ПР антиидиотипических антител с посторонними гликопротеидами мембраны Т-клеток не может объяснить их избирательное взаимодействие только с Т-клетками данной специфичности. Такое узкоспецифичное взаимодействие, установленное на разнообразных моделях, тестировалось по связыванию антиидиотипических антител с Т-супрессорами [1343], Т-хелперами [962], клонами пролиферирующих Т-клеток [1828] и эТ_{гэт} мыши [1402], а также с факторами Т-супрессоров [118, 652, 733], в том числе моноклональными продуктами Т-гибридом [1537, 1062, 1998]. Контакта живых Т-клеток с антиидиотипиче-

чая радиоиммунопреципитацию) с использованием антисывороток или МкАТ к различным детерминантам «каркаса» V_H (включая V_H) — как общих для V_H данного класса Ig, так и аллотипических (экспрессированных либо на цельной молекуле Ig, либо только на изолированном V_H -фрагменте). Все эти детерминанты легко выявляются на нативных или фиксированных В-лимфоцитах.

Тем не менее не исключена возможность синтеза изолированного V_H -фрагмента цепи в некоторых минорных Т-субклассах, в особенности если они прямо происходят из кортикальных тимоцитов. В частности, анти- V_H антитела связываются с искусственно обогащенной популяцией специфических Т-супрессоров, предварительно адсорбированных на фиксированном антигене, а также с приготовленной из них Т-гибридомой и продуцируемым ими фактором TsF [2023, 1998]. В тех же условиях не наблюдалось никакой реакции с антителами к V_L , к цельной молекуле Ig или к изотипическим детерминантам ее Fc-фрагмента. Только анти- V_H антитела блокируют связывание антигена (представленного в комплексе с фрагментами клеточной мембраны) Т-клетками Lu1 [1212], Т-хелперами [1633, 508], иммунными Т-бластами мыши [517].

В связи с разноречивостью данных об экспрессии изолированного V_H -фрагмента Ig на Т-лимфоцитах и его связи с Т-рецепторами, проблема была исследована на клонах стабильных линий Т-клеток и Т-гибридом, специфичных к определенным пептидам или гаптенам. Однако и в этом случае результаты оказались не однозначными. С одной стороны, ни синтез V_H -фрагмента, ни его экспрессия на мембране не были обнаружены в клонированных Т-клетках с активностью ЦТЛ или хелперов. Более того, функция таких клонов (например, синтез ИЛ-2 при контакте с антигеном, представленным на МФ), так же как связывание подобного антигенного комплекса клетками клона, не ингибировались антителами к V_H [2150, 9896, 1281]. Утеря в некоторых клонах Т-гибридомы мышей хромосом иммунного партнера — VI, XVI, XII и XVII, гены которых контролируют соответственно κ -, λ -, H-цепь Ig и MHC, не сопровождается исчезновением или изменением их специфической хелперной активности, а сохранение хромосомы XII может сочетаться с исчезновением такой активности [1216, 1282].

Вместе с тем перекрестная реактивность (ПР) с V_H -продуктом была выявлена на клонах Т-хелперов, которые получены не только из Т-гибридомы, сконструированной на основе иммунных тимоцитов [537], но и из стабильных линий иммунных Т-клеток селезенки мыши [81, 1214, 1380], не синтезирующих Ig и не содержащих его идиотипических детерминант. С помощью панели ксеногенных антисывороток к большому пулу Fab-фрагментов моноклональных макроглобулинов в Т-клетках клонированной линии обезьяны [1273], а также в Т-лейкемических клетках и тимоцитах человека [1274] и мыши [1254] обнаружен белок (65—

68 кДа), который синтезируется в самих этих клетках, содержит весьма ограниченное число V_H -детерминант Ig и вовсе не содержит С-участков Н- и L-цепей Ig. Реактивность этого белка с антителами не только к V_H -, но и к синтетическому J_H -пептиду Ig может быть связана с серологическим перекрестом вариабельных фрагментов Ig и части Т-рецепторов (гл. V.5).

Связь экспрессии V_H -продукта с активностью Т-рецепторов на поверхности живых клеток не исследовалась. Тем не менее включение V_H -детерминанты в структуру Т-рецепторов предполагается в связи с наличием того же V_H -продукта в специфическом факторе, продуцированном тем же клоном. В действительности, однако, существенное различие в специфичности рецепторов клонов Т-хелперов и их фактора (TRF) состоит в том, что фактор независимо связывается с чистым антигеном и с Ia-молекулой в отдельности, т. е. ассоциация антигена с Ia-белком не требуется для его взаимодействия с фактором [1213, 443]. В связи с этим, несмотря на обнаружение мембранной V_H -детерминанты клона в структуре продуцированного им фактора, она может не иметь отношения к функции Т-рецептора этого клона.

Выявление детерминант, общих с V_H - или Fab-фрагментом Ig, на чистых Т-клетках и их клонах, не синтезирующих Ig, может быть обусловлено прежде всего перекрестной реакцией поли- или МкАТ к IgM и его фрагментам с иными мембранными гликопротеидами Т-лимфоцитов. Такая перекрестная серология действительно установлена в отношении белка gp70 вируса Молони [122], различных углеводов [1151], β_2 М мыши [709] и человека [2142], белка с молекулярной массой 200 кДа [1766], антигена тимом [1253]. Даже антитела к идиотипическим детерминантам Ig, которые ассоциированы с V_H определенного аллотипа, контролируемого соответствующим аллелем Igh-V гена [1073], несмотря на их строгую реактивность к антителам данной специфичности, связывались с белками, не имеющими отношения к Ig. Такие детерминанты найдены в белке нелимфоидной ткани (например, в печени) [371], в антигене Thy-1 [1601], рецепторах к митогену [400] или инсулину [1129], в белке беспозвоночных животных [2135].

V.1.3. Особенности идиотипов Т-лимфоцитов и их субклассов

Очевидно, однако, что ПР антиидиотипических антител с посторонними гликопротеидами мембраны Т-клеток не может объяснить их избирательное взаимодействие только с Т-клетками данной специфичности. Такое узкоспецифичное взаимодействие, установленное на разнообразных моделях, тестировалось по связыванию антиидиотипических антител с Т-супрессорами [1343], Т-хелперами [962], клонами пролиферирующих Т-клеток [1828] и эТ_{гэт} мыши [1402], а также с факторами Т-супрессоров [118, 652, 733], в том числе моноклональными продуктами Т-гибридом [1537, 1062, 1998]. Контакта живых Т-клеток с антиидиотипиче-

скими антителами оказалось достаточным для избирательного удаления клеток «пэннингом» [230] или функциональной инактивации (в присутствии комплемента) каждого из указанных Т-субклассов мыши, узкоспецифичных к определенному гаптену [2202, 1984] или детерминанте инсулина [1828] (подобные результаты получены на Т-клетках человека [1153] и морской свинки [1620]).

Обнаружение антиидиотипических антител к Т-бластам, специфичным к аллоантигенам мыши или крысы, позволило даже очистить аффинной хроматографией предполагаемую молекулу Т-рецептора из надосадочной жидкости MLC. Такая молекула (150 кДа) состояла из двух ковалентно сцепленных тяжелых цепей, не содержащих константного участка Ig и продуктов МНС, разделенных плазмином на 2 домена (25 и 45 кДа). Только первый из них связывался с аллоантигеном клеток-стимуляторов MLC, т. е. должен был содержать активный центр Т-рецепторов [207]. Индукция *in vivo* аутоантител к идиотипу предполагаемых Т-рецепторов приводила к отмене РТПХ и продлению жизни аллотрансплантата кожи (см. обзор [205]).

Судя по приведенным данным, на антителах и Т-рецепторах экспрессируются идентичные или сходные идиотипы, контролируемые Igh-V геном, несмотря на отсутствие в Т-клетках транскрипции этого гена и синтеза не только Ig, но и его V_H- и V_L-фрагментов. Следует, однако, иметь в виду, что связывание антиидиотипа с Т-клетками и инактивация последних могут быть обусловлены не эффектом антител к Т-рецептору, а антигенной мимикрией — «внутренним образом» антигена, который имитируют антитела к идиотипу [1828]. Кроме того, в связи с различиями идиотипов между Т- и В-лимфоцитами и даже между разными Т-субклассами (или их факторами) такие идиотипы могут иметь или не иметь отношение к Т-рецепторам в зависимости от того, на каких Т-субклассах (или вариантах этих субклассов) они выявляются.

Прежде всего неидентичность идиотипов В- и Т-рецепторов выявлена с помощью МкАТ к идиотипам Ig. Оказалось, что разнообразие репертуара идиотипов Т-клеток (хелперов и супрессоров) ограничено по сравнению с идиотипами В-клеток, специфичных к тому же антигену — фосфорилхолину [168, 674, 336], гликофору [930], лизоциму [1824].

Особенно резко такое ограничение полиморфизма идиотипов выражено на рецепторах Т-клеток Ly1, пролиферирующих при реакции на аллоантиген МНС класса II или на сингенную Ia-молекулу, ассоциированную с чужеродным антигеном. В этих случаях кроличьи антитела против секретированных иммунными Т-клетками идиотипсодержащих молекул могут реагировать с детерминантой, общей для рецепторов пролиферирующих Т-клеток Ly1, которые специфичны к разным Ia-аллоантигенам [1997] или иным чужеродным белкам при условии ассоциации последних с данной сингенной Ia-молекулой [1446]. В последнем

случае связывание антиидиотипических антител с неполиморфной детерминантой на высокой доле Т-бластов, активированных любым антигеном в комплексе с молекулой I-A^k, позволяет предположить, что данный идиотип локализован в том участке рецептора Т-клетки, который ответствен за контакт с Ia-молекулой, т. е. за рестрикцию иммунного ответа клеток Ly1 (гл. V.3.3).

Реакция одних Т-клеток на подобный неполиморфный идиотоп рецептора других Т-клеток, иммунных к аллогенной Ia-молекуле, может вызвать пролиферацию в аутологичной MLC человека [1983] и приводить к важному биологическому эффекту: защите Т-клетками необлученного реципиента (крысы гибрида F₁) от развития в том же животном РТПХ, вызванной Т-лимфоцитами любых линий донора, если они реагируют на данную Ia-молекулу реципиента [1029].

На неидентичность идиотопов Т- и В-клеток, специфичных к тому же гаптену, указывает также экспериментальное подавление или естественное отсутствие экспрессии на В-клетках идиотипических детерминант их Ig-рецепторов при сохранении идиотипа Т-клеток мышей той же линии. Такое расхождение экспрессии Т- и В-идиотопов установлено в разных системах: при отсутствии определенных идиотипов в молекулах антител xid-мутантов-самцов, дефектных по дифференцировке части В-лимфоцитов [168]; при отсутствии у мышей nude, получивших Т-лимфоциты сразу после рождения, идиотипа на В-лимфоцитах в результате неонатальной супрессии антиидиотипическими антителами [961]; при исчезновении идиотипа антител в сыворотке и на В-клетках в результате вторичной иммунизации гаптенем [1079]; при использовании мышей линий, лишенных того аллотипа V_H-цепи, который необходим для экспрессии идиотипа Ig в условиях ассоциации V_H с L-цепью типа κ [2018] или λ [408].

Антитела к некоторым идиотипам Ig не связываются с TsF или предполагаемой молекулой рецептора Т-хелпера, элюированной с нейлонового антигенного сорбента. Отсутствие такого связывания обусловлено в первую очередь тем, что идиотоп фактора или рецептора Т-клетки, выявленный на изолированном V_H-домене, исчезает (экранируется) при искусственной рекомбинации V_H с тем регионом V_L, который извлечен из той же или посторонней молекулы Ig. Но даже при реакции анти-CRI антител с изолированным V_H-доменом антител к гаптену АБА эти анти-CRI антитела можно разделить на две категории, одна из которых связывается, а другая — не связывается с активным центром антител к гаптену АБА (во втором случае связывание выявляется только в присутствии гаптена, т. е. при блокировке активного центра). Поскольку только вторые анти-CRI антитела реагируют с TsF, очевидно, что идиотоп TsF может быть подобен только тому идиотопу антител, который локализуется не в гипервариабельном участке, а в «каркасе» того же V_H-домена [2018].

Судя по приведенным данным, а также по условиям взаимодействия Ts₁ → Ts₂ → Ts₃ (и их факторов) (гл. IV.2.5.2), идиотопы

части Т-супрессоров могут совпадать с некоторыми доминантными идиотопами антител вне их активного центра. Вместе с тем антитела к идиотопам, выявляемым на Т-супрессорах и антителах к лизоциму, не связываются с Т-хелперами тех же мышей, специфичных к той же молекуле, и не инактивируют их функцию даже в присутствии комплемента [798]. Подобный факт установлен при изучении Т-хелперов человека, специфичных к столбнячному анатоксину: их рецепторы не содержат идиотопов F(ab)₂-фрагмента антител той же специфичности, судя по неспособности соответствующих антиидиотипических антител ингибировать связывание Т-хелперов со столбнячным анатоксином, представленным на монослое МФ [645]. Это означает, что, несмотря на ограниченность разнообразия идиотопов и Т-супрессоров и Т-хелперов, они не идентичны между собой и, возможно, локализованы в различных V-доменах рецептора [777].

Ситуация осложняется неоднородностью Т-хелперов, которые делятся по меньшей мере на две категории: основную (Тх₁) и вспомогательную (Тх₂). Только Тх₁ реагируют на комплекс белкового носителя с Ia-молекулой, требуют присутствия сцепленного комплекса гаптен—носитель для оказания помощи В-клеткам, реагирующим на гаптен, не реагируют на молекулу Ig и ее идиотипическую детерминанту, не содержат на своей поверхности ни молекулы I-J, ни идиотипа [1511, 241]. Напротив, Тх₂, реагирующие без МНС-рестрикции на антиген, Ig и его идиотипы, несут I-J молекулу и в отличие от «универсального» Тх₁ обеспечивают синтез В-клетками Ig с избирательным идиотипом, а также переключение изотипов IgM→IgG [1723, 941]. Судя по исследованию клонированных Т-хелперов, только клоны Тх₂, но не Тх₁ имеют собственный идиотип [1822, 377] и возможно, что именно они синтезируют фактор дифференцировки В-лимфоцитов после их предварительной активации [1015] (гл. III.3.4).

Существование двух указанных категорий Т-хелперов подтверждается тем, что клонированные линии Т-хелперов, индуцированных при введении мышам не антигена, а антиидиотипических антител, также не однородны: хотя все эти клоны специфичны к антигену, реакция на антиген одной части клонов рестриктирована по МНС [1002], а другой — не имеет МНС-рестрикции [536]. Сходное различие наблюдается при индукции антиидиотипическими антителами эТ_{гзт}: одни из них распознают антиген (или гаптен) независимо от МНС [1991], а другие — только в ассоциации с продуктами МНС [628].

Хотя во всех этих случаях для активации антиидиотипами Т-лимфоцитов необходимо их совпадение с источником антиидиотипов по Igh-V гену, из этих данных вовсе не следует, что Т-рецепторы содержат идиотипические детерминанты антител и что прямой контакт Т-рецептора с антиидиотипическим антителом активирует Т-клетку. В действительности клоны Т-хелперов не синтезируют и не экспрессируют на своей поверхности молекулы, несущие те идиотопы, антитела против которых вызвали акти-

вацию этих клонов [212]. Хотя не прямые способы такой активации не изучены, очевидно, что они могут варьировать в зависимости от того, какая из двух указанных выше категорий Т-хелперов исследуется в данном случае.

В связи с количественным превалированием клеток T_H , не содержащих идиотип и не реагирующих на него, искусственная элиминация идиотипа из организма в результате генетического дефекта мыши [1637] или введения антиидиотипических антител новорожденным [539] не отменяет способность Т-хелперов таких животных обеспечивать синтез нормальными В-клетками антител с широким спектром обычных идиотипов. Эта способность сохраняется у Т-хелперов даже при удалении их идиотипсодержащей субпопуляции [1892]. Напротив, избирательная индукция реагирующих на идиотип клеток T_H в специальных условиях — при иммунизации сингенными идиотипсодержащими В-бластами [1120] или высокой концентрацией «silent» идиотипа [1740] — приводит к продукции антител, несущих именно тот идиотип, на который прореагировали T_H . Однако даже в этом случае иммунизация смесью антител с разными идиотипами индуцирует T_H лишь одной антиидиотипической специфичности, т. е. распознающих общую детерминанту разных идиотипов, которая в отличие от антительных идиотопов локализована на изолированном V_H -домене и не требует объединения V_H — V_L [1331].

Таким образом, на Т-клетках, пролиферирующих в MLC *in vitro* или при РТПХ *in vivo*, а также на части Т-супрессоров, Т-хелперов (T_H) и их факторов экспрессируется ограниченный спектр доминантных идиотопов. В некоторых случаях (в особенности на Т-супрессорах) они могут совпадать с детерминантами «каркаса» V_H -домена Ig и, как правило, не идентичны на разных Т-субклассах. Напротив, на ЦТЛ, специфичных к аллоантигенам [582, 257] или комплексам гаптена с сингенной молекулой МНС [1842, 901], не удается выявить детерминанты с помощью антиидиотипических антител. Только если такие антитела индуцированы не антителами, а активированными в MLC сингенными бластами, лишь в одной из 102 сывороток были найдены антитела, инактивирующие ЦТЛ Ly2 и их дифференцировку, но не совпадающие с антителами, инактивирующими пролиферативную реакцию в MLC Т-клеток Ly1 [206]. Подобные антитела, инактивирующие ЦТЛ узкой специфичности (к комплексу гаптена с сингенной молекулой H-2), не реагировали с идиотипом антител мышей той же линии, специфичных к тому же гаптenu [1074].

Расхождение идиотопов выявлено на ЦТЛ, СТС и MIF-продуктах, специфичных к аллоантигенам [1474]. Неидентичность структуры идиотипических детерминант Т-субклассов отражается на различиях функции идиотипов. В частности, при индукции СТС, ЦТЛ и εT_{H2} одним и тем же гаптеном (АБА) искусственная элиминация *in vivo* идиотипов СТС с помощью многократных инъекций антиидиотипических антител сопровождается отменой

генетической рестрикции их фактора TsF, по аллотипу Igh, но вовсе не отражается на активности и рестрикции ЦТЛ и эТ_{гэт} [2021]. В любом случае очевидно, что экспрессия разнообразного спектра идиотопов на поверхности В-клеток и набора Т-субклассов обеспечивает антиидиотипическую регуляцию иммунного ответа, которая осуществляется тем же набором Т-субклассов, реагирующих на эти идиотопы, и весьма существенна для развития различных видов иммунитета.

Все изложенные свойства идиотипов Т-лимфоцитов можно связать с особенностями их рецепторов (см. ниже): а) подобие детерминантам V_H-каркаса — с частичной гомологией генов Ig и Т-рецепторов, что сопровождается серологическим перекрестом их продуктов; б) ограниченность репертуара идиотопов — с ограничением детерминант белка, распознаваемых Т-клетками по сравнению с В-клетками; в) неидентичность идиотопов разных Т-субклассов — с несовпадением распознаваемых ими детерминант в молекуле данного антигена. Выяснение этих особенностей возможно в связи с выделением потенциальных молекул Т-рецепторов в 1983—84 гг. (гл. V.5). Поскольку, однако, изучение Т-рецепторов требует их прямой идентификации на основе указанных выше критериев, в первую очередь следует рассмотреть методические возможности такой идентификации.

V.2. Идентификация антигенсвязывающих рецепторов Т-лимфоцитов и разнообразие условий выявления рецепторов Т-субклассов

V.2.1. Выявление рецепторов аллоиммунных Т-субклассов адсорбцией—элюцией на монослое КМ

Клональная структура Т-лимфоцитов и тонкая дискриминативная способность клонов распознавать индивидуальные детерминанты данного белка (гл. I.4.1.2. и гл. V.2.2) служат лишь косвенным указанием на существование антигенсвязывающих рецепторов на их поверхности. Прямые методы обнаружения рецепторов на В-клетках (адсорбция чистого антигена на плазматической мембране и лимфоцитов клона данной специфичности на антигенном сорбенте) оказались непригодными для идентификации истинных рецепторов суммарной популяции Т-клеток: их мембраны не связывали чистый антиген [2234]. Поскольку в действительности большинство Т-субклассов контактирует с аллогенным продуктом МНС или с иным антигеном лишь при условии его ассоциации с продуктом МНС на поверхности живых клеток (гл. III.1), успех в идентификации истинных Т-рецепторов был достигнут благодаря использованию природного иммуносорбента — густого монослоя растущих на пластике МФ определенных, т. е. содержащих данные продукты МНС, линий мышей. Оказалось, что ЦТЛ, иммунные к аллогенным продуктам МНС данных МФ, избирательно прикрепляются к их моно-

слою в течение нескольких часов при 25—37° С. Высокая специфичность связывания ЦТЛ с антигеном КМ следовала из того, что неприкрепившиеся к монослою лимфоциты утрачивали цитотоксическую активность по отношению только к тем КМ, которые несут тот же гаплотип H-2, что и МФ адсорбирующего монослоя [263].

Специальные опыты позволили установить следующие закономерности: а) прямой лизис КМ иммунными лимфоцитами и их адсорбция на монослое клеток имеют одну и ту же специфичность [5]; б) лимфоциты, иммунные ко всему гаплотипу МНС, могут быть разделены по меньшей мере на две неперекрывающиеся по специфичности популяции, одна из которых (около 75%) направлена к продукту H-2K, а другая (около 25%) — к продукту H-2D. При оптимальном соотношении в монослое смеси МФ мышей двух линий, каждая из которых содержит только один из антигенов — H-2K или H-2D иммунизирующего комплекса, адсорбция ЦТЛ суммируется [266]. Таким образом, установлена клональная структура ЦТЛ с помощью обнаружения их рецепторов, которые избирательно прикрепляют ЦТЛ к монослою клеток, несущих определенные продукты МНС. Эти результаты были подтверждены в отношении ЦТЛ, иммунных к аллоантигену [689], а также к вирусу или гаптену, ассоциированному с сингенным продуктом МНС [1012].

Использование в качестве адсорбирующего монослоя лимфобластов [1005] или опухолевых клеток [1975, 1872], искусственно прикрепленных к пластику, позволило сократить срок адсорбции ЦТЛ с 2—3 ч до 30—45 мин с помощью их центрифугирования после прикрепления к монослою. Особенно быстро подобная реакция могла быть воспроизведена при конъюгации ЦТЛ с КМ, меченными ФИТЦ, последующей адсорбции такого конъюгата на фиксированных антителах к ФИТЦ и элюцией прикрепившихся к колонке клеток с помощью ЭДТА [1891]. Эти модификации, однако, имеют существенные дефекты, связанные с отделением части КМ от пластика или сорбента и загрязнением ими популяции ЦТЛ, что в некоторых случаях приводит к артефактам и неадекватным интерпретациям.

Указанный подход позволил не только продемонстрировать рецепторы на ЦТЛ данной специфичности, но и отделить ЦТЛ от большей части остальной популяции, сконцентрировать их на монослое КМ, а затем элюировать трипсином [689], ЭДТА, буфером с низким рН [1975] или проназой в присутствии виоказы [271]. В последнем случае элюция клеток иммунных лимфоузлов с монослоя МФ привела к обогащению популяции лимфоцитов иммунными ЦТЛ данной специфичности в 6—8 раз (хотя доля элюированных лимфоцитов по отношению к исходным составляла лишь 3—5%). Такая процедура, во-первых, послужила стимулом для изучения природы ПР рецепторов ЦТЛ (гл. V.4.2), а во-вторых, показала, что ЦТЛ селезенки отличаются от ЦТЛ лимфоузлов своей неоднородностью. В связи с этим для обогащения ЦТЛ селезенки потребовалась существенная методическая модификация, включающая ряд последовательных этапов (рис. 23). 1. Адсорбция на монослое сингенных МФ для удаления

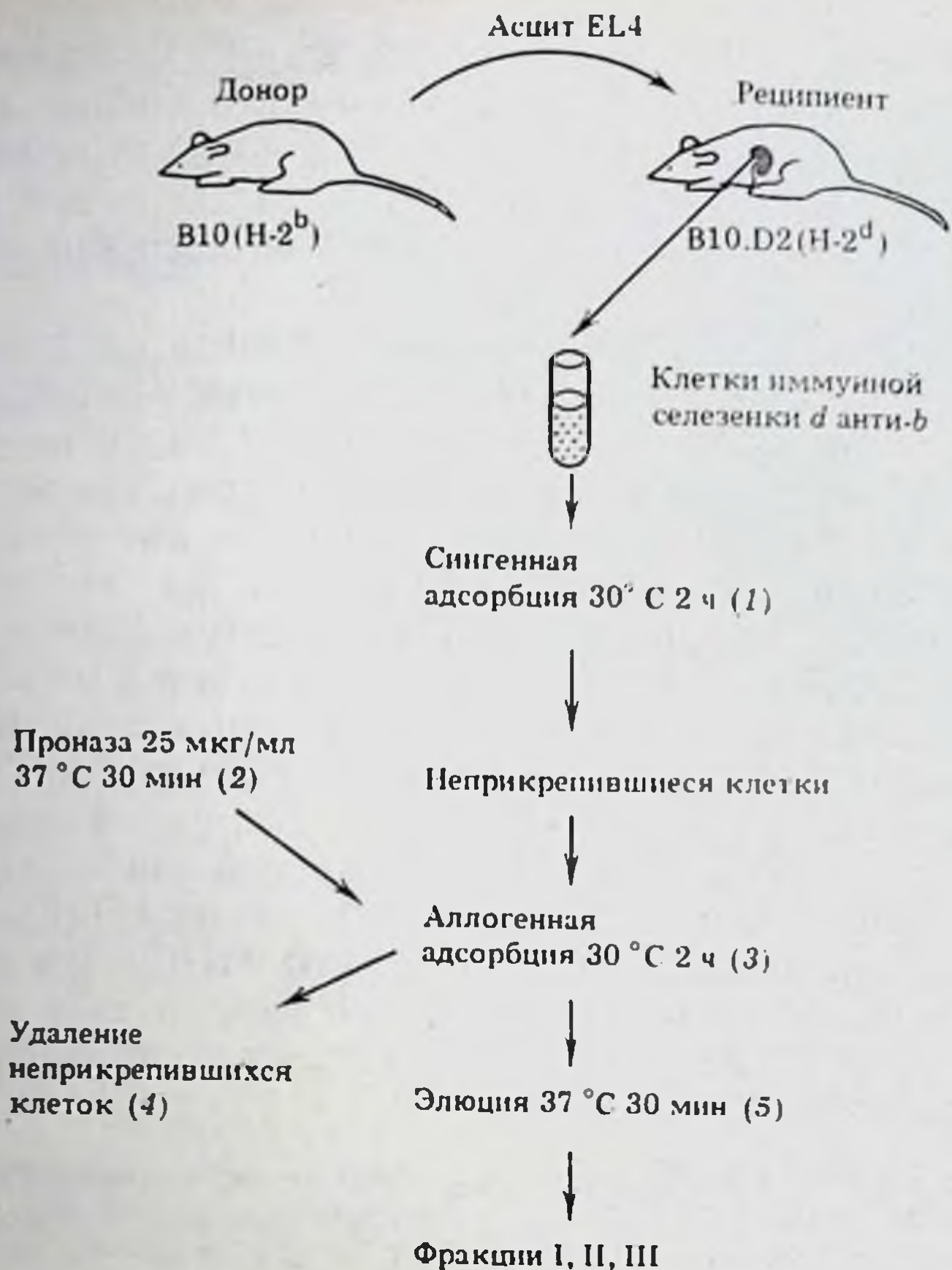


Рис. 23. Последовательные этапы обогащения ЦТЛ иммунной селезенки с помощью их элюции с монослоя макрофагов

Лимфоциты, не прикрепившиеся к монослою сингенных МФ В10.D2 (1), перенесены на монослой аллогенных МФ В10 после предварительной обработки МФ проназой с последующей нейтрализацией и отмывкой (2). После адсорбции на аллогенном монослое (3) неприкрепившиеся клетки удалены (4), а прикрепившиеся элюированы последовательно разными концентрациями проназы и ЭДТА (см. текст) с добавлением виоказы (фракции I, II, III) и отмыты. Цитотоксическая активность элюированных фракций и исходных лимфоцитов тестирована одновременно на МФ В10 (опыт) и В10.D2 (контроль)

неспецифически сорбирующихся клеток. 2. Предварительная обработка монослоя аллогенных МФ проназой для снижения неспецифической сорбции. 3. Три последовательных этапа элюции — проназой в концентрации 25 мкг/мл (фракция I), 100 мкг/мл (фракция II) и ЭДТА 5 мМ (фракция III). (Последний этап оказался необходимым в связи с прочным прикреплением к монослою малой фракции клеток селезенки, отсутствующей в лимфоузлах и неотделимой от монослоя проназой). Только во фракциях II и III, составляющих не более 40% элюированных клеток (2—4% исходной популяции), наблюдается 5—8-кратное обогащение ЦТЛ по сравнению с нефракционированными иммунными клетками, тогда как во фракции I (60—70% элюированных клеток) обогащение либо отсутствует, либо не превышает 2—3 раз, так же как в суммарной популяции элюированных клеток.

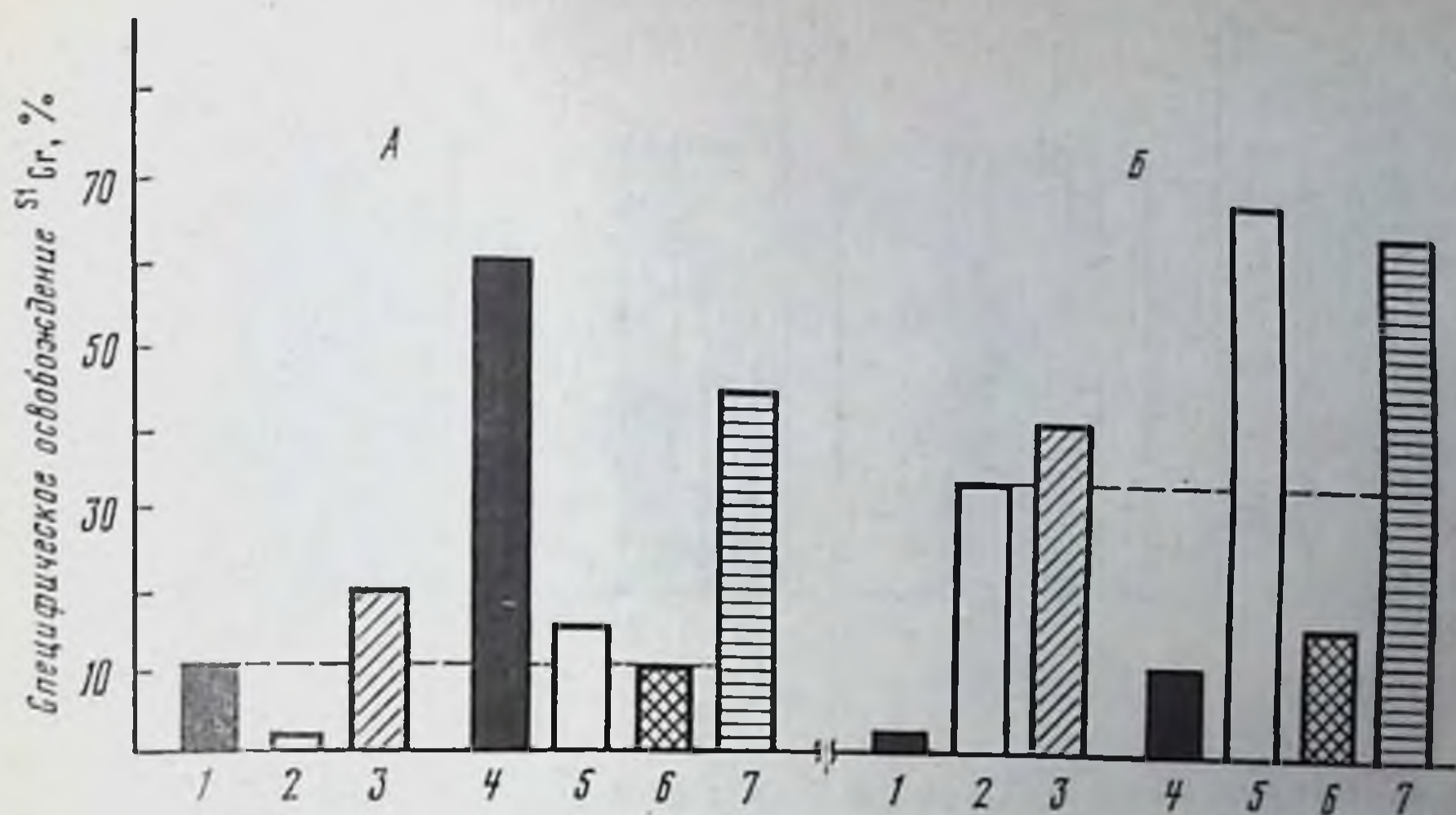


Рис. 24. Установление специфичности обогащения ЦТЛ анти- K^b и анти- D^d с помощью адсорбции—элюции их смеси на монослоях различного происхождения

Опыты проведены с ЦТЛ селезенки B10.D2(R101) (гаплотип $K^d I^d D^b$) двух специфичностей: анти- K^b (при иммунизации лейкомея EL-4 — H-2^b) и анти- D^d (при иммунизации мастоцитомой P815 — H-2^d). Интактные ЦТЛ анти- K^b (1), анти- D^d (2), их смесь 1:1 (3) и фракция II+III (см. рис. 23) клеток той же смеси, элюированных с монослоев МФ В6 ($K^b D^b$, 4), BALB/c ($K^d D^d$, 5). B10.D2(R101) ($K^d D^b$, 6), B10.A(5R) ($K^b D^d$, 7), тестированы на меченных ^{51}Cr КМ: МФ В6 (H-2^b) (А) и DBA/2 (H-2^d) (Б). Доза ЦТЛ во всех тестах — $3 \cdot 10^5$, в смеси интактных ЦТЛ — $6 \cdot 10^5$ на лунку. Сходные соотношения активностей ЦТЛ между интактными и элюированными лимфоцитами получены при дозах $1 \cdot 10^5$ и $9 \cdot 10^5$ на лунку

Специфичность такого обогащения следует из того, что искусственная смесь ЦТЛ двух селезенек (анти- K^b и анти- D^d), взятых от одного и того же источника — рекомбинантной линии B10.D2(R101) ($K^d D^b$), может быть вновь разделена на те же две популяции с помощью адсорбции—элюции на соответствующем монослое: обогащение ЦТЛ этой смеси, элюированных с монослоев МФ В6 (H-2^b) или BALB/c (H-2^d), выявляется при тестировании на КМ только того же гаплотипа H-2^b и H-2^d, но не наоборот. Элюция клеток той же смеси с сингенного монослоя B10.D2(R101) не приводит к обогащению ЦТЛ, тогда как при элюции с монослоя МФ B10.A(5R), несущих оба антигена (K^b и D^d), сильное обогащение ЦТЛ наблюдается при тесте на обоих КМ (рис. 24). Столь же эффективно разделение популяций ЦТЛ из естественной их смеси (анти- K^k + анти- D^d) в лимфоузлах В6 ($K^b D^b$) анти-А ($K^k D^d$) с помощью элюции клеток такой смеси с монослоя МФ, несущих один из указанных антигенов (K^k или D^d) [8].

Специфическая адсорбция—элюция иммунных клеток на монослое МФ стала стандартным методом выявления рецепторов различных Т-субклассов, изучения особенностей рецепторов каждого из этих субклассов и их последующего обогащения. Оказалось, в частности, что пЦТЛ-2⁰ (рис. 25, Б) и СТС (рис. 25, В) в отличие от самих ЦТЛ, иммунных к тем же продуктам МНС (рис. 25, А), сохраняют способность специфически адсорбироваться на монослое, если он мягко фиксирован глутаровым аль-

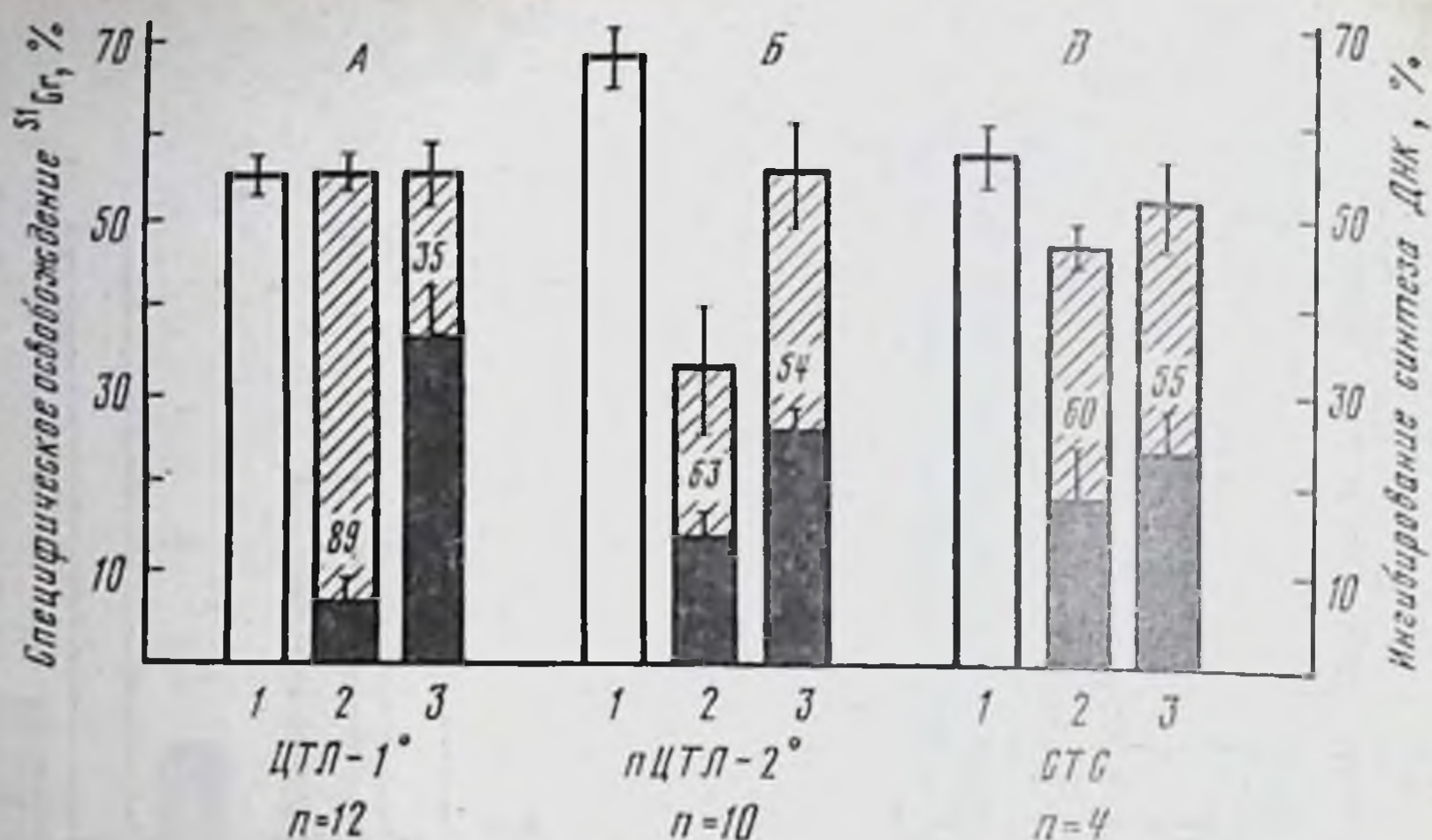


Рис. 25. Адсорбция субпопуляций Т-клеток селезенки (d анти-b) на монослоях нативных и фиксированных макрофагов

CTL-1° (A) и pCTL-2° (B) индуцированы *in vivo* у мышей B10.D2 (H-2^d) внутрибрюшинной иммунизацией клетками лейкемии EL-4 (H-2^b) и тестированы по освобождению ⁵¹Cr из меченых МФ В6 соответственно через 11 и 60 дней (активность pCTL-2° определена после вторичной 4-дневной MLC с использованием прогретых клеток-стимуляторов В6). CTC (B) индуцированы *in vivo* у мышей B10.D2 внутривенной иммунизацией 9·10⁷ облученными клетками селезенки В6 (тест — подавление синтеза ДНК в MLC (см. рис. 15). Лимфоциты интактные (1) или не прикрепившиеся к монослоям МФ В6 (заретушированная часть столбика) и B10.D2 (заштрихованная часть столбика) нативным (2) или фиксированным в течение 30 с 0.05% ГА (3). Цифры на столбиках — индекс специфической адсорбции: $\frac{a-b}{a} \cdot 100$, где а и b — активность лимфоцитов, не прикрепившихся к сингенному (а) и аллогенному монослою (b)

дегидом; напротив, специфическая адсорбция CTL при этом снижается более чем на 60% [20]. Это означает, что в отличие от рецепторов CTC и pCTL-2° рецепторы CTL распознают тот же антиген H-2 только на поверхности живой клетки (косвенное указание на более сложную организацию рецепторов CTL по сравнению с pCTL-2° и CTC).

Техника адсорбции на монослое МФ позволила разделить Т-клетки памяти на две категории: pCTL-2°, прикрепляющиеся к монослою, и вторичные Т-амплифайеры, лишенные этой способности. Из рис. 26 видно, что клетки памяти d анти-b, не прикрепившиеся к монослою H-2^b, утрачивают после этой процедуры способность генерировать вторичные CTL в 4-дневной MLC, активированной убитыми стимуляторами, т. е. в условиях, при которых первичные CTL не образуются. Тем не менее они обеспечивают помощь нормальным лимфоцитам, созревающим в CTL в условиях той же культуры — при отсутствии функционирования нормальных Т-амплифайеров [19]. Отсутствие адсорбции вторичных Т-амплифайеров в этом случае может быть связано с низкой экспрессией на клетках монослоя Ia-молекул, распознаваемых рецепторами Т-лимфоцитов хелперной группы (см. ниже), или со слабым аффинитетом таких рецепторов, для выяв-

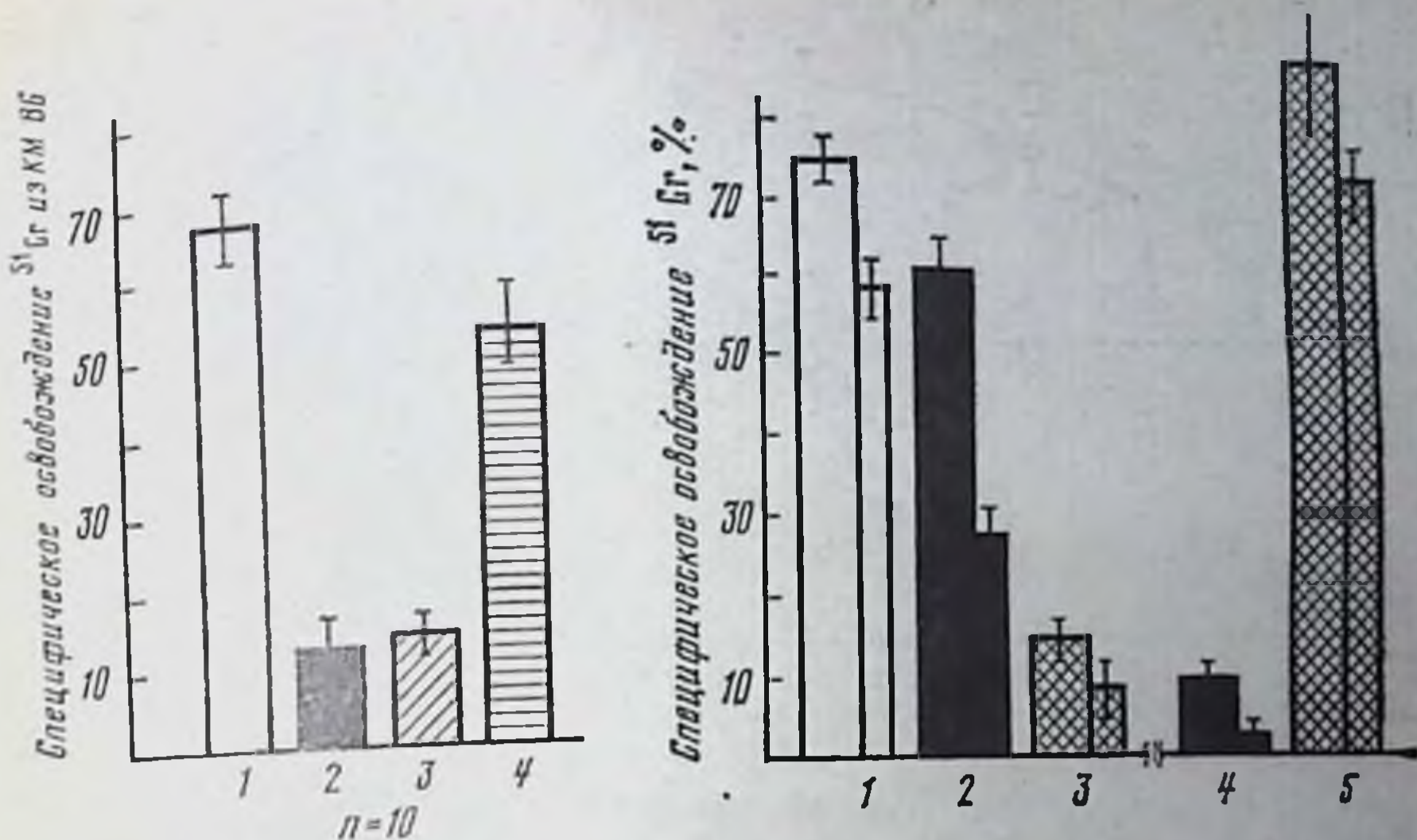


Рис. 26. Разделение Т-клеток памяти на вторичные предшественники ЦТЛ (пЦТЛ-2⁰) и амплифайеры

Через 2 месяца после иммунизации мышей В10.Д2 (Н-2^d) лейкемией EL-4 мышей В6 (Н-2^b) клетки иммунной селезенки d анти-b активировали во вторичной МЛС (4 дня) стимуляторами В6. 1 — интактные, 2 — непривитые (в течение 1 ч при 45° С) стимуляторами В6 клетки иммунной селезенки; 3 — контроль: стимуляторы + нормальные лимфоциты В10.Д2; 4 — стимуляторы + нормальные лимфоциты + непривитые иммунные лимфоциты (тест на вторичные амплифайеры)

Рис. 27. Специфичность обогащения элюированных клеток памяти (пЦТЛ-2⁰) d анти-b

Клетки памяти иммунной селезенки d анти-b (см. рис. 26) — интактные (1), непривитые к сингенному монослою реципиента В10.Д2 (2) или аллогенному монослою В6 (3), элюированные с сингенного монослоя В10.Д2 (3) или аллогенного монослоя В6 (5), активированы во вторичной МЛС убитыми стимуляторами В6. Полученные ЦТЛ тестируются на меченных ^{51}Cr МФ В6 в дозах $1 \cdot 10^5$ (широкие столбик) и $0,33 \cdot 10^5$ на лунку (узкие столбик)

лечения которых требуются иные условия. Напротив, специфичность связывания пЦТЛ-2⁰ с аллоантигеном (Н-2^b) клеток монослоя следует из того, что их активность существенно не снижается после адсорбции на сингенном монослое (Н-2^d) и возрастает после элюции с аллогенного монослоя (Н-2^b), но вовсе не выявляется в популяции клеток, элюированных с сингенного монослоя (Н-2^d). Эти данные, представленные на рис. 27, указывают на то, что пЦТЛ-2⁰ и амплифайеры, выявляемые в одной и той же суспензии клеток памяти, не идентичны по специфичности, а возможно, и аффинитету своих рецепторов к продуктам МНС.

Из приведенных данных следует, что пЦТЛ-2⁰ могут быть не только отделены от вторичных Т-амплифайеров за счет особенностей их рецепторов, но и сконцентрированы, подобно ЦТЛ. Более выраженной оказалась степень обогащения СТС d анти-b, элюированных с монослоя Н-2^b: судя по снижению количества

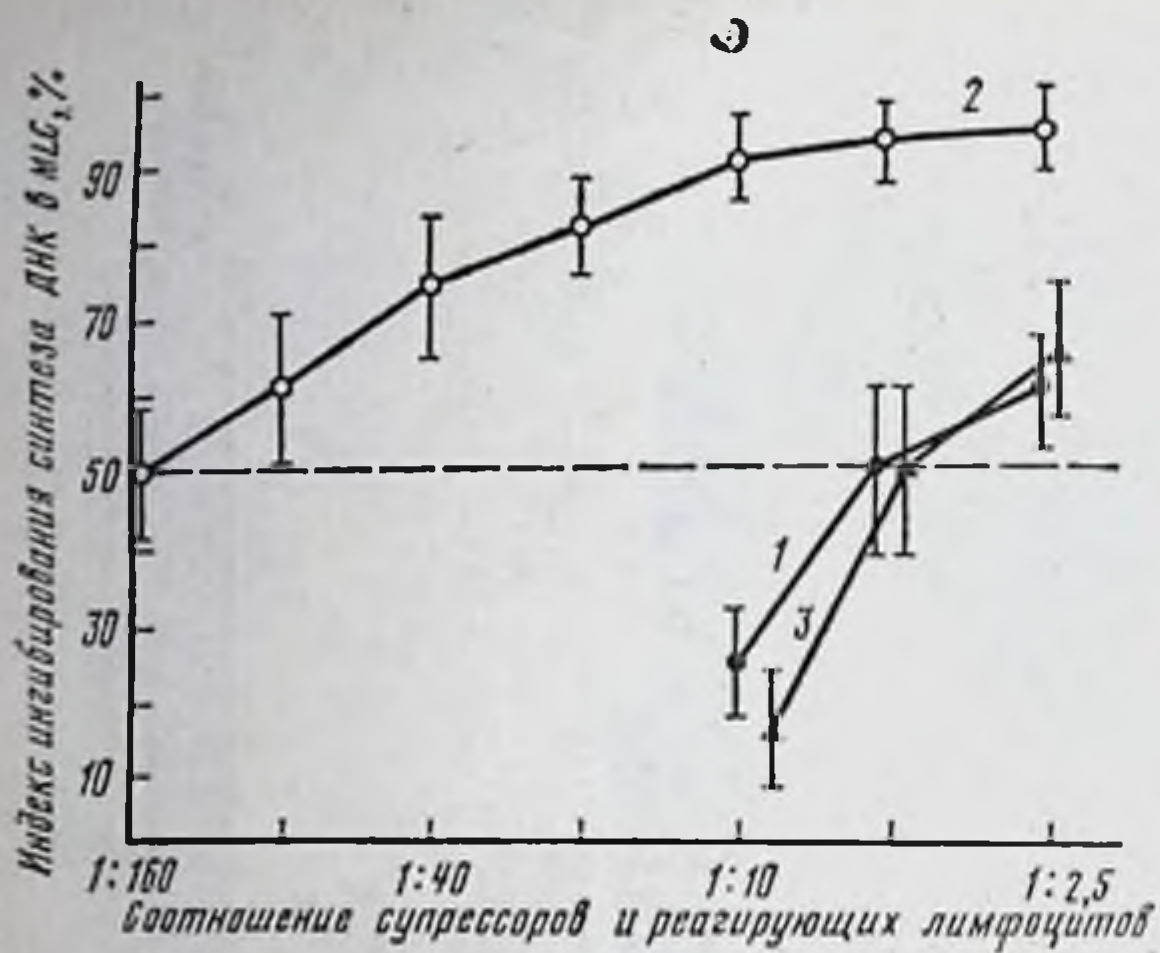


Рис. 28. Обогащение элюированных лимфоцитов специфическими Т-супрессорами, ингибирующими пролиферацию в МЛС СТС селезенки В10.D2 анти-В10 (в контроле — клетки нормальной селезенки В10.D2), обработанные МС, смешанные с сингенными (В10.D2) реагирующими клетками лимфоузлов (в соотношениях, указанных по оси абсцисс) и стимуляторами В10. 1 — СТС не фракционированы, 2 — элюированы с монослоя МФ В10 и В10.D2 (3)

СТС, вызывающих 50%-ное ингибирование синтеза ДНК в МЛС, они концентрируются по меньшей мере в 15 раз (рис. 28), причем обогащение отсутствует при элюции тех же СТС с сингенного монослоя Н-2^d [274].

V.2.2. Условия связывания с антигеном рецепторов Т-субклассов, иммунных к гетеробелкам и гаптенам

Принцип выявления антигенсвязывающих Т-рецепторов с помощью концентрации несущих их лимфоцитов на монослое живых МФ и последующего обогащения Т-клеток данной специфичности элюцией с того же монослоя успешно использован для Т-клеток, специфичных не только к аллоантигенам, но и ко множеству иных белков и гаптенов, представленных на поверхности клеток монослоя. Таким способом обнаружены рецепторы Т-клеток, пролиферирующих при вторичной реакции на антиген, и Т-клеток хелперной группы (а также их клонов), продуцирующих факторы — ИЛ-2, TRF, MAF. В этих случаях специфическое связывание и последующее обогащение элюированных Т-лимфоцитов мыши [2011, 2310, 1149, 45], морской свинки [2195, 2215] и человека [2086, 645] оценивалось по изменению их пролиферации или функциональной активности при взаимодействии с соответствующим антигеном (сывороточными белками, базальным белком миелина, анатоксином, РРD, вирусом, гаптеном АБА) или по количеству клеток, прикрепившихся к монослою [1206].

Обычно специфическая адсорбция этих Т-клеток наблюдалась при 37°С в течение не менее 4 ч, и ее эффективность возрастала при 2—3-разовой 4-часовой адсорбции. Скорость связывания могла быть сокращена до 1 ч при адсорбции продуцирующего ИЛ-2 клона Т-клеток мыши, если соответствующий антиген (комплекс овальбумина с молекулой I-A^d) представлен на поверхности прикрепленных к пластику живых клеток В-лимфомы или В-гибридомы [1283]. Особенно ценно, что в последнем случае, так же как при адсорбции клона Т-хелперов человека, реа-

гирующих с пептидом ГА вируса гриппа [2302], специфичность адсорбции Т-клеток удалось установить с помощью изменения не только продукции ИЛ-2, но и связывания с монослоем меченных ^3H -тимидином клонированных Т-клеток (ранее подобный метод был использован для оценки адсорбции на монослое меченных ^3H -тимидином пролиферирующих Т-лимфоцитов, полученных из регионарных лимфоузлов после аллоиммунизации [1286]).

Наиболее существенно, что во всех указанных случаях адсорбция Т-лимфоцитов на антигенном монослое блокируется антителами только к I-A молекуле клеток монослоя (но не самих Т-клеток) и не блокируется антителами ни к Ig, ни к его идиотипическим детерминантам, ни к антигену, фиксированному на клетках монослоя; она не блокируется даже громадным избытком растворимого антигена в культуральной среде (в последнем случае адсорбция Т-клеток может усиливаться). Эти данные подтверждают неспособность рецепторов Т-клеток хелперной группы распознавать сам по себе антиген, т. е. без его ассоциации с Ia-молекулой «презентирующих» клеток. Решающая роль Ia-молекул клеток монослоя в связывании Т-рецептора особенно демонстративна при адсорбции хелперов гибрида F₁ мыши [2011] или морской свинки [1235] на монослое покрытых антигеном МФ одной из родительских линий. Селектированные таким образом хелперы F₁ оказывают помощь только тем В-клеткам, которые совпадают по своему Ia-аллелю с родительской линией — источником клеток монослоя.

В отличие от рецепторов Т-клеток хелперной группы рецепторы СТС прямо связываются с чистым белковым антигеном или гаптенем, фиксированным на полистироле, сефадексе или пластике без участия «презентирующих» клеток, что позволяет избирательно удалить из популяции СТС данной специфичности [1510, 2041, 1194, 2202]. Элюция лимфоцитов, прикрепившихся к такому иммуносорбенту, приводит к 20—100-кратному возрастанию концентрации СТС. Способность чистого антигена специфически связываться с поверхностью СТС подтверждена при использовании клонов Т-гибридом [2224, 1214] или стабильных линий СТС [613].

Таким образом, для контакта с антигеном рецепторов СТС, так же как их индукторов (иТс) и индукторов Т-хелперов (иТх) (гл. IV.1), не требуется ассоциация антигена с продуктами МНС. То же может касаться рецепторов минорной субпопуляции Т-хелперов (Тх₂), реагирующих на сам по себе антиген или детерминанты Ig (гл. V.1.2). Необходимо, однако, иметь в виду, что способность некоторых вариантов СТС реагировать на белковый антиген [149] или гаптен [478] в условиях ассоциации последних с продуктами МНС соответственно I-E или I-J имеет неоднозначную интерпретацию: «презентационная» или «интеракционная» рестрикция (гл. IV.3.4.4 и IV.3.5.2).

V.2.3. Принципы и закономерности связывания рецепторов Т-клеток с антигеном

Во всех указанных случаях антигенсвязывающие рецепторы идентифицированы на Т-клетках, предварительно иммунизированных соответствующим антигеном. Множество попыток обнаружить рецепторы на нормальных Т-клетках привели к противоречивым результатам. Выявление в некоторых работах специфической адсорбции пЦТЛ или предшественников Т-клеток, вызывающих РТПХ, как правило, связано с указанными выше методическими погрешностями и отсутствием адекватных контролей [1468, 1007, 1016]. Даже иммунизированные антигеном прекиллеры (пЦТЛ-А, см. гл. IV.3.1), имеющие цитотоксический потенциал, не могут его реализовать ввиду отсутствия аффинных рецепторов, необходимых для прочного контакта с антигеном КМ.

Еще труднее обнаружить рецепторы на предшественниках Т-амплифайеров Ly1, пролиферирующих при реакции на аллоантиген в первичной MLC. Оказалось, что такие Т-лимфоциты способны специфически адсорбироваться на монослое аллогенных ЛПС-бластов лишь при условии, что последние содержат на поверхности одной и той же клетки гибрида F₁ не только аллогенную (стимулирующую), но и сингенную по отношению к реагирующим лимфоцитам Ia-молекулу [1795]. Это означает, что для стабильного связывания рецептора покоящейся Т-клетки Ly1 с аллогенной Ia-молекулой необходим одновременный контакт такой клетки с сингенной Ia-молекулой, который может обеспечиваться дополнительным рецептором, возникающим на поверхности той же Т-клетки (или увеличивающим свою аффинность) на ранней стадии ее активации антигеном.

Подобный рецептор к сингенной Ia-молекуле действительно выявлен на Т-клетках Ly1 в ходе их пролиферативной реакции на аллоантиген [517] или на пептид GAT в комплексе с I-A^k [1473]. Реакция клона Т-хелперов мыши B10.A (I-A^k) на аллогенную молекулу I-A^s, представленную на фиксированных формальдегидом стимуляторах, возможна лишь в присутствии живых сингенных стимуляторов I-A^k+, причем МкАТ к любой из этих молекул (не только аллогенной I-A^s, но и сингенной I-A^k) отменяют реакцию [1238]. Способность связываться с сингенной Ia-молекулой обнаружена на клонированных хелперах Т-гибридомы [1213] и стабильной линии, специфичной к гаптену [443]; фактор TRF, продуцированный таким клоном, также связывается с сингенной I-A молекулой на поверхности активированных гаптенном В-лимфоцитов, что обеспечивает их дифференцировку в АОК. Комплекс этих данных вместе с недавним подтверждением необходимости взаимодействия Т-лимфоцитов с сингенной I-A молекулой для их активации в аллогенной MLC [149a] означает, что рецепторы пролиферирующих и хелперных Т-клеток уникальны в отношении потребности связывания с определенной сингенной

молекулой МНС класса II (см. гипотезу «интеракционной» рестрикции, гл. IV.2.4.4).

Более прямой вариант «адсорбционного» подхода заключается в связывании растворимого антигена с поверхностью чистых Т-клеток при отсутствии на этой поверхности Ig, продуцированного контаминирующими В-клетками. Прочная фиксация антигена на мембране активированных ИЛ-1 нормальных или иммунных Т-клеток действительно обнаружена с помощью либо авторадиографии после инкубации клеток с радиоактивно мечеными антигенами [772, 1020, 516, 1634], либо иммунофлуоресценции — при последовательной обработке клеток антигеном, антителами к антигену и антителами к Ig, мечеными ФИТЦ [1443].

Эти исследования полностью подтвердили указанные выше закономерности. Клональное распределение Т-лимфоцитов, активированных в аллогенной MLC, следовало из того, что разные популяции этих клеток из одной и той же культуры связывали аллоантигены H-2K, H-2D и Ia-белки. Более существенно, что при использовании обычных антигенов (белков или пептидов), не являющихся продуктами МНС, с Т-клетками связывается не чистый пептид, а его комплекс с сингенной Ia-молекулой или фрагментом мембраны, содержащим Ia-молекулу. Подобные комплексы (см. следующий раздел) отличаются от нативного антигена способностью связываться с рецепторами Т-хелперов, так же как выращенных из них клонов Т-гибридом [1214], во-первых, в отсутствие А-клеток, а во-вторых, значительно быстрее и в 100—1000 раз эффективнее, судя по сопоставлению доз, ингибирующих связывание ^{125}I -меченного комплекса. Особенно важно, что фрагмент антигена в структуре комплекса представляет собой «суперантиген», поскольку снижение его дозы в 1000 раз по сравнению с дозой нативного антигена вызывает сходную активацию Т-хелперов.

Помимо этой кардинальной особенности, связывание антигена с рецепторами большинства Т-субклассов и В-клеток различается по следующим параметрам. 1. Связывание с Т-клетками значительно усиливается при повышении температуры до 37°C , тогда как связывание с В-клетками не зависит от температуры. 2. Связывание с Т-, но не с В-клетками блокируется ингибиторами метаболизма (азидом натрия, динитрофенолом), латеральных движений мембраны (цитохалазином В), синтеза белка. 3. Связывание с Т-клетками блокируется антителами к продуктам МНС класса I или II, но не к Ig, с В-клетками — наоборот.

Из приведенных данных следует несколько закономерностей.

1. Трудности выявления рецептора Т-лимфоцита могут быть преодолены, если номинальный антиген ассоциирован с сингенной молекулой МНС либо на поверхности А-клетки, либо в виде комплекса с Ia-молекулой, слущенного с такой поверхности. Также выявляется прямое связывание рецептором Т-клетки аллоантигена, если он представлен во фракции мембран или мембранных везикул, слущенных в культуральную среду MLC.

2. Условия контакта антигена с рецепторами разных иммунных Т-субклассов не идентичны. А. Для рецепторов ЦТЛ антиген должен быть представлен на поверхности живой клетки, тогда как для рецепторов СТС и пЦТЛ-2° это обстоятельство не существенно. Указанное различие коррелирует со способностью вариантов СТС (и специфических Т-индукторов) в отличие от ЦТЛ связываться, подобно В-лимфоцитам, с номинальным антигеном без его ассоциации с продуктами МНС, что отражается на различиях тонкой специфичности рецепторов между ЦТЛ и СТС, а также между ЦТЛ и пЦТЛ-2° (гл. V.4.4). Б. Для связывания с антигеном рецепторов Т-клеток хелперной группы и пролиферирующих Т-клеток (возможно, также МИФ-продуцентов) требуется значительно больше времени, чем для рецепторов ЦТЛ, пЦТЛ-2° и СТС, а также ассоциация антигена (не только чистого белка, но и мембранного Ia-аллоантигена) с сингенной Ia-молекулой. В. Указанные особенности рецепторов позволяют разделять Т-субклассы, специфичные к набору антигенов МНС.

3. Контакт с антигеном рецепторов большинства Т-субклассов способствует клеточный метаболизм, необходимый, возможно, для модуляции плазматической мембраны, что вовсе не требуется для контакта антигена с готовым Ig-рецептором мембраны В-клетки. Эта особенность может быть связана с тем, что высокоаффинные рецепторы не представлены в готовом виде на наружной поверхности мембраны Т-лимфоцита, а формируются, становятся доступными для комплекса антигена с продуктом МНС и эффективно связываются с таким комплексом лишь после сборки мембранных компонентов Т-рецептора в ходе взаимодействия с продуктом МНС. Давние представления об этапах и механизмах сборки субъединиц рецепторов эффекторных [267, 1882) и пролиферирующих Т-лимфоцитов [935] подвергаются за последние годы дальнейшему развитию и детализации (гл. V. 5.4, 5).

V.3. Иммунологическая специфичность рецепторов Т-лимфоцитов хелперной и супрессорной групп

V.3.1. Неидентичность В- и Т-эпитопов: детерминант, связывающих антитела и распознаваемых рецепторами Т-лимфоцитов

Изложенные выше различия условий связывания антигена с рецепторами Т- и В-клеток касаются еще одного важного обстоятельства: при иммунизации интактной молекулой чужеродного белка эти рецепторы распознают неидентичные детерминанты в структуре такой молекулы. В частности, связывание меченого ¹²⁵I-пептида (T, G)—А—L со специфичными к нему Т-клетками блокируется избытком того же немеченого пептида и только еще одного, например, (Phe, G)—А—L, на который активно реагируют Т-клетки мышей данной линии; напротив, связывание (T, G)—А—L, с В-клетками, иммунными к тому же пептиду,

блокируется (на 76—96%) многими немечеными пептидами, отличающимися от (T, G)—A—L либо боковой цепью — (Phe, G)—A—L, (H, G)—A—L, (G)—A—L, либо «коровой» структурой — (T, G)—Pro—L [1215]. Это указывает на неидентичность репертуара рецепторов: в отличие от множества детерминант, распознаваемых рецепторами В-клеток, Т-рецепторы реагируют на ограниченное число детерминант того же пептида, связанных с «костяком» молекулы.

Выяснение тонкой структуры антигенных детерминант (Т-эпитопов), распознаваемых рецепторами Т-субклассов, имеет ключевое значение для вскрытия механизмов взаимодействия Т-рецепторов с антигеном и Ia-молекулой. Антитела обычно выявляют частично перекрывающиеся топографические детерминанты, т. е. расположенные на поверхности интактных молекул и делимые на две категории: сегментарные (комбинация близко расположенных АК) и сборочные, т. е. конформационные (комбинация дистантных АК, локализованных в некоторых случаях на N- и C-концах). 30—40% всех антител к миоглобину связывается только с цельной молекулой, но не с тремя его крупными пептидами (1—55; 56—131; 132—153 АК), полученными расщеплением цельной молекулы цианоген-бромидом [1135].

Высокоактивные сборочные детерминанты выявляются в молекуле лизоцима, по-видимому, за счет прочной дисульфидной связи N- и C-концевых участков (см. обзоры [106, 171]). В связи с этим, если иммунизация производится белком, трехмерная структура которого изменена с помощью денатурации или химической модификации, образовавшиеся антитела, как правило, не связываются с нативной молекулой того же белка. Этот факт, многократно выявляемый ранее, воспроизведен при иммунизации пептидными фрагментами В-цепи инсулина (остатки АК 1—16) [2077] или цитохрома с (остатки АК 81—104) [2182]: в обоих случаях антитела, индуцированные данным пептидом, не связываются с нативной молекулой. Даже при иммунизации последней та малая доля антител, которая специфична к отдельному пептиду, не взаимодействует с детерминантами нативной молекулы.

Напротив, Т-эпитопы вовсе не меняются при денатурации белков, судя по сохранению хелперной функции [1785, 925, 356], пролиферативной реакции Т-клеток на антиген [193, 262] и даже способности их рецепторов, иммунных к нативному антигену, связываться с денатурированным антигеном, представленным на монослое МФ [645]. Сохранение реакции Т-клеток, активированных нативным антигеном, на тот же белок, утративший свою трехмерную структуру, подсказывает, что Т-рецепторы в отличие от антител и В-рецепторов распознают не топографические детерминанты на наружной поверхности белка, а секвенциальные стабильные структуры, независимые от пространственной конфигурации молекулы. Такие внутренние эпитопы обнажаются при энзиматическом расщеплении как изолированной молекулы овальбумина [1854] или ГА вируса гриппа [759], так и про-

нишей в лизосомы МФ в ходе «процессинга» (гл. III.6.1), при разворачивании цельной молекулы миоглобина с помощью мягкой денатурации [1965]; они также обнажены на синтетических пептидах (см. ниже).

Исключением могут оказаться некоторые Т-эпитопы, локализация которых сохранена на поверхности интактной молекулы белка. В частности, клоны Т-клеток мыши, специфичные к узкой детерминанте А-петли инсулина, секретируют ИЛ-2 при взаимодействии с этой детерминантой, представленной на интактной молекуле инсулина, т. е. в отсутствие «процессинга», хотя ассоциация такой молекулы с Ia-белком плазматической мембраны по-прежнему необходима [678, 890]. Напротив, Т-клоны тех же мышей, специфичные к В-цепи инсулина, реагируют на нее только после «процессинга» интактной молекулы в МФ. Кроме того, следует иметь в виду относительную резистентность некоторых белков к низкому рН лизосом, что может приводить к различной степени их деградации в зависимости от трехмерной структуры [288].

Несовпадение Т-эпитопов и детерминант, связывающих антитела, четко установлено на уровне пептидов, полученных с помощью синтеза или расщепления белков различной степени сложности, а также трансфекции неполных генов, кодирующих отдельные фрагменты белка. В частности, клоны Т-клеток мыши, иммунизированных нативным миоглобином и реагирующих с пептидом р55, вовсе не реагируют с его фрагментом (АК 15—22), связывающим антитела [918]. Сходные данные получены при сопоставлении реакций Т-клеток и антител с определенными пептидами лизоцима [1259, 214], В-цепи инсулина [2077] и дифтерийного токсина [2088a].

Особенно демонстративно расхождение Т- и В-эпитопов при иммунизации вирусом гриппа или ГА этого вируса. В этом случае клонированные Т-клетки человека избирательно реагируют на С-пептид р20, АК 306—329 [1125], а клоны Т-гибридом мыши, секретирующих ИЛ-2,— на один из трех пептидов, каждый из которых является полноценным иммуногеном: АК 109—119, 129—138 или 302—313 [904]. Напротив, панель из 125 МкАТ к тому же вирусу, реагирующих с разнообразными детерминантами того же ГА, вовсе не связывается с указанными пептидами [1941]. ЦТЛ мыши, специфичные к нуклеопротеиду (НП) вируса гриппа (498 АК), лизируют КМ, если в них трансфецирован неполный ген, кодирующий либо N-, либо С-концевой фрагмент НП (соответственно 130 и 160 АК). Оказалось, что каждый из этих фрагментов НП, распознаваемый ЦТЛ, не реагирует с антителами, специфичными к той же молекуле НП, или к крупным ее фрагментам (327 или 386 АК) [2092a]. Приведенные факты принципиальны для использования пептидов ГА или НП при конструировании синтетических противовирусных вакцин и выращивании протективных клонов Т-клеток.

Наконец, различие реактивности антител и Т-лимфоцитов (хелперов и ЦТЛ) выявляется даже при введении мышам гаптена АЕД (ацетил-этилен-диамин) в комплексе с сингенными клетками: антитела одинаково реагируют на этот гаптен, неза-

висимо от того, ассоциирован ли он с амино- или сульфгидрильной группой сингенной молекулы МНС, тогда как Т-клетки четко дискриминируют эти два варианта [2025].

У.3.2. Принципы организации и тонкая структура эпитопов белковых молекул, распознаваемых рецепторами Т-клеток Ly1

Исследование тонких структур, распознаваемых рецепторами В-клеток и различных Т-субклассов, стало возможным благодаря полному выяснению первичной последовательности и особенностей вторичной и третичной структуры определенного спектра антигенов: гепта-, окта- и нанопептидов, коротких белков — цитохрома с (103—105 остатков АК), лизоцима (129 остатков АК), глобулина (153 остатка АК), инсулина (51 остаток), а также ГА вируса гриппа. Преимущество этих молекул связано также с существованием их вариантов с известными заменами АК у животных разных видов, возможностью расщепления белка на определенные фрагменты и синтеза отдельных пептидов.

Т-клетки Ly1 реагируют (в тестах пролиферации, ГЗТ, секреции ИЛ-2 или хелперной функции) на структуры пептидов, отличающиеся по ряду свойств от топографических детерминант, связывающих антитела.

Во-первых, Т-эпитоп включен в пептид, состоящий из малого числа остатков АК (обычно не менее 7) и формирующий стабильную структуру α -спирали, что обеспечивает иммуногенность не только этого пептида, но и всей молекулы белка, в состав которой он входит. Еще в 1970 г. было установлено, что поли-*L*-лизин (ПЛЛ), конъюгированный с ДНФ, приобретает такое качество (иммуногенность и способность реагировать с Т-лимфоцитами) только после присоединения 7-го остатка (гептамер), тогда как индуцированные им антитела реагируют с конъюгатом гаптена ДНФ с любым неиммуногенным ПЛЛ, начиная с тримера, и почти все антитела — с гексамером [1789]. Подобное качественное различие между В- и Т-эпитопами установлено при индукции ответа инбредных морских свинок иммуногенными октапептидами, 8 АК которых либо полностью различны (ангиотензин II), либо частично повторяются (фрагмент фибринопептида В_В человека, АК 7—14). Единичная замена АК в первом случае ($\text{Asp}^1 \rightarrow \text{Asn}$ или $\text{Ile}^5 \rightarrow \text{Val}$) приводит к утрате или, напротив, к возникновению иммуногенности для свинок данной линии [2073], а во втором случае ($\text{Phe}^{10} \rightarrow \text{Tyr}$, $\text{Arg}^{14} \rightarrow \text{Lys}$ или $\text{Glu}^{7,8} \rightarrow \text{Gln}$) — к полной отмене реакции Т-клеток, специфичных к исходному пептиду [2071]. Такие клетки утрачивают реактивность также к тому пептиду, АК которого не изменены, но их последовательность инвертирована [2076], хотя при всех указанных заменах или перестановках остатков АК перекрестная реактивность антител сохраняется. Способность Т-рецепторов распознавать «секвенциальную» структуру пептида прямо установлена с помощью

клонов Т-хелперов человека, специфичных к пептиду р20 ГА вируса гриппа: они связывают меченый пептид (в комплексе с Ia-молекулой), но не связывают инвертированный изомер того же пептида [2302].

Хотя из этого следует, что контакт Т-рецептора с эпитопом зависит не от гидрофобности пептида (подобной в исходном и инвертированном вариантах), наличие такой гидрофобности, по-видимому, весьма существенно для взаимодействия с Т-рецептором. Функция гидрофобных АК может быть связана не только с внедрением расщепленного пептида в мембрану А-клетки, но и с возникновением α -спирали, необходимой для формирования или стабилизации Т-эпитопа, даже если сами эти АК не включены в эпитоп. На такую возможность указывает общее правило: интенсивность активации Т-клеток возрастает при увеличении минимального размера пептида, необходимого для такой активации, несмотря на то, что дополнительно включенные АК не входят в структуру Т-эпитопа. Этот факт воспроизводится при исследовании минимального и оптимального пептидов (табл. 42) В-цепи инсулина [2077], лизоцима [1272], вирусного ГА [759, 650], овальбумина [2194], цитохрома с [1603]. В последнем случае прямо установлено с помощью синтезированных фрагментов, что для антигенности эпитопа в структуре гидрофильного С-концевого пентапептида — остатки АК с 99 по 103 (Lys—Gln—Ala—Thr—Lys) — необходимо присоединение к нему консервативного пентапептида — остатки АК с 94 по 98 (Leu—Ile—Ala—Tyr—Leu), гидрофобность которого обеспечивает структуру α -спирали. В антигенном пептиде овальбумина (остатки АК с 326 по 336) гидрофобные остатки АК (Ala³²⁶, Val³²⁷, Ala³³⁰, Ala³³²) также формируют кластер, который, видимо, не включен в эпитоп [2194].

Во-вторых, Т-клетки и выращенные из них клоны, специфичные к данному белку, имеют существенное ограничение: в отличие от В-клеток с разнообразной специфичностью клонов Т-клетки реагируют на единичный (иммунодоминантный) эпитоп (гл. I.4.1.2) или малое число таких эпитопов в молекуле лизоцима курицы [214] или миоглобина кашалота [213]. Из табл. 42 следует, что большое число клонов Т-клеток мышей В10, иммунных к пептиду LII (остатки АК 13—105) лизоцима курицы, реагирует только на малый его фрагмент (T11) — остатки АК 74—96 [1272]; клоны Т-клеток, иммунных к цитохрому с голубя, моли или тунца, — только на фрагмент С-пептида — остатки АК 87—104 или 88—103 [818, 780]; клоны Т-клеток, иммунных к миоглобину кашалота, — только на фрагмент, включающий либо Glu¹⁰⁹ и His¹¹⁰, либо Lys¹¹⁰, в зависимости от условий генетической рестрикции данной серии клонов мышей гаплотипа H-2^d (см. табл. 42) [187, 188].

Часть Т-клонов мыши, специфичных к цитохрому с голубя, моли или тунца, может перекрестно реагировать с цитохромами с других видов, несмотря на то что по своей узкой специфичности эти клоны не отличаются от остальных, не дающих ПР [816, 818, 1301]. Хотя молекулярная основа таких

Таблица 42

Иммунодоминантные эпитопы белка, распознаваемые пролиферирующими
и хелперными Т-лимфоцитами различных гаплотипов МНС

Антиген *	Пептид •		Решающие АК	Ia-молекула презентирующих А-клеток**	Источник Т-клеток мыши
	Минимальный	Оптимальный			
Цитохром с (103)	94—103 (10)	81—103* ³ (23)	Lys ⁹⁹	I-E ^k	B10.A (H-2 ^a)
Лизоцим курицы (129)	81—93 (13)	74—96* ³ (23)	Ser ⁹¹	I-A ^b	B10 (H-2 ^b)
		106—129* ⁴ (24)	Asp ¹¹³ + + Arg ¹¹⁴	I-A ^d	B10.D2 (H-2 ^d)
	52—61 (10)	46—61* ³ (16)	Tyr ⁵³	I-A ^k	CBA (H-2 ^k)
Миоглобин			Glu ^{109*5}	I-A ^s	B10.S (H-2 ^s)
			Glu ¹⁰⁹ + + His ¹¹⁶	I-A ^d	B10.D2 (H-2 ^d)
			Lys ^{140*5}	I-E ^d	B10.D2 (H-2 ^d)
кашалота (153)	?	?	Asp ^{109*5}	I-A ^s	B10.S (H-2 ^s)
лошади (153)			His ¹⁰		Морская свинка, линия 13
Инсулин свиньи, В-цепь (30)	5—13 (9)	1—16* ³ (16)			
Овальбумин	328—334 (7)	323—339* ³ (17)	His ³²⁸ + + His ³³¹	I-A ^d	
Гемагглютинин вируса гриппа (550)	111—119 (9)	111—125* ³ (15)	Glu ¹⁵⁵		
	129—138 (10)		Ser ¹³⁶		BALB/c (H-2 ^d)
	302—313 (12)				

* В скобках число АК.

** Добавление в тест-систему МКАТ к данной Ia-молекуле отменяет реакцию Т-клеток.

*³ Синтетический пептид.

*⁴ Расщепленный фрагмент белка.

*⁵ Варианты остатков АК в составе белка разных видов животных.

перекрестов не выяснена (гл. V.4.5), очевидно, что она связана с индивидуальными особенностями рецепторов клонированных Т-клеток, а не с вариантами «процессинга» антигена в МФ, презентирующих пептид Т-клеткам. Такое заключение следует из того, что подобная ПР (на конъюгат АБА—His) наблюдается у части арсенатспецифичных Т-клонов, индуцированных не белком, а простым конъюгатом АБА—Тур, который не подвергается «процессингу» [840].

В-третьих, реакция Т-клеток мышей данного гаплотипа H-2 на данный эпитоп строго определяется лишь одним или двумя остатками АК, расположенными в одном и том же участке молекулы данного белка, независимо от его видового происхождения. Из табл. 42 видно, что реакция Т-клеток мышей B10.S (H-2^s) на мио-

Таблица 43

Зависимость прямой и перекрестной реакций Т-клеток мышей, иммунных к цитохрому с голубя и моли, от МНС «презентирующих» А-клеток и синтетических вариантов концевой фрагмента С-пептида

Источник		С-пептид цитохрома с							
Иммунных Т-клеток мышь *	А-клеток **	Интактный		Вариантный голубя **					
		Голубя 81—101 АК	Моли 81—103 АК	Аминокислоты концевых фрагмента *4					
				199	100	101	102	103	104
				Lys ↓ Gln	Gln ↓ Glu	Ala	Thr ↓ Ala	Ala ↓ 0	LyS
B10.A	B10.A	+	+	—	+		+	+	
	B10.A (5R)	—	+					+	
B10.A (5R)	B10.A	+	+					+	
	B10.A (5R)	—	+					+	

* Мыши B10.A иммунизированы цитохромом с голубя, а мыши B10.A (5R) — цитохромом с моли.

** Аллели Ia-молекул: B10.A — A^kE^k, B10.A (5R) — A^bE^k.

*3 АК того же фрагмента цитохрома с моли: Lys⁹⁹—Gln¹⁰⁰—Ala¹⁰¹—Thr¹⁰²—Lys¹⁰³.

*4 Стрелка обозначает замену единичного остатка; 0 — делеция Ala¹⁰³.

(+) Пролiferация Т-клеток присутствует; (—) — отсутствует.

глобин зависит от остатка АК 109. Замена АК (Glu¹⁰⁹→Asp¹⁰⁹) в миоглобине лошади приводит к полному исчезновению ПР Т-клеток, специфичных к миоглобину кашалота, тогда как сохранение Glu¹⁰⁹ в миоглобинах других видов коррелирует с сохранением ПР с Т-клетками, иммунными к миоглобину кашалота; напротив, замены АК в иных участках той же молекулы, как правило, не отражаются на реакции Т-клеток [186].

Если, однако, перекрестная реакция Т-клеток мыши, иммунизированной миоглобином кашалота, выявляется с помощью набора не миоглобинов различных видов животных, а синтетических пептидов того же миоглобина кашалота, то в этом случае иммунодоминантный эпитоп локализован во фрагменте, включающем остатки АК со 113-го по 119-й, а замена Glu¹⁰⁹ не отражается на интенсивности реакции [213].

Тем не менее указанная выше закономерность воспроизводится при единичных заменах АК в Т-эпитопах синтетических пептидов инсулина [2077], ГА вируса гриппа [759, 904], цитохрома с моли и голубя [780]. В последнем случае только замена Lys⁹⁹ приводит к исчезновению реакции иммунных Т-лимфоцитов на тот же пептид, тогда как замена Gln¹⁰⁰ или Thr¹⁰², а также делеция Ala¹⁰³ вовсе не отражаются на интенсивности реакции (табл. 43). Особенно демонстративна критическая роль 3-го остатка (Lys³ или Ala³) в реактивности набора Т-гибридом, специфичных к синтетическому пептиду поли-18 (11 кДа) [605a].

В-четвертых, Т-клетки животных инбредных линий, различающихся аллелем Ia-молекулы, реагируют на разные эпитопы од-

ного и того же белка — лизоцима курицы [994, 58], цитохрома с [1298, 818], миоглобина кашалота [186, 188] (табл. 42). Даже среди Т-клонов мышей данной линии (В10.Д2, Н-2^d), специфичных к миоглобину кашалота, можно обнаружить минорный вариант, реагирующий на другой эпитоп того же миоглобина, если эта реакция рестриктирована по иной Iа-молекуле того же МНС — не I-A^d, а I-E^d [187]. Эта генетическая рестрикция может быть обусловлена тем, что для связывания эпитопа с Т-рецептором необходима одновременная ассоциация иной близко расположенной от эпитопа структуры того же пептида — агрептопа¹ — с определенным участком данной Iа-молекулы А-клеток — дезетопом² [817]. В соответствии с таким предположением от взаимодействия агретоп—дезетоп зависит возможность Т-рецептора связываться с тем или иным эпитопом — ограничение, которое вовсе отсутствует при прямом связывании Ig-рецептора В-клетки с топографической детерминантой антигена.

V.3.3. Тримолекулярное взаимодействие при иммунологическом распознавании

Вопрос о том, какая из АК распознаваемой структуры антигена и по какой причине функционирует в качестве эпитопа или агрептопа, окончательно не выяснен. Тем не менее из приведенных данных очевидно, что остаток АК 109 миоглобина реагирует с Т-рецептором, а не с Iа-молекулой, поскольку узкая специфичность Т-клеток зависит от варианта этого остатка в миоглобинах различного происхождения, несмотря на его ассоциацию с той же молекулой I-A^s. Еще более четко установлено, что в С-пептиде цитохрома с голубя и моли Lys⁹⁹ также служит эпитопом, а не агрептопом. Из табл. 43 видно, что реакция иммунных Т-клеток [817] или клонов [816] двух рекомбинантных линий мышей на данный эпитоп может не зависеть ни от МНС самих Т-клеток, ни от того, какой из цитохромов (голубя или моли) использован в тесте в виде интактного С-пептида. Единственное ограничение — аллель I-A молекулы А-клеток, «презентирующих» эти пептиды: если А-клетки взяты от мыши В10.А, реакция идет на оба пептида, а если от мыши В10.А(5R) — на пептид цитохрома с моли, но не голубя. Это ограничение исчезает, если из пептида цитохрома с голубя удалена одна АК — Ala¹⁰³, что делает его подобным цитохрому с моли. Такая минорная модификация пептида оказалась достаточной для возникновения реактивности *in vivo* линии В10.А(5R) к цитохрому с голубя, что обусловлено приобретением способности ее А-клеток «презентировать» антиген [781]. Из этих данных следует, что Ala¹⁰³ выполняет функцию не эпитопа, а агрептопа (или составляет его часть), препятствующего Iа-

¹ Элемент антигенной рестрикции.

² Участок Iа-молекулы, определяющий селекцию (отбор) распознаваемой детерминанты антигена.

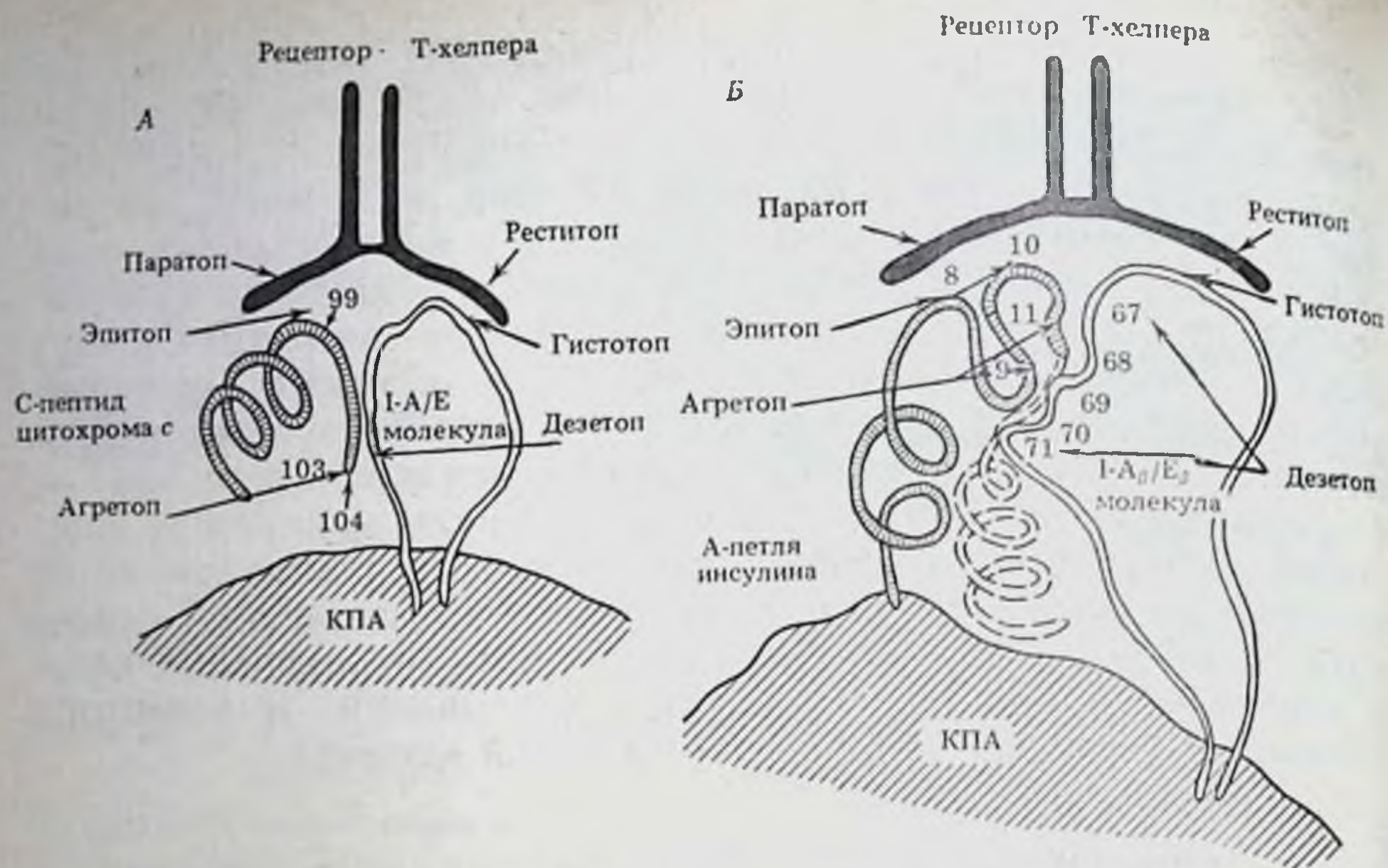


Рис. 29. Модель тримолекулярного взаимодействия рецептора Т-хелпера $Ly1$, фрагмента антигена и I-A/E молекулы, представленных на внеклеточной части клетки, презентующей антиген (КПА)

А — антиген — фрагмент цитохрома с голубя, включающий остатки АК с 81-го по 104-й [2010]. Остатки АК 99 и 103 выполняют функции соответственно эпитопа (контактирует с Т-рецептором) и агретона (контактирует с I-A/E молекулой). Б — антиген — А-петля инсулина овцы или быка. Остатки АК 8 и 10 функционируют как эпитоп, 9 и 11 — как агредон. Остатки АК с 67 по 71 в составе I-A/E молекулы функционируют как дезетоп, контактирующий с агретоном антигена [279]. Гистотоп I-A/E молекулы контактирует с реститопом Т-рецептора, а эпитоп антигена — с паратопом того же Т-рецептора

комплексу A^bE^k мышей B10.A(5R), но не Ia-комплексу A^kE^k мышей B10.A «презентировать» цитохром с голубя.

Механизм функции агретона и его взаимодействия с дезетопом Ia-молекулы, влияющего на связывание Т-рецептора с эпитопом, остается невыясненным. Тем не менее следует полагать, что именно это вспомогательное взаимодействие (агредон—дезетоп) обеспечивает возможность снижения состава Т-эпитопа до малого числа остатков АК в структуре α -спирали и «диктует», какой именно участок молекулы антигена, содержащий распознаваемые Т-рецептором остатки, может (или не может) быть представлен рецептору, т. е. функционировать как Т-эпитоп. В связи с этим представляется оправданной гипотеза о необходимости тримолекулярного (аффинного) взаимодействия антигена, Ia-молекулы А-клеток и рецептора Т-клеток для иммунологического распознавания [817]. Приведенная на рис. 29 модель означает, что в каждой из трех указанных молекул по меньшей мере два участка имеют валентность для контакта с каждой из двух других молекул: в молекуле антигена эпитоп с Т-рецептором и агредон с Ia-дезетопом; в Ia-молекуле дезетоп с агретоном антигена и ги-

стотоп с реститопом (элементом рестрикции) Т-рецептора; в Т-рецепторе паратоп с эпитопом антигена и реститоп с гистотопом Ia-молекулы. Из такой модели следует, что при распознавании антигена Ia-молекула выполняет по меньшей мере две функции с помощью двух своих элементов: дезетоп обеспечивает возможность эпитопу контактировать с Т-рецептором, а гистотоп — аффинность этого контакта в результате сцепленного распознавания Т-рецептором антигена в комплексе с Ia-молекулой, что может сопровождаться стабилизацией активного центра Т-рецептора.

Очевидно, что замена единичных остатков АК в любом из шести указанных элементов может нарушить аффинность комплексного взаимодействия трех молекул и отменить реакцию Т-клеток на антиген. Подобная замена может возникнуть в антигене (эпитопе или агретопе) при использовании описанных выше синтетических пептидов; в Ia-молекуле (дезетопе или гистотопе) — при варьировании аллелей I-субрайонов, а также в результате мутации в субрайоне I-A, выявленной *in vivo* (bm12, гл. I.4.1.4) или индуцированной в культуре с помощью как MkAT к молекуле I-A [677], так и синтетических олигонуклеотидов [382a]; наконец, в Т-рецепторе — при селективной делеции клона в онтогенезе [1810] или его адаптивной дифференцировке в микроокружении тимуса химеры (гл. II.4.6).

Логично предположить, что значение аффинности взаимосвязей каждого из компонентов трех молекул (антиген—Т-рецептор, антиген—Ia-молекула и Ia-молекула—Т-рецептор) может существенно варьировать в зависимости от свойств антигена, аллеля Ia-молекулы или модификации ее конформационной структуры, источника Т-клеток или исходной аффинности их рецептора. Варианты функций указанных молекул описаны в ряде систем. Определенные замены АК в октапептиде (ангиотензине) приводят к возникновению способности МФ ареактивной линии «презентировать» данный вариант пептида Т-клеткам, иммунным не к тому же, а к перекрестно реактивному варианту [2074]. Ареактивность к кополимеру GAT, если она не обусловлена Т-супрессорами, может быть связана с разными механизмами в зависимости от гаплотипа МНС: у мышей H-2^{г.в} — с дефектом «презентации» МФ, а у мутанта bm12 — с дефектом Т-клеток при их реакции на комплекс GAT—I-A^{bm12} [1368].

Способность МФ мышей ареактивных линий «презентировать» антиген Т-клеткам может быть выявлена, если последние клонированы [373], и особенно выражена, если Т-клетки аллогенны по отношению к МФ, т. е. распознают антиген, ассоциированный не с сингенной Ia-молекулой [923]. При изучении ареактивности мутантов различных молекул МНС — I-A^b (bm12) или H-2D^b (bm13 и bm14) — дефект функции Ig-генов может проявиться либо на обоих уровнях — и репертуара Т-лимфоцитов, и «презентации» антигена А-клетками [460], либо на одном из них в зависимости от антигена [978]. Таким образом, в конкретных

условиях критической функцией для распознавания может оказаться аффинная связь либо всех компонентов тримолекулярного взаимодействия, либо какого-либо одного из них.

В связи с этим представляется нецелесообразным создавать экспериментальные системы для решения вопроса о несуществовании универсального механизма ареактивности — дефект либо репертуара Т-рецепторов, либо «презентационной» функции Ia-молекул А-клеток. Значительно более актуальным является исследование молекулярных механизмов ассоциации элементов молекул в представленной выше модели. Она вовсе не исключает возможность низкоаффинных бимолекулярных связей: Т-рецептора с гистотопом Ia, агретоп с дезетопом Ia, эпитопа с Т-рецептором. В гл. II.4.5. описаны условия возникновения способности Т-клеток при их созревании в тимусе реагировать на сингенную I-A-молекулу (селекция Т-клеток, несущих рецепторы к сингенному Ia-гистотопу), что сопровождается возникновением иммунокомпетентности, т. е. реакции тех же Т-клеток на комплекс антигена с той же I-A молекулой (агретоп—дезетоп).

Из этого следует существование в структуре Ia-молекулы двух независимых участков — гистотопа и дезотопа, которые связываются соответственно с Т-рецептором и антигеном. На существование гистотопа как специального участка Ia-молекулы указывает тот факт, что секреция ИЛ-2 Т-гибридомой при ее взаимодействии с соответствующим антигеном (гемоцианином, овальбумином, аллоантигеном) в комплексе с Ia-молекулой блокируется антителами двух специфичностей: к неполиморфной детерминанте Ia-молекулы, общей у мыши и человека, и к маркеру Т-гибридом L3T4, ответственному за связывание тех же клеток с Ia-молекулой [735, 2190]. Этот факт удастся воспроизвести, даже если комплекс Ia с фрагментом антигена представлен не на МФ, а на искусственной твердофазной подложке [2193]. Можно предположить, что неполиморфный Ia-гистотоп локализован на консервативных (примембранных) доменах α - и β -цепей Ia-молекулы и связывается с константным участком рецептора Т-хелперов, ассоциированным с молекулой L3T4 мыши и ее аналогом Т4 человека [604].

В отличие от неполиморфного Ia-гистотопа индивидуальный Ia-дезетоп, ассоциированный с агретопом соответствующего антигена, извлечен из супернатанта культур А-клеток, предварительно обработанных антигеном (гемоцианином, альбумином, кополимером (Т, G)—А—L, авидином). Такие комплексы получили обозначения: GRF³ [532], IAC⁴ [1634], IPM⁵ [618]. Хотя тонкая структура этих комплексов не изучена, не исключена возможность, что характер сцепления Ia-молекулы с различными «процессированными» в МФ антигенами варьирует в зависимости от того, какие АК Ia-молекулы и данного фрагмента антиге-

³ Genetically related factor — генетически родственный фактор.

⁴ Ia-antigenic complex — комплекс Ia с антигеном.

⁵ Ia-positive moiety — Ia-положительная структура.

на ассоциируются в конкретном случае. В частности, Ia-молекула и фрагмент авидина сцеплены нековалентно, судя по легкости их разобщения и повторной ассоциации. Отсутствие такой ассоциации с нативной молекулой авидина означает, что агретоп действительно становится доступным (обнажается) только на «процессированном» фрагменте белка [618].

В пользу специфичности нековалентной ассоциации агретоп с Ia-молекулой свидетельствует возможность обратимо ингибировать пролиферативную реакцию Т-клеток, специфичных к кополимеру (PLL или GAT), при обработке не реагирующих Т-клеток, а «презентирующих» А-клеток конкурентным кополимером (соответственно GL или GT). Детальное изучение этого факта, вначале установленного на клетках морской свинки [2216], было проведено на клонах Т- и А-клеток мыши [1700]. Таким образом, на некоторых кополимерах, различающихся по эпитопам, выявлен общий агретоп. В связи с этим наблюдается конкуренция за связывание разных антигенов с данной А-клеткой. Степень конкуренции варьирует в зависимости от лабильности и сродства связывания агретоп с дезетопом I-A молекулы разных аллелей. Существование в I-A молекуле специальных структур дезетопов следует также из того, что часть панели аллоиммунных Т-клонов, узкоспецифичных к частной (private) детерминанте данной I-A молекулы ($I-A^d$), теряет свою реактивность на стимуляторы — МФ $I-A^d$, если они предварительно обработаны кополимером GAT или GT [1702]. Это означает, что функцию дезетоп, который может быть экранирован от взаимодействия с данным агретопом, выполняет одна из полиморфных детерминант конкретной Ia-молекулы.

В некоторых случаях сцепление агретоп—дезетоп оказывается прочным. Например, «процессированный» фрагмент инсулина быка, по-видимому, сцеплен с молекулой $I-A^b$ ковалентно, судя по стабильности комплекса: комплекс не разобщается после обработки SDS, а также 0,1 М NH_4OH или 1 М NaCl, которые используются для его элюции соответственно с антительных иммуносорбентов (против молекул $I-A^b$ или инсулина быка) или с Т-клеток клона, специфичного к тому же комплексу [1635]. Стабильный комплекс формируется также при совместной 5-часовой инкубации очищенного пептида лизоцима (остатки АК с 46 по 61), иммуногенного для мышей гаплотипа H-2^k, с выделенной молекулой $I-A^k$, т. е. без участия мембраны МФ [116]. Отсутствие такого комплекса с молекулой $I-A^d$, для гаплотипа которой данный пептид не иммуногенен, указывает на специфичность ассоциации агретоп—дезетоп.

Одним из вариантов структуры Ia-дезетоп может оказаться участок АК 67—71 в полипептиде A_β^b . Обнаружение в Ia-молекулах мышей трех линий — мутанта H-2^{b^m12}, B10.A(5R) и B10.A — идентичности по указанному фрагменту их β -цепей (соответственно $A_\beta^{b^m12}$, E_β^b и E_β^k) [1319] сочетается с одинаковой способностью их А-клеток «презентировать» инсулин овцы иммунным к нему Т-лимфоцитам тех же линий, т. е. как сингенной, так и аллогенной [860]. Поскольку все эти мыши неактивны к инсулину быка (он отли-

чается от инсулина овцы одной АК А-петли—Gly⁹→Ser), а их А-клетки не способны «презентировать» инсулин быка, очевидно, что возникновение комплекса агретоп — дезетоп связано с тонкой специфичностью взаимодействия остатков АК антигена и полиморфной структуры данной Ia-молекулы⁶. Предположение о том, что этот комплекс основан на гидрофобных взаимодействиях АК [699], имеет лишь косвенные экспериментальные доказательства [444a].

V.3.4. Различия детерминант белковых молекул, распознаваемых Т-хелперами и Т-супрессорами

Условия взаимодействия Т-рецептора с эпитопом осложнены неидентичностью эпитопов при реакции на антиген Т-субклассов и их вариантов. Даже при сопоставлении Т-хелперов, обеспечивающих дифференцировку АОК, и пролиферирующих Т-клеток оказалось, что иммуногенными для них являются разные пептиды или фрагменты одного и того же белка, использованного в тест-реакции. Этот факт установлен в отношении как тетрамерной β-галактозидазы (М.м. 465 кДа, 1021 АК), так и короткого фибринопептида В человека. В первом случае из 11 пептидов 9 индуцировали пролиферирующие Т-клетки, но только два из них, наименее активные по этому критерию (СВ-2 — остатки АК с 3 по 92, и СВ-10 — остатки АК с 378 по 418), индуцировали Т-хелперы [1102]. Во втором случае, напротив, Т-хелперы могут быть индуцированы у большого набора линий мышей сравнительно малыми фрагментами (из 11—13 АК), тогда как индукция пролиферирующих Т-клеток возможна только у линий I-A^k+ при иммунизации цельной молекулой, содержащей Arg¹⁴ [1576]. Хотя остается неясным, связаны ли эти варианты с различием репертуара рецепторов Т-субклассов или взаимодействия агретоп с дезетопом А-клеток, рецепторы Т-супрессоров во всех исследованных случаях реагируют на иной эпитоп молекулы по сравнению с Т-клетками хелперной группы.

Это факт, вначале установленный при иммунизации простым кополимером [1808] или поливинилпирролидоном [916], полностью подтвердился при использовании более сложных белков — инсулина [946], лизоцима [699] и даже β-галактозидазы [2113]. В частности, избирательный контакт рецепторов Т-супрессоров [2227] и их фактора [46] с N-концевым фрагментом лизоцима курицы из трех остатков АК (Lys—Val—Phe) приводит к подавлению реакции на весь антиген Т-хелперов мышей линии с гаплотипом H-2^b. Отщепление этого концевой фрагмента аминопептидазой превращает ареактивных к лизоциму курицы мышей в высокореактивных с Т-хелперами, которые реагируют на эпитопы в структуре иного пептида — 74—96 АК [1272].

⁶ В связи с этим А-клетки мыши исходной линии C57BL/6(H-2^b), которая отличается от мутанта H-2^bbm12 тремя АК в участке 67—71 цепи A_B^b, полностью противоположны А-клеткам мутанта: они «презентируют» инсулин быка, но не овцы, что сопровождается реактивностью мышей C57BL/6 только к инсулину быка в противоположность реактивности мутанта bm12 только к инсулину овцы.

В связи с таким узким «верхушечным» эпитопом Т-супрессоры, специфичные к лизоциму курицы, не подавляют перекрестную реакцию Т-хелперов [44] и εT_{H3T} [46] на лизоцим фазана, в котором заменена только одна АК (Phe^3-Tyr), но подавляют реакцию на лизоцим человека, несмотря на его отличие от лизоцима курицы по 40% остатков АК: три N-концевых остатка АК у них идентичны.

Выяснение тонкой структуры эпитопа, распознаваемого рецептором Т-супрессора, имеет важнейшие последствия для иммунотерапии: развитие у морской свинки ЭАЭ (аналога рассеянного склероза человека) при иммунизации синтетическим нанопептидом (114—122 АК) базального белка миелина предотвращается Т-супрессорами, индуцированными иным пептидом (44—89 АК) того же белка [2009].

Совокупность приведенных данных (см. также гл. IV.2.3., гл. V.2) указывает на кардинальные отличия рецепторов Т-супрессоров от рецепторов Т-клеток хелперной группы. Четкие различия узнаваемых ими эпитопов в структуре белковых молекул, способность рецепторов Т-супрессоров прямо связываться не только с эпитопом антигена, но и с гаптенем, фиксированным на сорбенте, т. е. без участия Ia-молекулы, а также реагировать на широкий спектр тимуснезависимых антигенов и синтетических полипептидов у генетически нереактивных к ним животных, подобие во многих случаях идиотипических детерминант рецепторов и факторов Т-супрессоров идиотипам Ig — все эти свойства сближают рецепторы Т-супрессоров с рецепторами В-клеток, несмотря на отсутствие перестройки и транскрипции генов Ig в стабильно растущих клонах Т-супрессоров (см. гл. V.1.1). В пользу такого представления свидетельствует также способность рецепторов Т-супрессоров, иммунизированных нативным или денатурированным овальбумином, не только реагировать, но и физически связываться, подобно антителам, только с той формой фиксированного на пластике белка, которая была использована для иммунизации [523]. Как указывалось выше, рецепторы иных Т-субклассов, также индуцированных нативным или денатурированным белком, напротив, перекрестно связываются с любой его формой, что сопровождается сильной ПР (пролиферацией или хелперной функцией). Кроме того, идентичность детерминанты, распознаваемой «ранними» антителами и рецепторами Т-супрессоров, прямо показана при иммунизации мыши лизоцимом: эти антитела связываются только с тем же узким N-концевым эпитопом ($Lys-Val-Phe$), который избирательно распознается рецептором Т-супрессора (но не иных Т-субклассов) и не имеет отношения к агретопу, т. е. к взаимодействию антигена с Ia-молекулой [2226].

Антитела, так же как Т-супрессоры, индуцированные N-концевым синтетическим пептидом (АК 1—18) лизоцима курицы, четко отличают его от такого же пептида лизоцима фазана; напротив, Т-хелперы мышей, иммунизированные тем же пептидом,

не различают эти два пептида и реагируют одинаково на цельные молекулы лизоцима двух указанных типов [1825a]. Таким образом, различие этих двух молекул по единичному (третьему) АК остатку, достаточное для их дискриминации антителами и Т-супрессорами, вовсе не приводит к их дискриминации Т-хелперами.

V.4. Иммунологическая специфичность рецепторов ЦТЛ

V.4.1. Несовпадение СО- и ЦТЛ-детерминант в молекуле МНС класса I

Специальный интерес имеет исследование ЦТЛ-детерминант в структуре молекулы МНС класса I, т.е. эпитопов, распознаваемых рецепторами эффекторных ЦТЛ, которые ответственны за реализацию многих видов иммунитета. Принципиальная важность этой проблемы связана с тем, что в отличие от рецепторов Т-клеток хелперной группы, реагирующих на процессированный А-клетками фрагмент белка в комплексе с молекулой МНС класса II, объектом распознавания для рецепторов ЦТЛ во многих случаях служит нативная молекула МНС класса I (Н-2K/D/L мыши) — либо аллогенная, либо сингенная, ассоциированная с другой нативной молекулой чужеродного антигена без какого-либо участия А-клеток (гл. III.3.1, рис. 9). Выяснению тонкой специфичности рецепторов ЦТЛ и особенностей их клональной структуры способствует ряд методических подходов: получение МкАТ и клонированных линий ЦТЛ, специфичных к данной молекуле МНС, ее доменам или отдельным участкам; трансфекция генов или экзонов, кодирующих отдельные молекулы МНС, их домены или произвольные комбинации таких доменов: искусственное внедрение посторонних продуктов МНС в плазматическую мембрану с помощью липосом; анализ перекрестной реактивности ЦТЛ, проведенный после их разделения на фракции, прикрепляющиеся к посторонним КМ, а затем элюированные с таких КМ.

Хотя вопрос о возможности полного несовпадения СО- и ЦТЛ-детерминант окончательно не решен, можно считать установленным: а) расположение этих детерминант на одной молекуле; б) неидентичность спектра (набора) СО- и ЦТЛ-детерминант в структуре данной молекулы; в) резкое количественное ограничение (так же, как качественное различие) ЦТЛ-детерминант по сравнению с большинством СО-детерминант; г) значительно более выраженную связь ЦТЛ-детерминант с конформационной структурой молекулы по сравнению с СО-детерминантами.

Экспрессия СО- и ЦТЛ-детерминант на одной и той же молекуле МНС класса I вначале следовала из того, что изменение степени связывания анти-Н-2 антител, вызванное обработкой КМ различными концентрациями папаина [2084, 2078, 1107] или

варьированием аллелей данной молекулы H-2K/D [1513], коррелировало с изменением степени лизиса КМ под действием ЦТЛ, специфичных к той же молекуле H-2. О сцепленном расположении на плазматической мембране СО- и ЦТЛ-детерминант можно было судить также на том основании, что интенсивный «кэппинг» СО-детерминант антителами не предотвращал способность тех же антител ингибировать лизис ЦТЛ таких модулированных КМ [1978]. Увеличение под действием ИФ- γ количественной экспрессии СО-детерминант молекул H-2K/D на поверхности фибробластов мыши, инфицированных вирусами вакцины или ЛХМ, приводит к возрастанию чувствительности таких КМ к лизису ЦТЛ, специфичными к тем же вирусам [289].

Вопрос о связи СО- и ЦТЛ-детерминант был решен окончательно с помощью трансфекции гена, кодирующего аллель данной молекулы H-2, в геном клеток, несущих иной аллель такой же молекулы: клетки приобретали способность связывать антитела и лизироваться ЦТЛ, специфичными к аллельным продуктам трансфецированного гена, обеспечивать «холодное» ингибирование такого цитолиза, а также индуцировать при введении сингенным мышам образование антител и ЦТЛ той же узкой специфичности [2252, 1277]. Параллельное возникновение тех же активностей наблюдалось после трансфекции «гибридного» гена, сконструированного из комбинаций экзонов, которые кодируют отдельные домены молекулы H-2 разных аллелей (гл. I.3.2.4).

Необходимым условием возникновения в КМ способности связывать меченные ^{125}I МкАТ и чувствительности к лизису ЦТЛ (и их клонами), специфичными к продукту H-2 трансфецированного гена [1533, 1673], вирусу гриппа [56, 91] или к гаптемам [1193] при рестрикции по сингенному продукту H-2 того же класса, было включение в «гибридный» ген двух первых экзонов (N и C1) данного аллеля. Напротив, примембранный (C2) и трансмембранный экзоны могли быть взяты от постороннего аллеля, а цитоплазматический экзон вовсе не требовался для экспрессии внеклеточного продукта трансфецированного гена [1193, 1433]. Это означает, что для экспрессии детерминант обоих типов — СО и ЦТЛ, как правило, требуется комбинация двух периферических доменов молекулы H-2⁷.

Такое заключение подтверждено анализом большого набора клонов ЦТЛ (150) и МкАТ (29), специфичных к той же молекуле H-2K. 90% таких клонов ЦТЛ и 60% МкАТ реагируют только на продукт гибридного гена, включающего оба периферических экзона данного аллеля H-2K [91a]. Тем не менее часть СО-отличие от ЦТЛ-детерминант может быть выявлена как на каждом из периферических доменов в отдельности [91a], так и на примембранном домене C2 [1533].

⁷ Тот же факт установлен при трансфекции в клетки мыши гибридного гена, сконструированного *in vitro* из двух экзонов, которые кодируют периферические домены α_1 и α_2 молекулы HLA [957, 875].

Экспрессия СО- и ЦТЛ-детерминант на одних и тех же доменах молекулы не проясняет, однако, проблему их идентичности. Высокая эффективность ингибирования лизиса ЦТЛ при предварительной обработке КМ антителами, в том числе МкАТ, специфичными к той же молекуле МНС мыши [579, 249, 2221] или человека [1328], не зависит от того, специфичны ли МкАТ к общим (public) или частной (private) детерминантам данной молекулы. Степень ингибирования активности ЦТЛ не зависит также от того, специфичны ли они (и их клоны) к аллогенной или к сингенной молекуле Н-2 в комплексе с минорным Н-У антигеном [579], гаптеном [2221], вирусом гриппа [249]. Хотя степень ингибирования разными МкАТ разных клонов ЦТЛ, специфичных к той же молекуле Н-2, может оказаться стабильной [52] или варьировать [2220, 249, 1326], в любом случае стало очевидным, что даже полное ингибирование активности ЦТЛ антителами вовсе не указывает на идентичность СО- и ЦТЛ-детерминант.

Для такого утверждения достаточно того, что антитела блокируют активность даже тех ЦТЛ, которые не способны реагировать с соответствующей СО-детерминантой, поскольку она экспрессирована не только на КМ, но и на самих ЦТЛ. Этот факт, установленный при специфичности ЦТЛ к мутантной [1438, 1105] или аллельной молекуле Н-2 [579], может означать, что связывание антител с СО-детерминантой молекулы КМ приводит к стерической экранировке иной структуры той же молекулы, распознаваемой ЦТЛ.

В пользу такой возможности свидетельствует способность МкАТ, специфичных к определенному домену данной молекулы Н-2, блокировать реакцию ЦТЛ на иной участок той же молекулы. В частности, после трансфекции гибридных генов Н-2D^d и Н-2L^d в L-клетки мыши (Н-2^k) МкАТ к домену С2 продукта трансфецированного гена ингибируют реакцию ЦТЛ на домены N плюс С1 с такой же интенсивностью, как МкАТ к доменам N плюс С1, хотя эти два типа МкАТ не блокируют связывание друг друга с той же молекулой, т.е. не перекрываются по своей специфичности [1533]. Сходный факт установлен в иной системе: при реакции клонов ЦТЛ, специфичных к гаптену АЕД в комплексе с сингенной молекулой Н-2K^b, с КМ мутантов (Н-2K^{bm}), у которых АК заменены либо в домене N (bm3,8,11), либо в домене С1 (bm 5,6,9). Поскольку МкАТ к домену N блокируют реакцию любых клонов ЦТЛ с мутантными КМ, а МкАТ к домену С1 — только тех клонов ЦТЛ, которые реагируют с мутантами первой группы, очевидно, что вся эта блокировка связана не с конкуренцией антител с активным центром Т-рецептора, а со способностью антител изменять экспрессию на той же молекуле постороннего для них объекта — ЦТЛ-детерминанты [1604]. Связано ли это изменение только со стерической экранировкой или также с модификацией конформационной структуры молекулы Н-2 под действием антител, остается неизвест-

ным. В пользу последней возможности указывает способность МкАТ к молекуле Н-2, так же как их Fab-фрагмента, не только блокировать активность ЦТЛ, но и усиливать связывание иных МкАТ с той же молекулой, представленной как на поверхности клетки, так и в растворе [469, 1174].

Подобные результаты получены при использовании в качестве КМ соматических мутантов лимфобластоидных линий человека: МкАТ, реагирующие с разными участками мутантных вариантов молекулы HLA-A2 этих клеток, блокируют их лизис клонированными ЦТЛ, несмотря на то что спектр специфичности МкАТ и клона ЦТЛ не совпадает внутри молекулы HLA-A2 [1743, 258a].

Неидентичность СО- и ЦТЛ-детерминант на нативной молекуле МНС класса I следует также из возможности сохранения одной из них, несмотря на исчезновение другой, в соматических мутантах клеточных линий лимфом мыши и человека. В частности, исчезновение некоторых СО-детерминант молекул Н-2К^к или Н-2L^д не снижает чувствительность КМ к лизису клоном ЦТЛ, специфичных к той же молекуле — как аллогенной [223], так и сингенной, ассоциированной с гаптенем или вирусом [2253, 2145]. Подобный факт установлен на лимфобластоидных линиях человека: мутация в сегменте остатков АК 98—108 домена α_2 молекулы HLA-A2 приводит к снижению реактивности к МкАТ при полном сохранении чувствительности к клону ЦТЛ, специфичному к той же молекуле [2184]. Сохранение при мягкой фиксации клеток формальдегидом их взаимодействия с ЦТЛ, несмотря на утрату некоторых СО-детерминант [1977], в том числе выявляемых МкАТ и связанных с остатком Lys⁸⁹ молекулы Н-2К^б [885], указывает на то, что некоторые точковые модификации в первичной структуре этой молекулы могут не сопровождаться изменением ее конфигурации.

Аналогичная закономерность выявляется еще более четко при обратном феномене: исчезновении, изменении или возникновении новой ЦТЛ-детерминанты при сохранении реактивности мутантной молекулы к антителам, специфичным к продукту МНС дикого типа. Этот факт, ранее обнаруженный при спонтанных мутациях *in vivo* молекулы Н-2К^б мыши С57BL/6 (гл. I.3.2.3), в последующем был детально проанализирован с помощью МкАТ к этой молекуле [1843, 222]. Оказалось, что как полное отсутствие серологических изменений, так и исчезновение (или снижение экспрессии) одной из множества СО-детерминант молекулы Н-2К^б у отдельных мутантов вовсе не коррелирует с интенсивностью реакции ЦТЛ каждого из таких мутантов, иммунных к антигену дикого типа Н-2К^б. В частности, высокая активность ЦТЛ bm11 анти-С57BL/6, связанная с заменой двух АК (гл. I.3.2.3), сочетается с полным отсутствием образования антител при иммунизации в той же системе.

Изменение чувствительности к ЦТЛ, несмотря на сохранение СО-детерминант молекул HLA-A2 и В7 человека, установлено при соматических мутациях клеточных линий в культуре [2184].

Отсутствие чувствительности КМ человека к ЦТЛ, рестрированным по молекуле HLA-A2, несмотря на экспрессию этой молекулы (и ее СО-детерминант) на тех же КМ, — выявляется у некоторых людей по отношению к ЦТЛ, специфичным к вирусу гриппа [202] или к антигену Н-У [702], а также к клонам ЦТЛ, специфичным к вирусу Эпштейна—Барр [637] или к аллогенным HLA-молекулам [1924].

Неслучайность сочетания исключительной лабильности ЦТЛ-детерминант с относительной стабильностью СО-детерминант следует из того, что оно воспроизводится при иных методических подходах: искусственное внедрение в плазматическую мембрану клеток мыши молекул HLA человека с помощью липосом [524] или трансфецированного гена [130] обеспечивает связывание соответствующих анти-HLA антител, но полностью меняет специфичность ЦТЛ-детерминанты. Подобный факт установлен при трансфекции мутантного гена H-2L^d, в продукте которого замена Cys¹⁰¹→Ser приводит к разрыву дисульфидного мостика домена С1. Это сопровождается полной отменой чувствительности КМ к ЦТЛ, специфичным к исходной молекуле H-2L^d; в то же время часть МкАТ по-прежнему связывается с доменами N и С2 мутантной молекулы [1857].

V.4.2. Анализ перекрестной реактивности (ПР) ЦТЛ и их клонов, специфичных к молекуле Н-2 или ее мутантным вариантам

Приведенные данные дают основание для двух предположений. 1. Количество ЦТЛ-детерминант в молекуле МНС класса I резко ограничено (иммунодоминантный эпитоп) по сравнению с количеством СО-детерминант. 2. ЦТЛ-детерминанта представляет собой наиболее комплексный (мозаичный) вариант конформационной структуры, в конфигурацию которой может быть включена частная СО-детерминанта, тесно сцепленная с ЦТЛ-детерминантой.

Возможность количественного ограничения или даже существования единичной ЦТЛ-детерминанты в молекуле Н-2 следовала из анализа ПР «моноспецифичных» ЦТЛ, т. е. направленных к одному из аллоантигенов — Н-2К, Н-2D или Н-2L. Выраженная ПР таких ЦТЛ наблюдалась при их реакции только с теми посторонними КМ рекомбинантных линий мышей, антиген Н-2 которых идентичен иммунизирующему антигену Н-2 по частной, т. е. уникальной для молекулы данного аллеля СО-детерминанте (гл. I.3.1.2, табл. 2). Напротив, совпадение только по набору общих СО-детерминант молекулы Н-2 либо вовсе не приводило к перекрестному лизису КМ [270, 600], либо для такого лизиса требовалось в 10—20 раз больше ЦТЛ, чем для лизиса соответствующих КМ.

В последних случаях высокоактивные аллоиммунные «моноспецифичные» ЦТЛ были индуцированы либо в MLC после однократной [578] или двукрат-

ной иммунизации [2136], либо *in vivo* — в перитонеальном экссудате [1122], селезенке [14] или лимфоузлах с последующим обогащением аллоиммунных ЦТЛ элюцией с монослоя КМ [8]. Из рис. 30 следует, что перекрестный лизис посторонних КМ Н-2^a и Н-2ⁱ достигает максимума (22—29%) при дозе ЦТЛ, которая в 18—20 раз превышает их дозу, вызывающую тот же уровень лизиса КМ соответствующего донора (Н-2^b), т. е. ПР составляет 4—6% от лизиса КМ донора [14]. Подобная ПР низкого уровня была получена в двух иных ситуациях противоположного характера: а) если ЦТЛ, индуцированные аллоантигеном, тестированы на сингенных КМ, антиген Н-2 которых ассоциирован с гаптеном [1189]; б) при анализе ПР на аллоантиген ЦТЛ, индуцированных комплексом сингенной молекулы Н-2 с гаптеном [292, 1423], вирусом Сендай [571], гриппа [248], герпеса [1580], лейкемии [1972] или иными вирусами [1423], минорным Н-антигеном [196], антигеном Н-У [1424].

Совокупность этих исследований ПР неклонированных ЦТЛ, основанных только на цитотоксическом тесте, позволила установить несколько закономерностей. 1. Для ПР необходимо участие молекул МНС — как при индукции ЦТЛ, так и в тест-системе. 2. За ПР ответственны те же ЦТЛ, которые лизируют КМ соответствующего донора. 3. ПР обусловлена реакцией с посторонними КМ не всех ЦТЛ, а лишь малой их доли, что указывает на неоднородность «моноспецифичных» ЦТЛ. 4. ПР на разные посторонние КМ осуществляется в каждом случае разными популяциями ЦТЛ одной специфичности (например, посторонние КМ двух мутантов молекулы Н-2К^b—bm3 и bm11 — лизируются разными ЦТЛ, специфичными к ВЛМ в комплексе с сингенной молекулой иного мутанта Н-2D^{bm13}) [1973].

Эти заключения основаны на отмене ПР «холодными» КМ различного происхождения, «радиоактивным самоубийством» ЦТЛ при их обработке ³Н-тимидином с высокой удельной активностью или при предварительной (до иммунизации) индукции у реципиента толерантности к данному постороннему антигену. Использование более точных методов — анализ ПР клонированных ЦТЛ и определение ПР не по литическому эффекту ЦТЛ, а по связыванию их рецепторов с монослоем посторонних КМ и последующему обогащению ЦТЛ, элюированных с такого монослоя, — позволило не только подтвердить и уточнить указанные закономерности, но и частично прояснить их механизм.

Клоны ЦТЛ, выращенные *in vitro* методом лимитирующих разведений, также демонстрировали гетерогенность своей ПР в каждом случае, несмотря на их узкую специфичность — к гаптену, вирусу, мутантному варианту аллоантигена. При этом частота клонов (и их предшественников), реагирующих с данными посторонними КМ, была так же низка (3—8%), как при использовании неклонированных ЦТЛ, если эти клоны были специфичны к аллогенной молекуле Н-2 [2059, 2055]. Напротив, ПР на аллогенную молекулу Н-2 клонов, специфичных к комплексу сингенной молекулы Н-2 с гаптеном [747, 1871] или вирусом гриппа [248, 104], отличалась высокой интенсивностью, аффинитетом и(или) частотой реагирующих клонов. При этом обратителем ПР клонов по отношению к разным аллоантигенам значительно варьировал, несмотря на то что весь набор клонов был

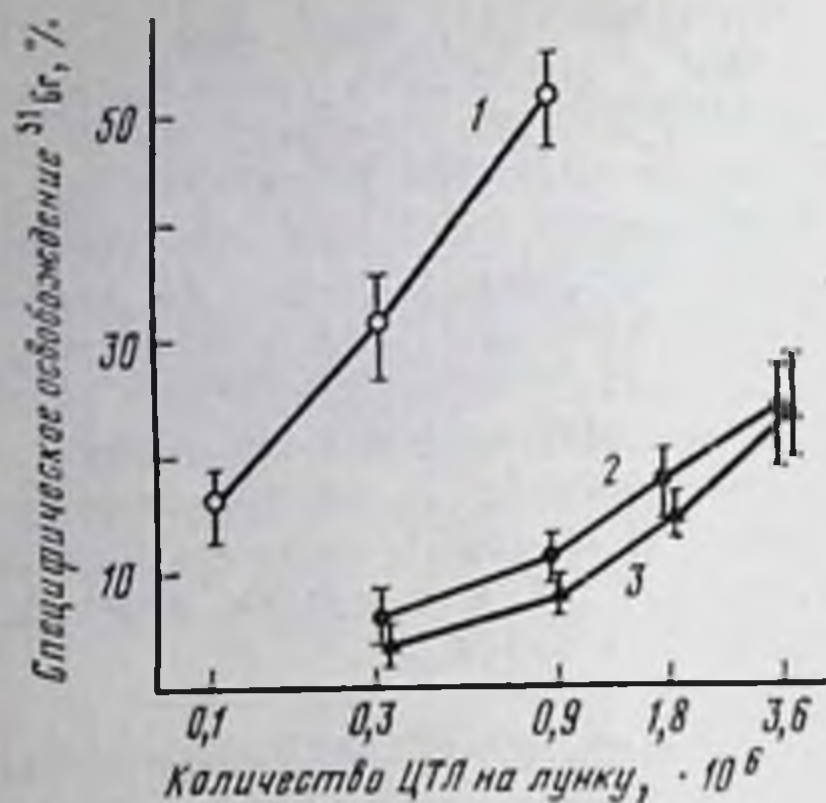


Рис. 30. Зависимость прямого и перекрестного лизиса ЦТЛ d анти-b от их дозы

1 — клетки-мишени V10(H-2^b);

2 — V10.M(H-2^f);

3 — V10.A(H-2^a)

специфичен к одному комплексу гаптена (или вируса) с данной сингенной молекулой H-2.

Природа индивидуальности спектра ПР клонов (или группы клонов) узкой специфичности требует дальнейшего выяснения (см. ниже). Тем не менее на основании

приведенных данных можно предположить, что ЦТЛ-детерминанты (эпитопы), возникающие на сингенной молекуле H-2 при ее ассоциации с вирусом или гаптенем, в каждом случае имитируют какую-либо ЦТЛ-детерминанту одной из аллогенных молекул H-2 или ее мутантных вариантов, т. е. включены в репертуар аллореактивности, который отличается от репертуаров реактивности на другие антигены необычайно высокой частотой (гл. I.1.2). Такая закономерность может оказаться весьма существенной для иммунитета к ауто- и опухолевым антигенам, которые, как правило, индуцируют возникновение ЦТЛ только при ассоциации с сингенной молекулой MHC класса I.

Одним из подходов к изучению структуры ЦТЛ-детерминанты в молекуле H-2 служит ПР высокоактивных ЦТЛ разной специфичности на посторонние КМ, антигены H-2 которых лишены частной СО-детерминанты иммунизирующего антигена. Поскольку в таких случаях ПР ЦТЛ не зависит от числа общих СО-детерминант, совпадающих в иммунизирующей и посторонней молекуле H-2, и выявляется даже при полном отсутствии экспрессии таких детерминант, следует полагать, что ЦТЛ действительно не способны распознавать множество СО общих специфичностей в молекуле H-2. Эти факты были установлены при изучении ПР как обычных ЦТЛ, индуцированных в MLC [1884], так и выращенных из них клонов [747]. Необходимым условием для ПР таких клонов по отношению к антигену постороннего аллеля H-2 является включение в этот посторонний антиген двух периферических доменов (N+C1), кодированных соответствующими экзонами комбинаторного трансфецированного гена [1193].

Способность ЦТЛ распознавать уникальную конформационную структуру молекулы H-2, которая возникает только при комбинации двух периферических доменов, прямо установлена при иммунизации мутантов H-2K^{bm} антигеном дикого типа H-2K^b. В этом случае ЦТЛ различных мутантов также реагируют только на продукт двух периферических экзонов трансфецированного гена K^b независимо от того, заменены ли в данном мутанте АК в домене N или C1 [224].

Представление о том, что рецепторы ЦТЛ распознают сложную конфигурацию четвертичной структуры молекулы (гл. I.3.2.3), подтверждено при исследовании ПР клонов ЦТЛ, специфичных к мутантному антигену. В частности, более 60% клонов ЦТЛ В6 анти-bm11, специфичных к детерминанте, возникающей при замене в молекуле H-2K^b двух АК (Asp⁷⁷ и Thr⁸⁰), лизируют КМ других мутантов, в такой же молекуле которых (K^{bm}) остатки АК 77 и 80 сохранены, но заменены иные АК в других доменах [1844]. Часть клонов ЦТЛ С57BL/6 анти-bm11 лизирует даже КМ мутантов bm6 и bm9 (замены АК 116+121), хотя последние слабо отличимы от С57BL/6 при реципрокной иммунизации.

Из этих данных следует, что подобные конформационные эпитопы, распознаваемые рецепторами иммунных ЦТЛ, возникают при дистальных заменах разных АК в молекуле H-2K^b; тем не менее они могут оказаться неидентичными по степени своей иммуногенности. Кроме того, ЦТЛ-детерминанта не имеет прямой связи ни с последовательностью АК, ни с СО-детерминантами молекулы H-2, которые идентичны у всех указанных мутантов и клеток дикого типа С57BL/6.

В пользу такого представления свидетельствует также возможность разделить ЦТЛ С57BL/6 анти-bm1, т.е. специфичные к серологически молчащей детерминанте, на несколько фракций с помощью перекрестной адсорбции этих ЦТЛ на монослоях клеток различных посторонних гаплотипов H-2 [461]. Очевидно, что для частичной имитации ЦТЛ-детерминанты донора (мутанта bm1) в посторонней молекуле H-2 не обязательны замены тех трех АК (Glu¹⁵², Arg¹⁵⁵, Leu¹⁵⁶), которые произошли в молекуле мутанта (гл. I.3.2.3): хотя такие АК действительно идентичны в молекулах мутантной H-2K^{bm1} и аллельной H-2L^d [898], последняя является лишь одной из посторонних мишеней, с которой контактируют рецепторы фракций ЦТЛ С57BL/6 анти-bm1 [461].

Таким образом, создается впечатление, что узнаваемая рецепторами ЦТЛ уникальная комплексная конфигурация данной молекулы H-2 частично воспроизводится иной уникальной конфигурацией того или иного постороннего аллеля, независимо от совпадения между ними по СО-детерминантам.

Сходный спектр ПР клонов ЦТЛ наблюдается при их специфичности не к аллогенной, а к сингенной молекуле H-2, ассоциированной с гаптенем ТНФ [747] или ВЛМ [1971]. В последнем случае мутация молекулы МНС класса I H-2D^b, рестриктирующей реакцию, т.е. определяющей возможность ЦТЛ мыши С57BL/6 реагировать на ВЛМ, приводит к тому, что у мутанта H-2D^{bm14} реакция на ВЛМ в ассоциации с сингенной молекулой вовсе исчезает, тогда как у мутанта H-2D^{bm13}, напротив, возникает новая возможность реакции на тот же ВЛМ в комплексе не только с молекулой H-2D^{bm13}, но и с неизменной молекулой H-2K^b. Последняя, таким образом, оказывается подобной мутантной молекуле H-2D^{bm13} по своей конформационной структуре.

V.4.3. Изучение тонкой специфичности рецепторов ЦТЛ методом адсорбции—элюции на монослоях клеток-мишеней

Несмотря на демонстративность приведенных результатов, следует учитывать, что большая их часть получена с помощью функционального теста ЦТЛ, а не прямой активности их рецепторов. Использование теста на рецепторы — адсорбции на монослоях клеток различного происхождения (гл. V.2.1) — позволило разделить ЦТЛ, специфичные к молекуле H-2K^b, на фракции, каждая из которых несет рецепторы, реагирующие, помимо иммунизирующего антигена дикого типа, только с одним из мутантных вариантов той же молекулы. Частота ЦТЛ таких перекрестно реагирующих фракций различается при использовании разных мутантов: 80% ЦТЛ анти-K^b связывается с монослоем b^m3 и 30% — с монослоем b^m1 [3, 646]. Подобное разделение на фракции, избирательно реагирующие лишь с одной из посторонних молекул H-2, было получено при адсорбции ЦТЛ, специфичных к молекуле H-2K, H-2D или H-2L различных аллелей [2136, 14].

Схема опыта подобного типа представлена на рис. 31: после неспецифичной адсорбции ЦТЛ на монослои сингенных МФ не-прикрепившиеся лимфоциты были повторно адсорбированы на монослоях МФ разных гаплотипов H-2, и их цитолитическая активность тестирована на КМ, происходящих из того же набора гаплотипов. Из рис. 32 видно, что фракции ЦТЛ d анти-b, которые лизируют КМ посторонних гаплотипов H-2' (рис. 32, б) и H-2^a (рис. 32, в), удаляются из популяции ЦТЛ адсорбцией на монослои МФ только того же постороннего гаплотипа или донора (H-2^b), но не иного постороннего гаплотипа. Вместе с тем лизис КМ H-2^b резко снижается после адсорбции ЦТЛ на монослои МФ H-2^b, но вовсе не меняется после адсорбции тех же ЦТЛ на монослоях не только сингенного (H-2^d), но и посторонних (H-2' и H-2^a) гаплотипов (рис. 32, а). Очевидно, что ПР обусловлена рецепторами, которые в каждом случае экспрессированы лишь на малой доле ЦТЛ (4—6%, см. рис. 30).

Изучение природы ПР рецепторов ЦТЛ весьма существенно для понимания особенностей их клональной структуры. Данный антиген H-2 может индуцировать набор клонов ЦТЛ, рецепторы которых либо различаются по своей специфичности (распознают разные участки антигена, например, совпадающие с некоторыми из общих СО-детерминант), либо, напротив, идентичны (или подобны) по своей специфичности к иммунодоминантному ЦТЛ-эпиту, но различаются аффинитетом или степенью комплементарности к тому же эпиту. Хотя в обоих случаях должна наблюдаться ПР части ЦТЛ на посторонний антиген H-2, механизмы этой ПР будут различными. В случае множественных ЦТЛ-специфичностей (рис. 33, а) ПР вызвана рецепторами одного из клонов ЦТЛ анти-K^b, узкоспецифичных к общей детер-

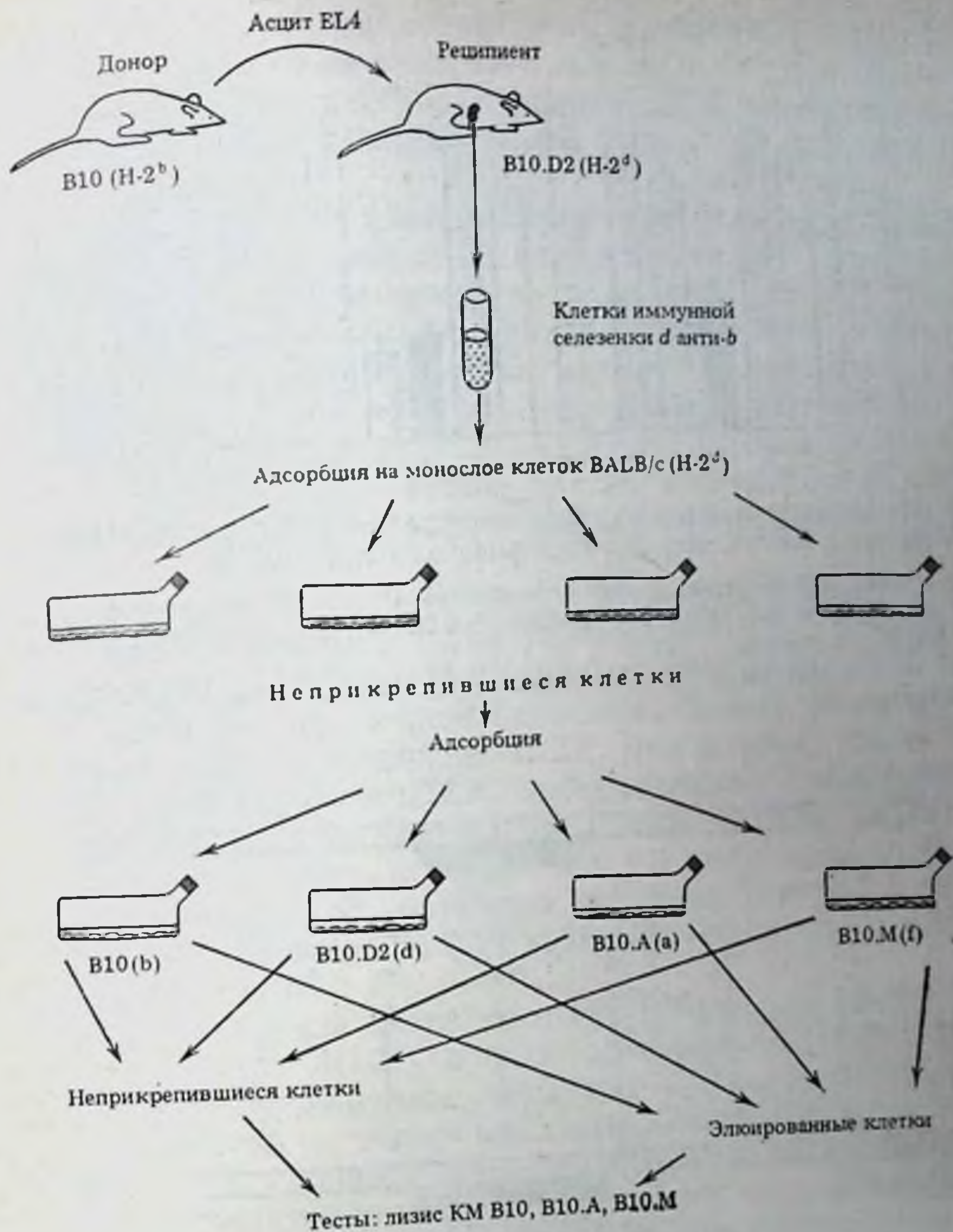


Рис. 31. Схема опытов по фракционированию ЦТЛ на монослоях макрофагов мышей перекрестно реагирующих линий

ЦТЛ d анти-b, неприкрепившиеся к сингенному по МНС монослою МФ H-2^d, повторно адсорбированы на монослоях МФ донора B10, реципиента B10.D2 и посторонних линий B10.M и B10.A (детали см. рис. 23). Литическая активность исходных, неприкрепившихся и элюированных ЦТЛ одновременно тестирована на КМ указанных линий

минанте H-2.5, которая экспрессирована на постороннем антигене K^k.

Альтернативная возможность иммунодоминантного ЦТЛ-эпитопа (рис. 33, б) состоит в том, что, хотя все ЦТЛ анти-K^k специфичны к единой ЦТЛ-детерминанте (сцепленной с частной СО специфичностью H-2.33), часть их клонов реагирует также с посторонней ЦТЛ-детерминантой K^k (сцепленной с частной СО специфичностью H-2.23) за счет особенности аффинитета, т.е. степени комплементарности своих рецепторов к той же уникальной детерминанте.

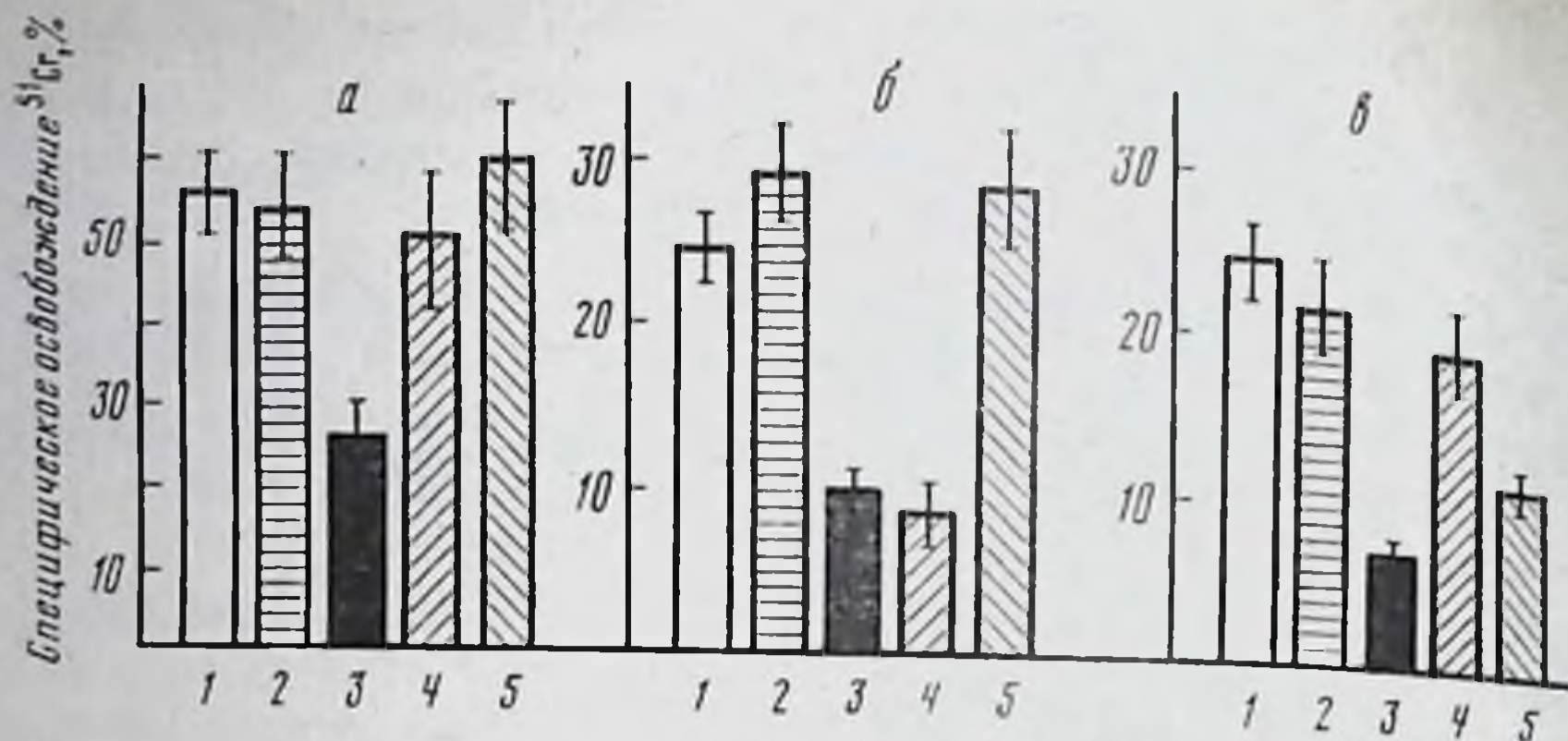


Рис. 32. Специфичность адсорбции перекрестно реагирующих ЦТЛ d анти-b на монослоях клеток, несущих посторонние гаплотипы H-2

Клетки иммунной селезенки d анти-b: интактные (1) и не прикрепившиеся после 2-кратной адсорбции к монослоям МФ BALB/c→B10.D2 (2), BALB/c→B10 (3), BALB/c→B10.M (4), BALB/c→B10.A (5).

Тесты на КМ B10 (a) в дозе $0,9 \cdot 10^6$ на лунку, на КМ B10.M (б) и B10.A (в) в дозе $3,6 \cdot 10^5$ на лунку

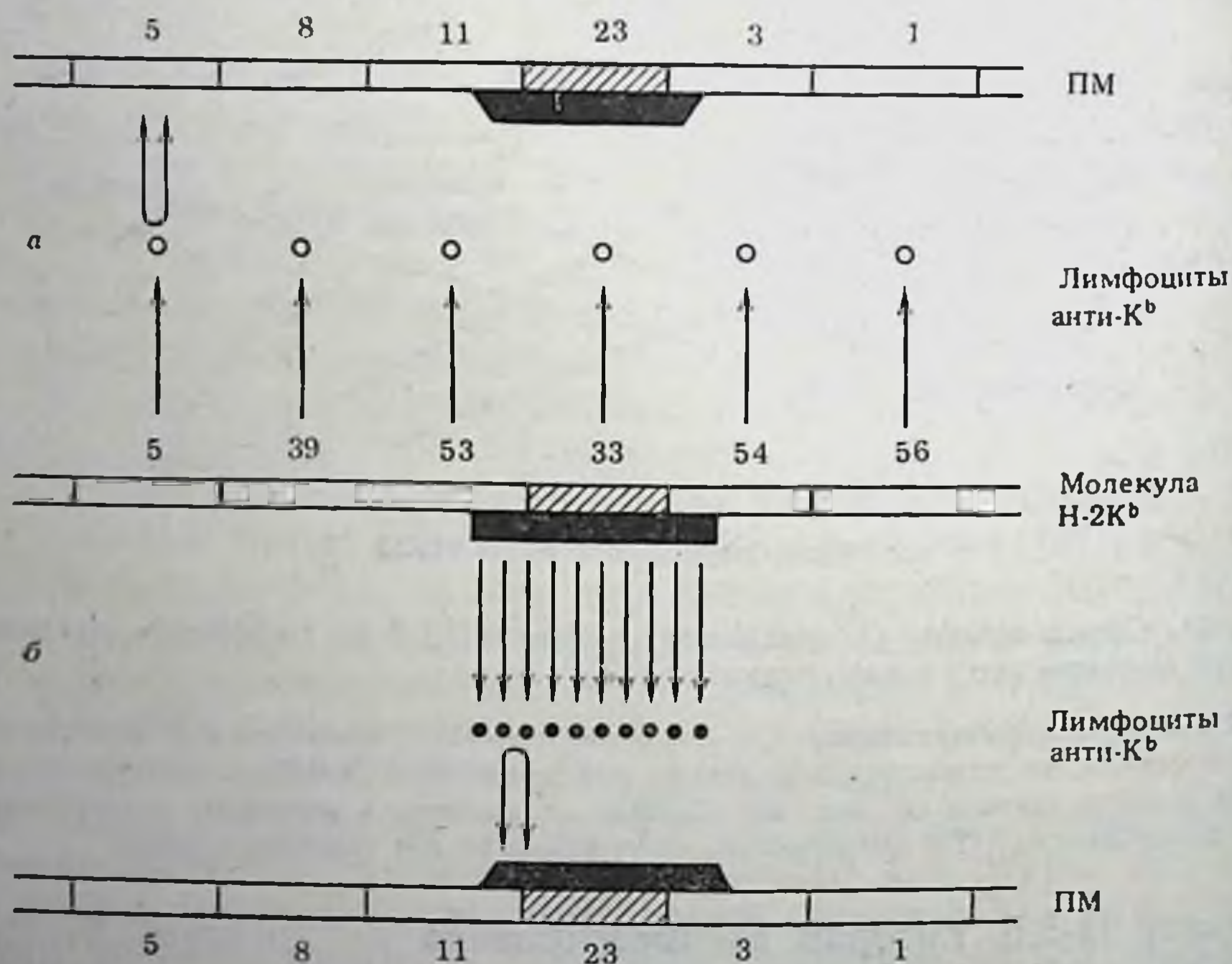


Рис. 33. Альтернативная клональная структура вариантов Т-лимфоцитов анти- K^b , перекрестно реагирующих с антигеном K^k

Цифры — серологически определяемые специфичности: общие (не заштрихованы) или частные (заштрихованы). Черные фигуры — предполагаемые ЦТЛ-детерминанты, сцепленные с частной специфичностью. Стрелка — индукция лимфоцитов анти- K^b , двойная стрелка — перекрестное связывание лимфоцитов анти- K^b с посторонней молекулой (ПМ) K^k , а — каждый узкоспециализированный клон несет рецепторы к одной из серологически определяемых специфичностей; б — все лимфоциты несут рецепторы к единой детерминанте, сцепленной с частной серологически определяемой специфичностью

Очевидно, что эти альтернативные клональные структуры ЦТЛ не могут быть различимы ни с помощью цитотоксического теста, ни на основании адсорбции фракции ЦТЛ на посторонних КМ, так как ПР будет выявляться при использовании обоих методов.

Для выяснения этой альтернативы определяли активность ЦТЛ не только интактных и не прикрепившихся к монослоям МФ различного происхождения, но и элюированных с тех же монослоев, как это показано на рис. 31. Возможность такого исследования связана с тем, что после элюции ЦТЛ d анти-b с монослоя МФ Н-2^b наблюдается их обогащение при тесте на КМ не только гаплотипа донора Н-2^b, но и посторонних гаплотипов линий Н-2' и Н-2^a, хотя степень такого обогащения в наиболее активных элюированных фракциях может варьировать (см. [14]).

Очевидно, что в соответствии с моделью множественных ЦТЛ-специфичностей (рис. 33, а) рецепторы перекрестно реагирующей фракции ЦТЛ анти-Н-2.5, изолированной элюцией с монослоя К^k, должны: а) обеспечивать лизис КМ К^k не хуже, чем КМ К^b, поскольку обе содержат Н-2.5; б) вызывать слабый лизис КМ К^b по сравнению с ЦТЛ, элюированными с монослоя К^b, т.е. содержащими большой набор клонов анти-К^b различных специфичностей; в) вовсе не приводить к лизису иных посторонних КМ, например, Н-2', лишенных детерминанты Н-2.5, но содержащих специфичности Н-2.39 и Н-2.53, общие с иммунизирующим антигеном К^b.

Результаты анализа активности ЦТЛ, элюированных с трех монослоев — донора (Н-2^b) и двух посторонних (Н-2' и Н-2^a), оказались противоположными ожидаемым. Фракции ЦТЛ d анти-b, элюированных с посторонних монослоев Н-2' (рис. 34, а) и Н-2^a (рис. 34, б), лизировали: а) значительно интенсивнее КМ Н-2^b, чем соответствующие КМ, с которых они элюированы; б) другие посторонние КМ — либо слабее, чем гомологичные КМ (рис. 34, а), либо на том же уровне (рис. 34, б); в) КМ Н-2^b с такой же интенсивностью, как ЦТЛ, элюированные с монослоя Н-2^b (рис. 34, в).

Таким образом, приведенные данные не соответствуют модели множественных ЦТЛ-детерминант и скорее свидетельствуют в пользу модели иммунодоминантного ЦТЛ-эпитопа (см. рис. 33, б): клоны ЦТЛ, индуцированные данной молекулой Н-2, идентичны или подобны по специфичности своих рецепторов к единой комплексной конфигурации этой молекулы. Можно предположить, что рецепторы той части однородных по специфичности клонов ЦТЛ, которые менее аффинны (комплементарны) к этой конфигурации, отличаются большей степенью лабильности и способностью адаптироваться к данному постороннему уникальному ЦТЛ-эпитопу. Из этого предположения следует, что фракции ЦТЛ с наиболее выраженной ПР, т.е. прочно прикрепившиеся к постороннему монослою и элюируемые только

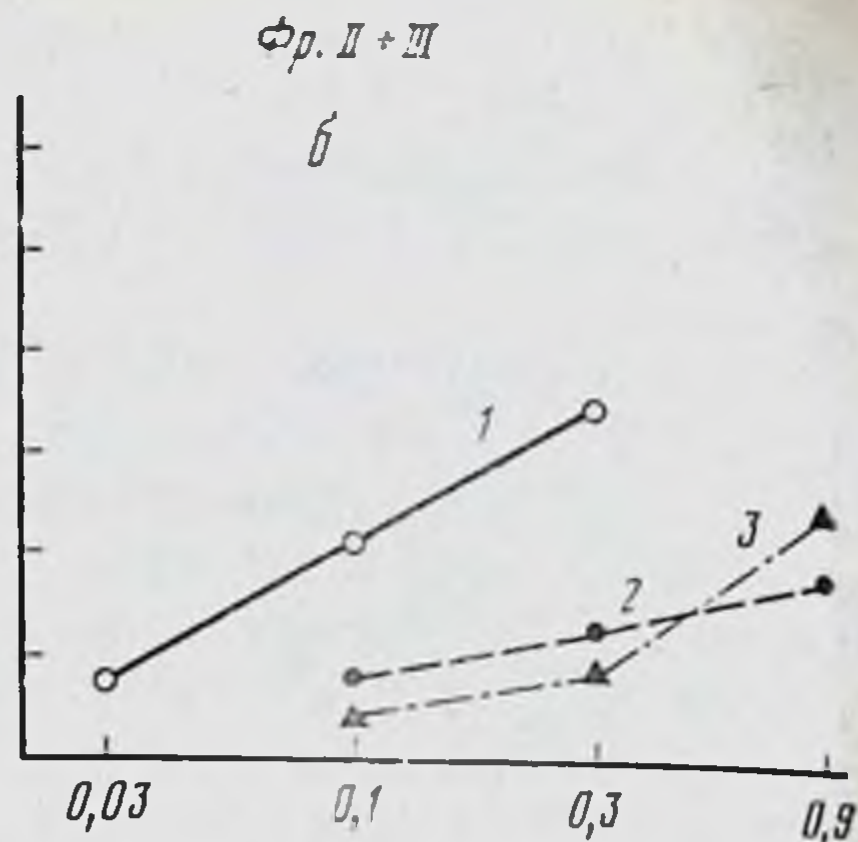
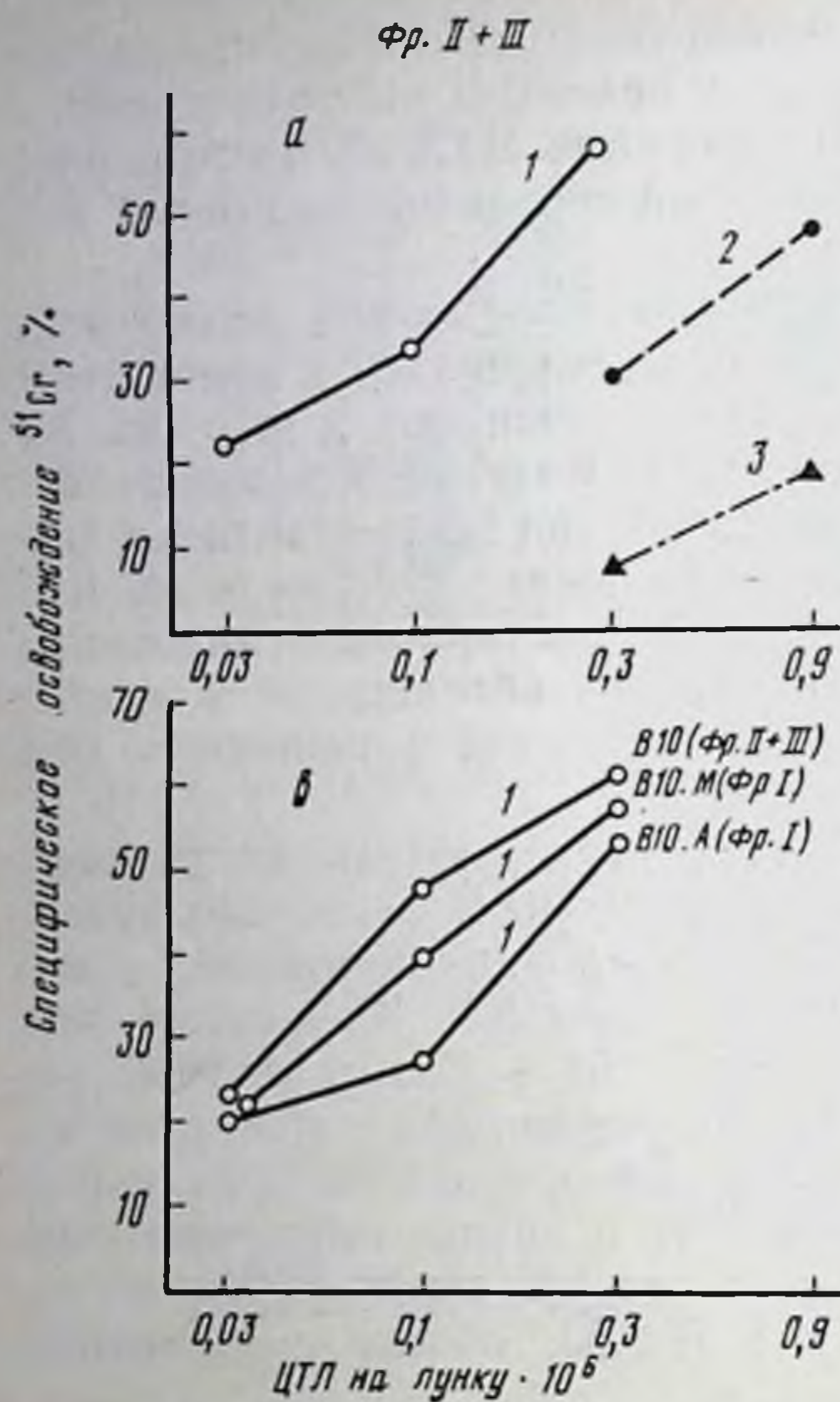


Рис. 34. Перекрестный лизис ЦТЛd анти-b, элюированных с монослоев макрофагов

ЦТЛ d анти-b элюированы с монослоев МФ В10.М (а), В10.А (б), В10.М и В10.А (в). Клетки-мишени: В10 (1), В10.М (2), В10.А (3). На рис. в показаны наиболее активные фракции элюированных лимфоцитов при лизисе КМ В10: фр. II+III, элюированные с монослоя В10., и фр. I, элюированные с монослоев МФ В10.М и В10.А (различия методов получения фракций I, II и III см. рис. 23)

высокой концентрацией проназы (фракции II+III, см рис. 23), должны проявить меньшую или, во всяком случае, не большую активность к иммунизирующему антигену, чем фракция I тех же ЦТЛ, слабо прикрепившихся к тому же постороннему монослою и элюируемых низкой концентрацией проназы.

В обычных условиях, т. е. при тестировании ЦТЛ на КМ того же гаплотипа, который служил для их адсорбции, активность элюированных фракций II+III существенно выше, чем фракции I (см. рис. 23). Если же ЦТЛ, элюированные с постороннего монослоя, тестировали на КМ иммунизирующей линии мышей, результат оказывался обратным: выравнивание или инверсия активностей фракций I и II+III [14]. (В связи с этим на рис. 34, в приводятся сходные результаты лизиса КМ донора (Н-2^b) фракциями ЦТЛ II+III и I, элюированными соответственно с монослоев клеток донора и двух посторонних линий.)

Представление о том, что разнообразие рецепторов ЦТЛ, однородных по своей специфичности к уникальной конфигурации данной молекулы Н-2, связано с вариабельностью комплементарности этих рецепторов, ранее существовало на основании косвенных данных. В частности, фракции ЦТЛ анти-К^b, элюированных с монослоев клеток донора (Н-2^b) и мутанта (Н-2^bin1), не различались по способности лизировать значительно эффек-

тивнее КМ донора С57BL/6 (Н-2^b), чем КМ мутанта Н-2^{bmi} [272]. Представление о том, что рецепторы перекрестно реагирующих фракций ЦТЛ имеют более низкий аффинитет к иммунизирующей молекуле Н-2, чем остальные ЦТЛ той же специфичности, возникло в результате количественного определения перекрестного связывания меченного ¹²⁵I постороннего антигена МНС рецепторами ЦТЛ, индуцированных в МЛС [1443], и определения способности малой доли «ранних» клонов ЦТЛ, индуцированных вирусом гриппа, лизировать неинфицированные вирусом клетки [1057]. Подтверждением изложенной гипотезы может послужить фракционирование с помощью адсорбции—элюции не обычных, а моноклональных ЦТЛ, т.е. идентичных по узкой специфичности рецепторов.

Существование иммунодоминантного ЦТЛ-эпитопа отнюдь не исключает возможность присутствия в той же молекуле дополнительной (резервной) детерминанты, с которой реагирует минорная часть клонов ЦТЛ мыши [2220] и человека [2178].

В любом случае очевидно, что в отличие от антител и рецепторов В-клеток рецепторы ЦТЛ не различают множество общих специфичностей в молекуле МНС класса I, но обладают значительно более выраженной дискриминативной способностью по отношению к малейшим изменениям уникальной конфигурации той же молекулы. Поскольку эта конфигурация даже при ее изменениях у мутантов, как правило, сцеплена с неизменной частной СО-детерминантой, можно предположить, что последняя также представляет собой уникальную мозаику — комплексную детерминанту, образованную пространственной комбинацией общих СО-детерминант (рис. 35, а). Тем не менее частная СО-детерминанта может оказаться лишь компонентом еще более сложной конфигурации ЦТЛ-детерминанты (рис. 35, б), которая отличается своей лабильностью: как указано выше, она легко меняется при разнообразных мутациях, при фиксации клеток глютаральдегидом или солюбилизации антигена Н-2, несмотря на сохранение частной СО-детерминанты. Использование комбинаций широкого набора синтетических пептидов молекулы Н-2, инкорпорированных в липидную структуру плазматической мембраны, возможно, оказалось бы ключевым приемом для окончательного выяснения тонких особенностей ЦТЛ-детерминанты.

V.4.4. Неидентичность ЦТЛ, пЦТЛ-2⁰ и СТС в отношении тонкой специфичности их рецепторов

Описанные особенности присущи только рецепторам активированных ЦТЛ. Предшественники вторичных ЦТЛ (пЦТЛ-2⁰, клетки памяти), индуцированные вирусом [1423] или гаптенем [1794] в контексте сингенной молекулы Н-2, отличаются от своих потомков — ЦТЛ той же специфичности — отсутствием ПР на посторонние комплексы того же номинального антигена с

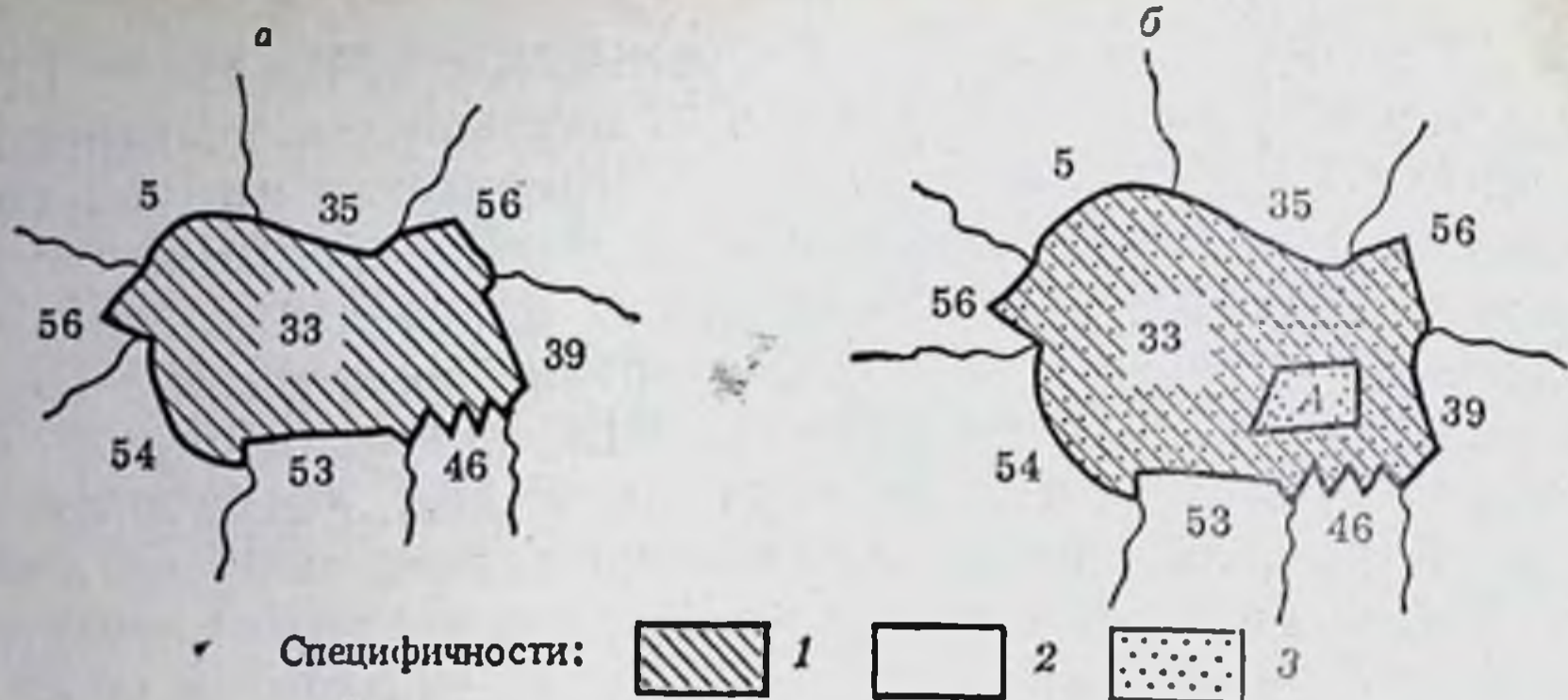


Рис. 35. Гипотетические соотношения между серологически определяемыми специфичностями (частными и общими) и ЦТЛ-детерминантой молекулы Н-2К^b. Частная специфичность (1) — структурный комплекс общих специфичностей Н-2 (2) — идентична ЦТЛ-детерминанте (3) (а) или входит в ее структуру как составная часть (б). А — серологически «молчащий» участок ЦТЛ-детерминанты

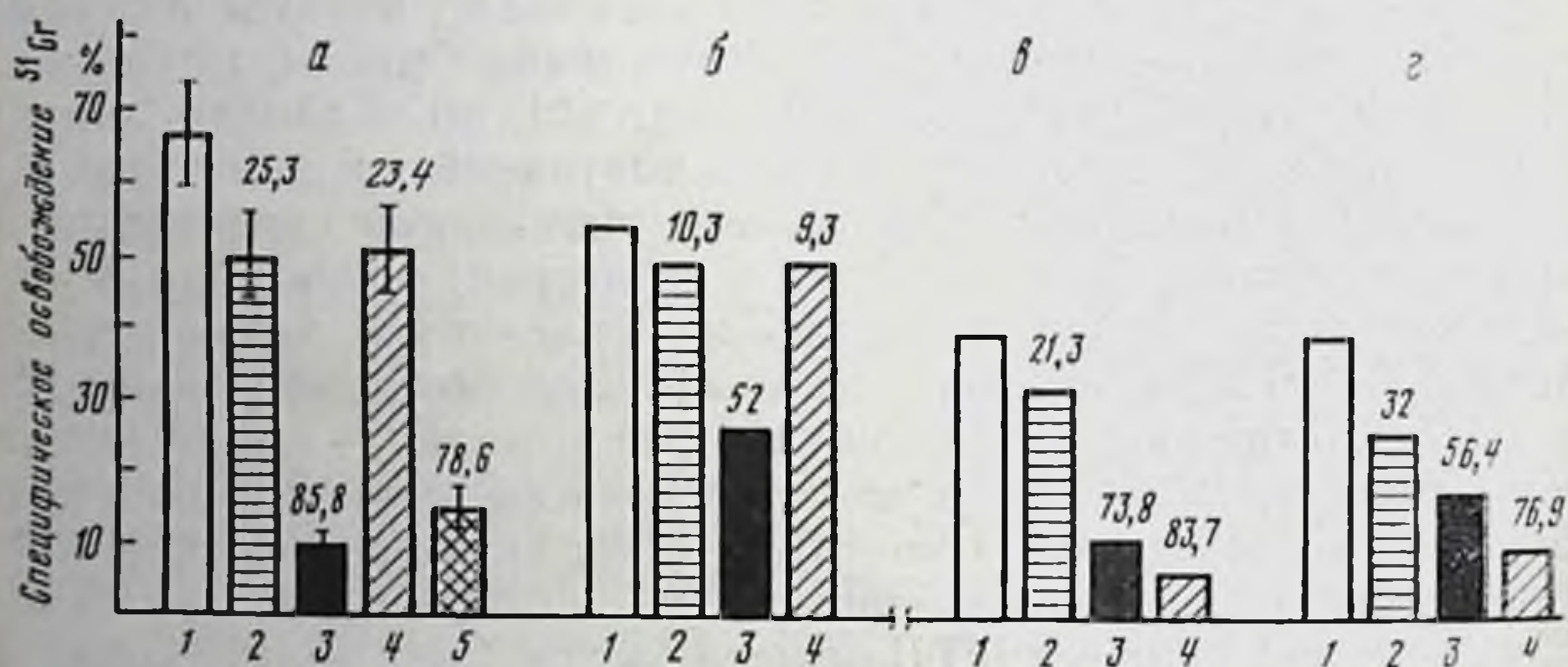


Рис. 36. Адсорбция клеток памяти (пЦТЛ-2°) анти-К^b на монослоях макрофагов дикого типа (B6) и bm-мутантов

Клетки памяти B10.D2(R101) анти-B6 индуцированы *in vivo* внутрибрюшинной инъекцией $2 \cdot 10^7$ клеток лейкемии EL-4 и через 2 месяца активированы в MLC прогретыми клетками селезенки: B6 (а, в) или bm1 (б, г). 1 — интактные клетки иммунной селезенки, 2 — неприкрепившиеся к монослою МФ реципиента B10.D2(R101), 3 — донора B6, 4 — мутанта bm1, 5 — bm3. ЦТЛ-2° получены из 4-дневной вторичной MLC и тестированы на меченых ^{51}Cr КМ B6 (а, б) или bm1 (в, г) в дозах $3 \cdot 10^5$ на лунку. а — $M \pm m$ из 5 опытов, остальное — из 2. Цифры над столбиками — индекс адсорбции (в %)

иной молекулой Н-2. Даже попытка активировать пЦТЛ-2°, специфичные к вирусу экстремелии в контексте сингенной молекулы Н-2К^b, тем же вирусом, если он экспрессирован на стимуляторах мутанта Н-2К^{bm1}, оказалась безуспешной [218]. Такие результаты косвенно указывают на снижение дискриминативной способности рецепторов клеток памяти по сравнению с эффекторными ЦТЛ. Прямой тест на рецепторы индуцированных аллоантигеном пЦТЛ-2° — адсорбция их на монослоях МФ различного происхождения — позволил установить существенные

различия между рецепторами пЦТЛ-2° и ЦТЛ [15]. Выше было указано, что различная доля ЦТЛ анти- K^b — 80 и 30% — связывается с монослоями клеток мутантов соответственно b_{m3} и b_{m1} . Напротив, пЦТЛ-2° той же специфичности не различают эти тонкости: они взаимодействуют с молекулой $H-2K^{bm3}$ так же эффективно, как с иммунизирующей молекулой $H-2K^b$ (рис. 36, а, см. 3 и 5), а с молекулой $H-2K^{bm1}$ не взаимодействуют вовсе (рис. 36, а, б, см. 2 и 4). Можно полагать, что рецепторы большей части пЦТЛ-2° отличаются от рецепторов ЦТЛ более строгой специфичностью в связи с увеличением их комплементарности к иммунизирующему антигену и уменьшением лабильности структуры рецептора.

Снижение ПР, т. е. способности пЦТЛ-2° дискриминировать тонкие вариации структуры молекулы мутантов по отношению к молекуле дикого типа, выявляется при тестировании их потомков ЦТЛ на КМ того же дикого типа С57BL/6 (рис. 36, а, б). Напротив, если вторичные ЦТЛ лизируют КМ b_{m1} , их предшественники адсорбируются на монослое МФ b_{m1} не менее (или даже более) эффективно, чем на монослое МФ С57BL/6 (рис. 36, в, г). Это означает, что в то время как рецепторы значительной доли ЦТЛ, специфичных к антигену $H-2K^b$, перекрестно реагируют с мутантным вариантом K^{bm1} антигена $H-2K^b$, рецепторы лишь малой доли их предшественников обладают такой способностью. Рецепторы большей части пЦТЛ-2° узнают только иммунизирующий или очень подобный ему мутантный антиген (b_{m3}), т. е. отличаются от рецепторов ЦТЛ низкой дискриминативной способностью. Возникновение различий в специфичности рецепторов при превращении первичных ЦТЛ в пЦТЛ-2° [1241] и пЦТЛ-2° во вторичные ЦТЛ может отражать изменения либо самой структуры рецепторов (степени их аффинитета и гибкости), либо соотношения между популяциями клеток, различающимися по тому же параметру. Выбор между этими двумя возможностями пока затруднен.

Еще более разительным выглядит несовпадение тонкой специфичности рецепторов ЦТЛ и СТС, иммунных к тому же комплексу $H-2$. В отличие от фракций ЦТЛ d анти-b, изолированных элюцией с посторонних монослоев, в подобных фракциях СТС d анти-b выявляется узкая специфичность рецепторов. ПР таких СТС, обогащенных элюцией с монослоя МФ донора (В10), с клетками двух посторонних линий В10.М ($H-2^d$) и В10.А ($H-2^a$) (рис. 37, а), четко различается после элюции тех же СТС с монослоев каждой из этих двух посторонних линий (рис. 37, б, в). Фракции элюированных СТС взаимодействуют с КМ того же постороннего гаплотипа, с которого они были элюированы, с такой же интенсивностью, как и с КМ донора В10; вовсе не взаимодействуют с КМ второго постороннего гаплотипа; составляют очень малую долю по сравнению с СТС, элюированными с монослоя донора В10 (рис. 37, г). Частота каждой из ПР фракций СТС, определенная с помощью их разведений, добав-

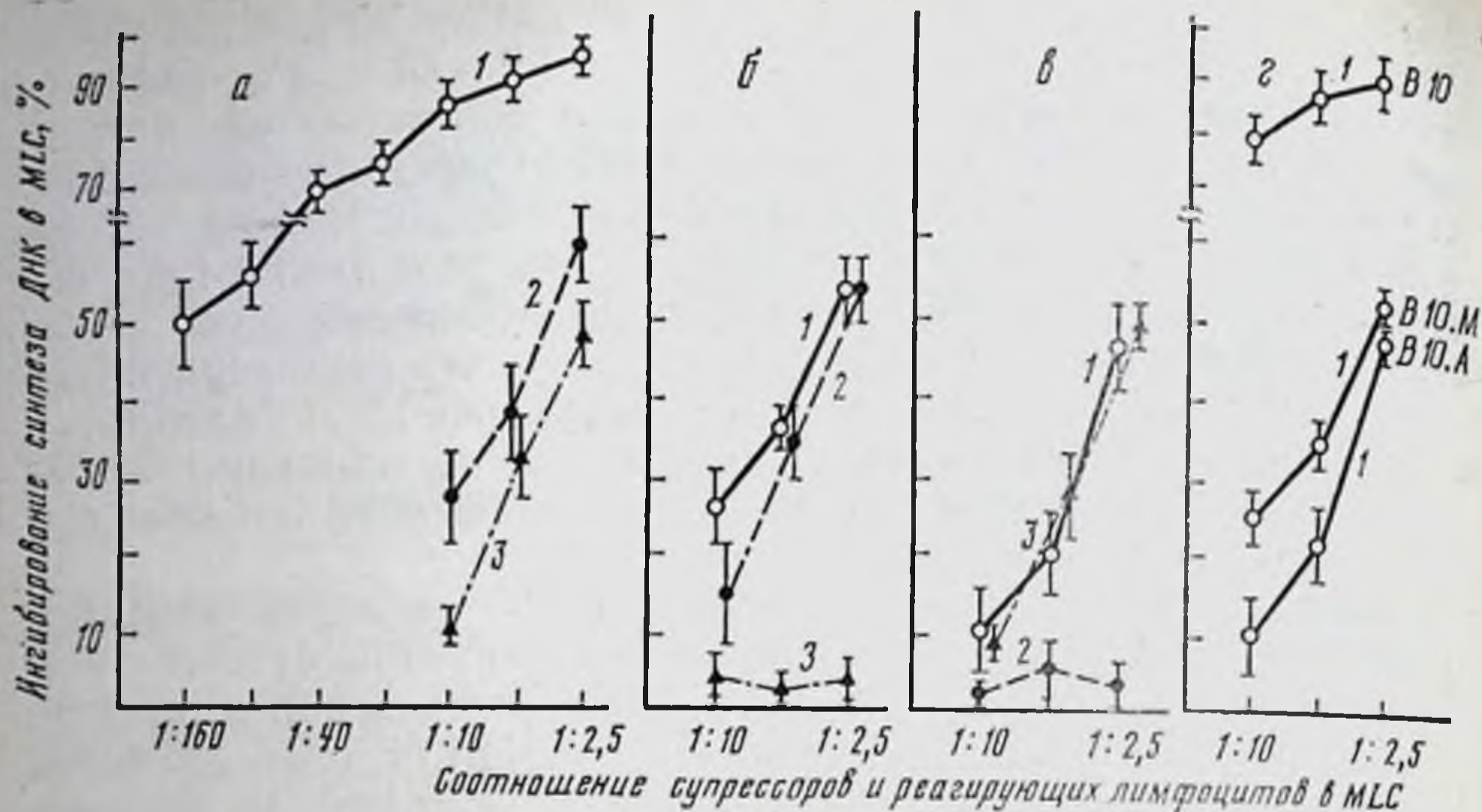


Рис. 37. Прямая и перекрестная супрессия СТС d анти-b, элюированных с монослоев макрофагов различного происхождения

СТС В10.D2 анти-В10, элюированные с монослоев МФ В10 (а), В10.М (б), В10.А (в), В10, В10.М, В10.А (г), обрабатывали МС и смешивали с сингенными (В10.D2) реагирующими клетками лимфоузлов и стимуляторами: В10 (1), В10.М (2), В10.А (3)

ленных в тест-МЛС, составляет около 1/60, т. е. 1,5% общей популяции СТС d анти-b [12].

Из приведенных данных следует, что в отличие от ЦТЛ СТС, иммунные к данному антигену Н-2, представляют собой, так же как В-лимфоциты, набор клонов, рецепторы каждого из которых узко специализированы к отдельной детерминанте молекулы. Хотя вопрос об идентичности СТС- и СО-детерминант не изучен, такая возможность возникает в связи с тем, что в отличие от ЦТЛ и подобно антителам, СТС не дискриминируют антигены дикого типа Н-2К^b и мутанта Н-2К^{bm1} [273], но различают антигены Н-2К^b и мутанта Н-2К^{bm3} [16]. Поскольку антиген К^{bm3} отличается от антигена К^{bm1} несовпадением с антигеном дикого типа по СО-детерминантам [222], следует полагать, что именно эти детерминанты узнаются рецепторами СТС, но не ЦТЛ: последние четко различают молекулы дикого типа и множества мутантов, несмотря на их СО идентичность.

Рецепторы СТС, специфичных к минорному Н-антигену [633] или к сингенной опухоли [728, 622], также распознают по сравнению с рецепторами ЦТЛ более узкую детерминанту и характеризуются меньшей ПР. Более высокая эффективность фракционирования и количественного обогащения СТС по сравнению с ЦТЛ при адсорбции—элюции на монослоях МФ, так же как способность СТС в отличие от ЦТЛ специфически прикрепляться к фиксированному монослою (гл. V.2.1), указывают на более простую структуру рецепторов СТС и большую их доступность для контакта с антигеном. Следует полагать, что ЦТЛ и СТС

кардинально различаются по клональной структуре, а их рецепторы распознают разные детерминанты одной и той же молекулы Н-2 и, вероятно, не идентичны по своей природе. Очевидно, что проверка этой концепции возможна при прямом исследовании рецепторов клонированных СТС, различающихся узкой специфичностью к отдельным детерминантам молекулы Н-2.

V.4.5. Природа ассоциации антигена с молекулой МНС класса I

Способность рецепторов ЦТЛ распознавать чужеродный антиген только в контексте продукта МНС класса I ставит следующий вопрос: какова молекулярная природа этого контекста, т. е. ассоциации номинального антигена с молекулой МНС, приводящая к возникновению ЦТЛ-детерминанты в сингенной системе.

Внедрение вирусного белка и сингенной молекулы Н-2 в липидный бислой одной и той же мембраны клетки абсолютно необходимо как для ее чувствительности к лизису ЦТЛ, специфичных к тому же вирусу [218, 764], так и для способности липосом вызывать дифференцировку противовирусных пЦТЛ-2° в эффекторные ЦТЛ, специфичные к вирусам Сендай, герпеса, везикулярного стоматита (гл. III.1). Произвольные варианты комбинации различных вирусных белков и молекул Н-2, внедренных в мембрану, продемонстрировали строгую специфичность эффекта такой комбинации. Во всех случаях механического связывания вируса с наружной поверхностью мембраны КМ оказывается недостаточным для их чувствительности к ЦТЛ, несмотря на способность вирусного антигена на поверхности клетки контактировать с противовирусными антителами: только интегральный белок мембраны ассоциируется с молекулой Н-2, что приводит к возникновению ЦТЛ-детерминанты. Для слияния вирусного белка с мембраной необходим либо его синтез, что достигается при использовании инфекционного неинактивированного вируса, либо присутствие в инактивированном вирусе Сендай полноценного «fusion»-белка, обеспечивающего слияние мембран вируса и клетки даже при 4° С [1797, 369].

Напротив, вирусы, инактивированные ультрафиолетом [1825] или β-пропиолактоном [2235], по-видимому, могут быть процессированы в А-клетках и представлены в комплексе с сингенным продуктом МНС. Это приводит к индукции Т-хелперов (и антителообразования), так же как к дифференцировке пЦТЛ *in vivo* и в культуре. Исключением может оказаться вирус гриппа, который в этом случае индуцирует Т-хелперы и клетки памяти, но не первичные ЦТЛ [246].

ЦТЛ-детерминанта возникает также при слиянии мембран в гетерокартоне, сформированном из двух нечувствительных к противовирусным ЦТЛ клеток: инфицированной аденовирусом и неинфицированной сингенной [2192]. Предварительное удаление ферментом молекул Н-2 с поверхности инфицированных вирусом клеток [534] или экранировка этих молекул анти-Н-2 антителами отменяет чувствительность КМ к лизису противовирусными ЦТЛ. Несмотря на то что экспрессия

вируса на поверхности КМ при этом сохраняется, некоторые его белки (например, ГА вируса гриппа) становятся недоступными не только для ЦТЛ, но и для МкАТ к ГА, поскольку они стерически экранированы антителами к молекуле Н-2, расположенной на мембране рядом с ГА [758]. Обработка КМ комбинацией антител к ГА и Н-2 приводит к аддитивной инактивации способности ЦТЛ лизировать инфицированные вирусом гриппа КМ [103]. Подобный синергизм инактивации ЦТЛ, специфичных к гаптену, получен при обработке КМ антителами к тому же гаптену и молекуле Н-2 и отсутствует при обработке каждым из этих антител в отдельности [602, 1886].

Хотя приведенные результаты четко указывают на необходимость близкого разморасположения в мембране КМ внедренного в нее антигена и ее собственной молекулы Н-2 для возникновения ЦТЛ-детерминанты на ее поверхности, они не проясняют механизмы ассоциации этих молекул. Прочность такой ассоциации может значительно варьировать в структуре мембраны в зависимости от особенностей антигена и аллеля молекулы МНС. В частности, ассоциация очень слаба при использовании вирусов оспы, везикулярного стоматита и гриппа, судя по низкой степени или даже отсутствию их совместного кэппинга с молекулой Н-2 под действием антител к одному из этих компонентов мембраны живой клетки [647, 758] или липосомы [329], а также по легкой их диссоциации при переносе вирусной инфекции в мембрану иных (аллогенных) клеток [785]. Напротив, эффективный совместный кэппинг обнаруживается при внедрении в мембрану вируса осповакцины [1823] или онкорнавируса [1796]. В последнем случае прочность связи вирусного гликопротеида с молекулой МНС класса I мыши, крысы или человека позволяет преципитировать из клеточного лизата комплекс этих двух молекул с помощью антител к одной из них [286] и даже вызывать их искусственное связывание на сефарозе [1868].

Эти исследования позволили установить: а) прочную связь вируса Френд только с молекулами D^b и K^k из шести аллельных вариантов молекул Н-2K/D, что коррелирует с резистентностью к лейкемии Френд мышей гаплотипов Н-2^b и Н-2^k; б) возрастание до 80% доли раннего гликопротеида аденовируса, сцепленного с HLA молекулой, в клетках, трансформированных тем же вирусом; в) связывание вирусного гликопротеида с примембраным или цитоплазматическим доменом молекулы МНС класса I, поскольку отщепленный папаином внемембранный участок той же молекулы лишен этой способности.

Прочная связь молекулы Н-2 с опухолево-ассоциированным антигеном позволила выделить этот комплекс из мембраны меченных ¹²⁵I опухолевых клеток с помощью их мягкого лизиса низкой концентрацией неионного детергента и последующей радиоиммунопреципитации анти-Н-2 антителами [311, 874]. Хотя молекулярная структура очищенных опухолево-ассоциированных антигенов только начинает изучаться [1653, 1712], их проч-

ная связь с молекулой H-2 на поверхности опухолевых клеток, как оказалось, является решающей для возникновения противоопухолевого иммунитета. Исчезновение антигена H-2 из клеток при их трансформации ВЛМ [125], SV40 [1711], аденовирусом 12 или фрагментом его ДНК, включающим гены E1A и E1B [191], а также при отмене туникамидном гликозилирования в трансформированных клетках [2008] приводит к исчезновению противоопухолевого иммунитета и прогрессивному росту опухоли. Решающая роль антигена H-2 в этом случае прямо установлена с помощью трансфекции гена H-2K^k в клетки лейкемии мышей АКР, дефицитных по продукту этого гена [893], или обработки ИФ-γ клеток, трансформированных аденовирусом 12 [495]. В обоих случаях стимуляция экспрессии H-цепи продукта МНС класса I на поверхности клеток опухоли привела к восстановлению чувствительности этих клеток к ЦТЛ и подавлению их роста *in vivo*.

Резкое снижение или отсутствие синтеза H-цепи молекул H-2 в клетках опухолей мыши [495], так же как молекул HLA в мелкоклеточном раке человека [484], связано с угнетением транскрипции генов МНС класса I. Предполагается, что продукты генных регионов аденовируса 12 или амплифицированных онкогенов опухоли человека инактивируют репрессорный белок, что, в свою очередь, сопровождается активацией репрессорного гена, блокирующего транскрипцию регионов МНС.

Решающая роль экспрессии антигена H-2 в чувствительности опухоли к лизису ЦТЛ следует также из того, что обработка трансформированных вирусами клеток антителами к их молекуле H-2 отменяет чувствительность клеток к ЦТЛ, специфичным не только к молекуле H-2, но и к сцепленному с ней антигену опухоли [893, 1791]. Кроме того, высокая иммуногенность и регрессия индуцированной ультрафиолетом фибросаркомы мыши связана с тем, что такой канцероген индуцирует в опухоли новые молекулы МНС класса I, которые представляют собой мозаику доменов разных молекул H-2 (например, H-2K^k и H-2D^k) тех же клеток данного гаплотипа [1330]. Таким образом, специфический опухолевый антиген представляет собой в этом случае модифицированную молекулу МНС класса I.

Химическая структура ассоциата молекулы МНС класса I с гаптенем особенно сильно варьирует в зависимости от источника гаптена, его дозы, структуры, конъюгации с белком и даже аллельного варианта молекулы H-2K/D. Особенно эффективны ЦТЛ, индуцированные ТНФ, который ковалентно связан с этой молекулой, судя по их совместному осаждению из клеточного лизата антителами к ТНФ [602]. Другие гаптены, сцепленные ковалентно с аминок группой молекулы H-2 (ФИТЦ) [92] или нековалентно с сульфгидрильной группой молекулы H-2 (АЕД) [1192], также могут оказаться эффективными в индукции ЦТЛ и взаимодействии с ними в зависимости от того, с какой именно молекулой H-2 они сцеплены. Напротив, активность ЦТЛ,

специфичных к комплексу ТНФ с молекулой Н-2, существенно снижается, если их ковалентную связь превратить в нековалентную — за счет 100-кратного снижения дозы гаптена, его модификации другим гаптенем (аланилглицилглицином) [1657] или вирусом [766], а также внедрения в мембрану КМ конъюгата гаптена с белком [1793, 129]. Возникающая при этом на поверхности КМ ЦТЛ-детерминанта представляет собой лишь минорный вариант ЦТЛ-детерминанты, сконструированной чистым гаптенем, судя по условиям холодного ингибирования ЦТЛ, реагирующих на эти два варианта комплексов [369]. Подобное разнообразие ЦТЛ-детерминант и их частичная ПР возникают при модификации одной и той же сингенной молекулы Н-2 набором вариантов данного гаптена — оксазолонна [965] или флуоресценна [1190], несмотря на то что все эти варианты одинаково реагируют с антителами к данному гаптену.

Таким образом, структура ассоциата вирусных белков или гаптенев с сингенной молекулой Н-2, необходимого для индукции противовирусных, противоопухолевых и противогаптенных ЦТЛ, зависит от конкретных условий и может приводить к возникновению неоднородных ЦТЛ-детерминант.

V.4.6. Тройная специфичность рецепторов Т-лимфоцитов

В любом случае факт обязательного включения продукта МНС в структуру, распознаваемую рецептором ЦТЛ и клеток хелперной группы, ставит очередной вопрос: распознается ли комплекс номинального антигена с молекулой МНС единым Т-рецептором (гипотеза «измененного своего») или двумя Т-рецепторами, функционирующими совместно и одновременно (гипотеза «двойного сцепленного распознавания»). Эта проблема принципиально важна, поскольку она имеет отношение к молекулярной структуре Т-рецептора и комплексу соответствующих генов (гл. V.5).

Один из подходов для ее разрешения связан с выявлением Т-лимфоцитов тройной специфичности: они распознают не только комплекс иммунизирующего антигена с сингенной молекулой МНС, но и один из «посторонних» аллоантигенов того же класса МНС. Способность ЦТЛ, специфичных к вирусу, гаптену или минорному Н-антигену в комплексе с сингенной молекулой Н-2К/Д, избирательно реагировать на одну из аллогенных молекул Н-2К/Д (гл. V.4.2) полностью воспроизводится при реакции на аллогенную молекулу МНС класса II Т-клеток — пролиферирующих, секретизирующих ИЛ-2 или способствующих дифференцировке В-клеток.

Выращивать клоны Т-клеток одной и той же тройной специфичности оказалось возможным при использовании в качестве стимулятора постороннего аллоантигена вместо иммунизирующего комплекса (табл. 44). Этот факт означает, что рецепторы, распознающие все эти антигены, действительно экспрессированы на одной клетке. Хотя вопрос о том, распознается ли весь набор

Таблица 44

Тройное распознавание клонами Т-лимфоцитов, специфичных к антигенам в комплексе с сингенной молекулой МНС класса I или II

Функциональная активность (рестрикция по классу МНС)	Реакция				Литера- турный источник
	Прямая *		Перекрестная **		
	Антиген	Молекула МНС сингенная	Антиген	Молекула МНС аллоген- ная	
ЦТЛ (класс I)	Н-У (секс)	H-2D ^b	Минор Н ²	H-2D ^{d*}	2149
	ВЛМ	H-2D ^b		H-2 ^d	1004
	Вирус гриппа	H-2K ^d		H-2K ^{k*}	1189
	Минор Н ¹	H-2D ^d		H-2K ^{k*}	896
	MIs ^{a,d*}			H-2 ^{k/p}	2198
	Кональбумин	I-A ^d		I-A ^b	1004
	Овальбумин- ДНФ	I-A ^k		I-A ^{s*}	1934
Пролиферация (класс II)	GAT	I-A ^d	Минор Н ¹	MIs ^{a,d*}	943
	Гемоцианин	I-A ^b		H-2 ^{k/q}	2189
	Инсулин быка	I-A ^b		I-E ^u	35
	Базальный бе- лок миелина	I-E ^{s/d}		I-A ^d	172
	Вирус гриппа	I-A ^k		Минор Н ²	I-A ^d
Секреция ИЛ-2	Гемоцианин	I-A ^d		I-A ^b	1470
Хелпер Т-В (класс II)	Овальбумин	I-A ^k		I-A ^s	1238

- * Реакция на комплекс иммунизирующего антигена с сингенной молекулой МНС.
- ** Реакция на «постороннюю» (аллогенную) молекулу МНС или ее комплекс с «посторонним» антигеном.
- *** Продукт минорного локуса, стимулирующего пролиферацию (a, d-аллели).
- **** Тот же клон был выращен с помощью указанных аллогенных стимуляторов.

антигенов одним или разными рецепторами той же клетки, не выяснен, в пользу существования единого рецептора «тройной» специфичности указывают следующие факты, частично отраженные в табл. 44.

1. «Посторонним» антигеном, распознаваемым большинством указанных Т-клонов, служит продукт того же гена (H-2K, H-2D, I-A), который рестриктирует реакцию на иммунизирующий антиген, но отличается от него аллогенным аллелем. Этот факт, установленный при реакции клонов как ЦТЛ [2149, 1189], так и пролиферирующих [1934] или хелперных лимфоцитов [1470, 1238], может означать, что оба продукта — сингенный и аллогенный — распознаются рецепторами той же специфичности, но варьирующими по аффинитету. 2. При выяснении тонкой специ-

фичности ПР оказалось, что распознается не сама по себе аллогенная молекула МНС, а ее комплекс с иным посторонним антигеном [896, 172]. В связи с этим предположили, что два комплекса — иммунизирующий ($x + \text{МНС}^1$) и посторонний ($y + \text{МНС}^2$), различающиеся и по антигену (x или y), и по рестриктивному продукту МНС, могут имитировать друг друга и быть распознанными рецепторами той же специфичности.^a

3. Клонотипические МкАТ (а также их Fab-фрагмент), которые избирательно связываются с данным клоном, ингибируют его реакцию не только на иммунизирующий комплекс, но и на аллогенную молекулу [35, 2189, 2208], т. е. могут выявлять один и тот же рецептор.

Приведенные данные свидетельствуют в пользу гипотезы о существовании единого Т-рецептора, распознающего мимикрию комплексов разных антигенов с молекулами МНС неидентичных аллелей (сингенного и аллогенного). Дальнейшее ее подтверждение будет означать, что многие заболевания, вызванные химической модификацией собственной молекулы МНС (дерматиты) или ее ассоциацией с чужеродным белком (аллергия), так же как вирусная инфекция, аутоиммунный процесс, возникновение опухолей, выступают как природный аналог трансплантации тканей. Из этого следует, что при всех указанных состояниях собственная ткань приобретает антигенную характеристику той или иной аллогенной ткани, имитируя, таким образом, какой-либо новый для данного организма антигенный комплекс. Такая природная имитация «медицинской» трансплантации действительно воспроизводится при вирусном инфицировании клеток мыши [632] и человека [1568], аутоиммунном энцефаломиелите [172], росте некоторых опухолей [1556, 1786, 725]; во всех этих случаях в модифицированной или опухолевой ткани выявляется определенный аллоантиген, отсутствующий в нормальных клетках той же особи. Последующее отторжение собственной ткани иммунной системой может играть решающую роль либо в развитии патологии, либо в иммунотерапии.

V.5. Молекулярная структура предполагаемых Т-рецепторов

V.5.1. Выделение и характеристика молекул и их субъединиц с помощью МкАТ к клонотипспецифическим Т-рецепторам

Продуктивное исследование молекулярной природы потенциальных Т-рецепторов и контролирующих их генов стало возможным в 1983—1984 гг. благодаря развитию комплекса методических подходов: выращиванию узкоспецифичных клонов каждого из

^a Одни и те же Т-клоны гибрида F_1 (B10 \times B10.D2) пролиферируют на инсулины свиньи и быка, представленные соответственно на сингенных КПА и КПА мыши B10 [1918b].

Таблица 45 МкАТ к предполагаемым Т-рецепторам и характеристика выявляемых ими молекул мыши и человека

Функция	Т-лимфоциты		Эффекты* клонотип-специ- фичных МкАТ без компле- мента ***	Количес- тво моле- кул на клетку, тыс.	М. м. $\alpha + \beta$, кДа	pI	Литера- турный источник
	Источник ***	Специфичность к антигену					
ЦТЛ	Мыши		1, 2 (384.5) 2 (IB2) 1, 2, 3a, b (F1) G3.1, F2A11.5		45+45 42+42		1131 1076 1938
	Клон C57BL/6 (L3) Клон BALB.B (2C) Клон BALB.B (G4)	D ^d H-2 ^d D ^d	1, 2, 3a (KJ1-26) 1, 2, 3a (KJ12-98)	15	43+43 43+40	5,0 (α) 7,0 (β)	799 1281 988
	Т-гибридома BALB/c (DO-11.10) Т-гибридома BALB/c (3DT-52.5) Клоны AKR Клоны B10.A (2B4, 2C2, 2H10)	OBA/I-A ^d D ^d OBA/I-A ^k Цитохром c	3a, 6 (3D3) 1, 2 1 (124.40)	25	40+40 45+40		1002 1757
Опухоль	Т-лимфома Ly1 BALB/c (C6XL)			65	41+39	5,5 (α) 7,5 (β)	59 1317
ЦТЛ	Человека		1, 2, 3a (Ti _{1A}) 1, 2, 3a (Ti _{1B})	42 30	49+43 49+43	4,7 (α) 6,2 (β) То же	1349 1346
	Клоны (CT8 _{III}) Клоны (CT4 _{II})	HLA-A EBV-сингенная линия В-клеток**					
Пролиферация Опухоль	Клоны из MLC Т-лейкемия (REX) (HPB-ALL) (HPB-MLT) (Jurcat)		1, 2, 3a (108.45) 1 (Ti ₃) 1 (H1-2D4) 1 (T40/25) 1 (C305)		46+40 53+44 51+39 46+40 54+42		754 38 243 258,988 2211

* 1 — связывание с Т-клетками (ИФ, радиоиммуноанализ); 2 — индукция; 3 — индукция; а) пролиферации или секрции ИЛ-2; б) секрции Ig В-клетка-ми; в) секрции интерферона. ** Линия, трансформированная вирусом Эпштейна—Барр. *** В скобках приводятся обозначения линий клеток или МкАТ.

Т-субклассов, выполняющих определенную функцию, рост которых поддерживается ИЛ-2 вместе с антигеном или спонтанно (в случае Т-гибридом); получению В-гибридом, синтезирующих МкАТ к Т-рецепторам; клонированию кДНК генов, кодирующих каждую из субъединиц Т-рецепторов и сцепленных с ними молекул. Несмотря, однако, на высокую ценность точных методов, успех в этих исследованиях связан прежде всего с преодолением консервативных представлений о том, что Т-рецептор — один из классов Ig (IgT), включает продукт V-гена IgH и кодируется вариантом транслокона гена Ig. Окончательное доказательство неидентичности генов Т-рецептора и Ig (гл. V.1.2) привело к разумной стратегии — отбору клонов кДНК, которые не гибридизуются с мРНК из В-клеток, в частности, с транскриптом генов Ig. Именно такое «вычитание» генов Ig сыграло решающую роль в прогрессе данной области — выделении генов потенциальных Т-рецепторов мыши [819] и человека [2281] и возможности изучать их продукты. Стремительное развитие исследований в течение двух лет привело к публикации множества обзоров, посвященных молекулярной структуре Т-рецепторов животных [801, 778, 60, 1275] и человека [1351], а также их генам [1284, 435, 1260], моделям конструкции Т-рецепторов [1666, 1482, 379] и возникновению их репертуара при дифференцировке Т-клеток в онтогенезе [1667].

В действительности для получения антител к Т-рецепторам не требовались ни клоны Т-клеток, ни В-гибридомы: антисыворотки, которые специфически связывались только с ЦТЛ данной специфичности и избирательно инактивировали их функцию, были индуцированы у мышей сингенными ЦТЛ, специфичными к гаптену [1074] или вирусу [1013]. Подобные поликлональные антитела, индуцированные Т-клетками хелперной группы, специфичными к определенному антигену, избирательно инактивировали способность этих клеток секретировать ИЛ-2 при их взаимодействии с тем же антигеном или, напротив, активировали в отсутствие антигена секрецию ИЛ-2 и пролиферацию данных Т-клеток. Такие антисыворотки были индуцированы у мышей Т-клонами, строго специфичными к аллогенной [919] или сингенной Ia-молекуле, ассоциированной с овальбумином [2225] или цитохромом с [1758].

Более прямые доказательства связывания антител с Т-рецептором с последующим выделением, очисткой и характеристикой идентифицированной молекулы были получены с помощью МкАТ, специфичных к клонам ЦТЛ и Т-хелперов/амплифайеров мыши и человека (данные суммированы в табл. 45). Связь этих молекул с Т-рецептором основана на следующих фактах.

1. Как правило, МкАТ «клонотипичны», т. е. связываются (в тестах ИФ или радиоиммуноанализа) только с единичным (иммунизирующим) клоном, даже если остальные клоны специфичны к тому же антигену. Столь же индивидуальна способность МкАТ инактивировать в отсутствие комплемента функцию дан-

ного Т-клона — цитотоксичность, пролиферацию, секрецию ИЛ-2 — при его реакции на антиген.

В некоторых случаях столь узкая «клонотипичность» отсутствует: более 10% клонов Т-клеток, пролиферирующих при реакции на аллоантиген HLA-A, связывается с одними и теми же МкАТ, которые не реагируют с клонами иной специфичности [754]. Хотя индивидуальность клонотипической детерминанты обычно трактуется как указание на широкий репертуар идиотипов Т-рецепторов данной специфичности, не исключена иная возможность: клонотипическая детерминанта возникает на рецепторах Т-клеток, длительно культивированных *in vitro*, но отсутствует на рецепторах природных Т-клонов той же специфичности, индуцированных *in vivo* или в краткосрочной MLC [37]. Уникальные маркеры возникают на клонированных ЦТЛ в результате дополнительного гликозилирования гликопротеида Т-200 и отсутствуют не только на клонах Т-хелперов, но и на обычных ЦТЛ, не культивированных с ИЛ-2; МкАТ к таким детерминантам ЦТЛ-клонов инактивируют цитолиз без компонента [1163]. Высокая иммуногенность подобного рода детерминант, связанных с митотической активностью Т-клеток мыши [1767] и человека [2116, 431], активированных и культивированных *in vitro*, может конкурировать с иммуногенностью иных детерминант той же молекулы рецептора.

2. Имеется корреляция специфичности МкАТ со специфичностью Т-клона. В частности, МкАТ, узкоспецифичные к определенному клону Т-гибридомы, перестают связываться только с теми субклонами, которые потеряли способность реагировать на антиген — овалбумин в комплексе с I-A^d, по-видимому, в результате исчезновения или изменения структуры рецептора [799]. Указанная корреляция следует также из того, что МкАТ к клону Т-гибридомы (DO-11.10), реагирующей на комплекс овалбумин/I-A^d, связываются еще с одной (7DO-286.2) из 400 гибридом, которая распознает тот же пептид овалбумина в комплексе с той же I-A^d молекулой [1281].

3. Контакт МкАТ с соответствующим Т-клоном заменяет антиген: МкАТ индуцируют на плазматической мембране рецепторы к ИЛ-2 и секрецию ИЛ-2 теми же клетками, что сопровождается их пролиферацией (см. табл. 45), а также активируют секрецию ИФ-γ некоторыми клонами ЦТЛ [1938] или функцию клонов Т-хелперов — обеспечение синтеза Ig В-клетками [1002]. Для возникновения рецептора к ИЛ-2 в отсутствие антигена требуется присутствие ИЛ-1 [1003], а для секреции ИЛ-2 и последующей пролиферации клона МкАТ к Т-рецептору должны быть добавлены не в растворе, а в фиксированном (на сефарозе) виде в присутствии А-клеток [1352]. Все эти стимулирующие эффекты МкАТ в отсутствие антигена столь же «клонотипичны», как и их ингибирующие эффекты в присутствии антигена. Таким же образом может быть активирована литическая функция клона ЦТЛ: он приобретает способность лизировать КМ, если последние не содержат данный антиген, но покрыты МкАТ к рецептору клона ЦТЛ данной специфичности [1076, 884a].

Экспрессия антител к Т-рецептору на поверхности КМ достигается либо искусственным их прикреплением к поверхности [1076], либо использованием в качестве КМ клеток В-гибридомы, синтезирующей антитела к Т-рецептору

данного клона ЦТЛ [884a]. В обоих случаях лизис КМ не блокируется антителами ни к молекуле H-2 КМ, ни к антигену Ly1-2 мембраны ЦТЛ. По-видимому, высокая аффинность взаимодействия Т-рецептора ЦТЛ с антителами на поверхности КМ не зависит от экспрессии молекулы H-2 на КМ и приводит к более эффективному лизису КМ, чем при взаимодействии того же рецептора ЦТЛ с антигеном КМ.

4. Молекулы, выделенные с помощью узкоспецифичных МкАТ из разных клонов Т-клеток, не идентичны друг другу по большинству (16—18 из 20) триптических пептидов, если эти клоны специфичны к разным антигенам. Этот факт воспроизводится при сопоставлении пептидных карт молекул, выделенных из Т-клонов мышей одной и той же линии [1281] или одного и того же человека [39]. Напротив, те же молекулы, выделенные из двух независимых Т-гибридом одной и той же специфичности, идентичны по пептидным картам [988].

Совокупность приведенных данных — индивидуальность антигенных детерминант Т-клонов данной специфичности, корреляция экспрессии этих детерминант на клетках Т-клона с его узкой специфичностью, способность МкАТ к этим детерминантам воспроизводить активирующий эффект антигена на клетки специфичного к нему клона и несовпадение пептидных карт молекул Т-клонов разных специфичностей, извлеченных с помощью МкАТ, — косвенно указывает на принадлежность выявляемой в эксперименте МкАТ молекулы к антигенсвязывающему рецептору Т-клетки.

Дальнейшие исследования связаны с полной очисткой этой молекулы, характеристикой ее свойств, аллотипических детерминант, конформационных особенностей и локализации на мембране, анализом ее первичной структуры, выявлением кодирующих ее генов, их экзонов, условий их транскрипции и гомологии с генами Ig.

Оказалось, что во всех случаях молекула предполагаемого рецептора с молекулярной массой 80—90 кДа состоит из двух ковалентно сцепленных дисульфидными мостиками субъединиц α и β , которые могут быть разделены электрофорезом в редуцирующих условиях. Различия между α - и β -цепями заключаются в следующем: а) они не имеют общих пептидов; б) α -цепь более кислая (pI 4,4—4,7 в клонах нормальных Т-клеток и 5,0—5,5 в Т-гибридомах и Т-лимфомах), чем β -цепь (pI соответственно 6,0—6,2 и 7,0—7,5); в) хотя в Т-клетках и Т-лимфомах мыши α - и β -цепи близки по молекулярной массе (39—43 кДа), в Т-клетках человека молекулярная масса α -цепи существенно больше (49 кДа), в особенности в линиях Т-лейкемий (51—54 кДа); г) степень разнообразия, т. е. доля вариабельных (V-) пептидов, так же как гетерогенность заряда и размера, значительно выше в β -, чем в α -цепи, следствием чего является взаимодействие антиклонотипических МкАТ только с β -, но не с α -цепью и высокий консерватизм (антигенные перекресты) α -цепей Т-кло-

нов различных специфичностей и даже видов — мыши и человека [988, 243, 258]. Количественная экспрессия указанного гетеродимера выше на поверхности клеток Т-клонов человека (30—40 тыс.), чем мыши (15—25 тыс.).

Эти факты, обнаруженные при исследовании узкоспецифичных клонов Т-клеток, были более детально изучены на молекулах «рецептора», выделенного из линий Т-лейкемий неизвестной специфичности (см. табл. 45). Удалось установить еще одно различие между α - и β -цепями: степень гликозилирования (на N-конце каждой цепи имеются 3—5 участков для связывания олигосахаридов) более выражена в α -, чем в β -цепи, так что после обработки эндогликозидазой молекулярная масса α -цепи снижается на одну треть (до 27 кДа) [60]. Особенно существенно, что отмена (туникамицином) гликозилирования, происходящего сразу после синтеза полипептида, приводит к исчезновению и антигенности молекулы, и, по-видимому, сборки ее активного центра [1318].

Неидентичность константных (С-) пептидов в молекулах Т-гибридом мышей разных линий и выявление консервативных по своим антигенным свойствам участков α -цепи стимулировали поиск изо- и аллотипических детерминант в молекуле того же гетеродимера. Такие детерминанты, обнаруженные с помощью кроличьей антисыворотки [1317], МкАТ крысы [800] или мыши [1939], связывались с 20—25% нормальных Т-клеток и Т-гибридом мышей некоторых линий, независимо от фенотипа Т-клеток (Lyt-2^+ или L3T4^+) и их функции (ЦТЛ или хелперы). Общие аллотипические эпитопы различных по специфичности Т-рецепторов найдены на разных участках молекулы: один из них — в V-домене Т-рецептора мыши [1939], а другой — в С-домене Т-рецептора человека [1925a]. МкАТ (F23.1) к эпитопу первого типа активируют пролиферацию и дифференцировку преимущественно клеток Lyt-2^+ только в присутствии соответствующего фактора, тогда как МкАТ (WT-31) — к эпитопу второго типа, ассоциированному с молекулой ТЗ, служат сами по себе полноценным митогеном, подобным МкАТ к ТЗ (гл. V.5.4).

Различия клоно- и изо- или аллотипических детерминант той же молекулы (преципитированной антителами к любой из них) проявляются в независимости их связывания с соответствующими антителами без взаимной блокировки. Кроме того, в отличие от клонотипической изотипическая детерминанта выявляется на той же Т-клетке только при 37° С, а маркер, общий для α -цепи разных клонов, преципитируется антителами из лизата, но не выявляется в тесте ИФ на поверхности фиксированной клетки [258]. Это может означать, что продукт изотипического аллеля С-гена, пространственно удаленный от активного центра рецептора, расположен на примембранном домене молекулы и становится доступным для антител лишь после модуляции мембраны, требующей клеточного метаболизма.

V.5.2. Структура перестроенных генов потенциальных Т-рецепторов

Для того чтобы выяснить, соответствует ли реальности приведенная конструкция Т-рецептора, была установлена первичная последовательность АК триптических пептидов молекулы гетеродимера, очищенной из клеток Т-лейкемии человека с помощью МкАТ [779], синтезирован пептид из остатков АК со 2-го по 12-й с N-конца β -цепи, получены антитела к этому пептиду и показано, что они связываются с очищенной β -цепью [40]. Установленное таким образом совпадение последовательности АК β -цепи с предсказанной на основании нуклеотидной последовательности гена, так же как перестройка и экспрессия этого гена только в клонах Т-клеток, Т-лейкемиях и тимоцитах, но не в В-лимфоцитах и иных клеточных популяциях мыши и человека [307, 2093, 1086], косвенно указывают на идентификацию гена Т-рецептора.

В пользу такого предположения свидетельствует также сложная структура этого гена (табл. 46). Подобно гену IgH, ген T_β включает четыре основных сегмента: V_β — variable (вариабельный), D_β — diversity (разнообразный), J_β — joining (объединяющий) и C_β — constant (постоянный). Они разграничены определенными интронами [360, 1894] и локализованы последовательно в хромосоме VII человека — ее теломерном участке (установлено с помощью гибридизации *in situ* [307, 1154]) и хромосоме VI мыши — ее центромерном участке [1161]. Ген T_β не сцеплен с генами Ig (даже в случае расположения κ -гена L-цепи Ig мыши на той же хромосоме VI теломерно по отношению к гену T_β [464]), и, хотя в среднем он гомологичен генам V_H и V_L на 20—30% и генам C_H и C_L на 40%, его структура значительно усложнена по сравнению с генами Ig. В связи с этим очевидно, что схема, представленная на рис. 38, отражает структуру молекулы Т-рецептора лишь в самой общей форме.

Прежде всего V_β -район, охарактеризованный в трех клонах Т-хелперов различных специфичностей, содержит по меньшей мере семь гипервариабельных участков, не имеющих гомологии с V-районом гена Ig тех же специфичностей [1560] и, возможно, необходимых для формирования комплексного активного центра. Однако V_β сегменты гена T_β двух клонов Т-хелперов мыши, специфичных к разным белкам (лизоциму курицы и цитохрому с голубя) и рестриктированных по разным Ia-молекулам ($I-A^b$ и $I-E^k$ соответственно), оказались идентичными по нуклеотидной последовательности [711].

Детальное исследование большого числа V_β сегментов, выделенных из множества клонов Т-субклассов мыши [133] и человека [41], продемонстрировало резкую ограниченность их вариантов (предположительно не более 21 внутри вида) и независимость их структуры от фенотипов и функций клонов различных Т-субклассов. В связи с этим высокая степень разнообразия

Структура генов субъединиц предполагаемых Т-рецепторов

Ген	Локализация в хромосомах		Особенности генов
	мышь	человека	
T_β	VI проксимальный регион	VII дистальный регион	<p>Однородность и малое разнообразие сегментов. Число сегментов: $D_\beta = 2$, $J_\beta = 2$ (каждый из 7 элементов), $C_\beta = 2$.</p> <p>Дистанции: D — J 600 п. о., J — C 5 тыс. п. о., $C_\beta 1 - C_\beta 2$ 10 тыс. п. о.</p> <p>Экспрессия сегментов $C_\beta 1$ и $C_\beta 2$ варьирует в 30 раз в разных Т-лимфоцитах.</p> <p>Комбинации V-D-J-C варьируют в одной и той же и в парных хромосомах.</p> <p>Перестройка и транскрипция гена стабильна в большинстве тимоцитов и Т-клонов, превышая в тимусе транскрипцию гена T_α в 20, гена T_γ — в 100 раз.</p> <p>Перестройка и транскрипция гена в Т-клонах не зависит от их фенотипов, функций, антигенной специфичности и рестрикции.</p> <p>Ген перестроен в НК-клетках мыши, но делегирован в большинстве клонов Т-супрессоров.</p>
T_α	XIV промежуточный регион	XIV проксимальный регион	<p>Выраженное разнообразие: а) более 50 сегментов V_α; б) большие различия между сегментами V_α (10 субсемейств, каждое — до 10 членов); в) более 50 сегментов J_α и разнообразие V_α-J_α кластеров с включением D_α или без него.</p> <p>Сегмент С единственный. Дистанция J-C до 63 тыс. п. о.</p> <p>Ген перестраивается в позднем эмбриогенезе и лишь в зрелых (а также созревающих) клетках тимуса, в которых перестроен ген T_β и экспрессирована молекула ТЗ.</p> <p>Содержит 6 потенциальных сайтов для N-гликозилирования.</p>
T_γ	XIII проксимальный регион	VII проксимальный регион	<p>Число сегментов: $V_\gamma = 3-4$, $J_\gamma = 3$, $C_\gamma = 3$ (D_γ отсутствует).</p> <p>Ген перестраивается: а) в раннем эмбриогенезе и наименее зрелых клетках тимуса (транскрипция гена отсутствует в зрелых тимоцитах); б) только в ЦТЛ мыши, активированных молекулой МНС класса I, но в разных Т-субклассах человека.</p> <p>Разнообразие вариантов комбинаций сегментов в клонах ЦТЛ той же специфичности.</p> <p>Дистанция: V-V — 2,5 тыс. п. о.; J-C — 3,8 тыс. п. о.; C-C — 16 тыс. п. о.</p>

и индивидуальности β -цепи Т-рецептора может быть обусловлена большим числом и вариабельностью остальных сегментов (или элементов) гена T_β . В число последних входят два независимых сегмента J_β , содержащих всего 14 элементов, из которых функционируют по меньшей мере 12 [634, 1266]. В клонированных генах тимоцитов мыши [997] и Т-лейкемии человека [1894] также обнаружены сегменты D_β , причем число их может быть в пределах восьми, из которых не менее двух функционирует внутри данного гена [435]. Хотя два эти сегмента ($D_{\beta 1.1}$ и $D_{\beta 2.1}$) включают соответственно лишь 12 и 14 нуклеотидов, их роль в создании разнообразия перестроенного гена T_β весьма существенна ввиду возникновения вариантов рекомбинаций пар разных сегментов (элементов) VDJ при сопоставлении таких перестроек как внутри данной хромосомы, так и в двух парных хромосомах [711]. Кроме того, из-за сдвига места рекомбинации и вариантов сшивки ферментом TdT сегментов V_β - D_β и D_β - J_β после делеции интронов возникновение случайных нуклеотидов на стыке этих сегментов приводит к дополнительному разнообразию функционирующего гена. Соматические мутации также могут вносить вклад в создание разнообразия, хотя их частота в гене V_β существенно ниже по сравнению с V-геном IgH [911a].

Наконец, район C_β представлен в виде двух сегментов ($C_{\beta 1}$ и $C_{\beta 2}$) в геноме Т-клеток мыши [634, 1266, 361] и человека [1885], что приводит к возникновению в гене данного Т-субкласса по меньшей мере двух перестроенных комплексов J/C, разобщенных интроном в 6,5 тыс. п.о. и локализованных во фрагменте размером 15 тыс. п.о. Хотя $C_{\beta 1}$ и $C_{\beta 2}$ гомологичны внутри вида на 96%, а при сравнении Т-клеток мыши и человека — на 82%, их экспрессия сильно различается (в 30 раз) в незрелых тимоцитах и функциональных Т-линиях, а также варьирует в разных линиях Т-клеток независимо от их функции — ЦТЛ или Т-хелперах [1086]. Во всех случаях, однако, в генах $C_{\beta 1}$ и $C_{\beta 2}$ как у мыши [634], так и у человека [2112] 3' экзоны, кодирующие цитоплазматические домены, значительно сильнее различаются по нуклеотидной последовательности, чем гомологичные 5' экзоны, кодирующие внеклеточные домены.

Дальнейшая сложность связана с выявлением, помимо гена T_β , еще двух независимых генов — T_α и T_γ , отличия которых друг от друга, а также от гена T_β видны из данных табл. 46. Ген T_α картируется в хромосоме XIV мыши [448] и человека [386] в проксимальном по отношению к гену IgH регионе [308]. Снижение доли его транскрипта по сравнению с геном T_β (в 20 раз в тимоцитах и в 3 раза в активированных зрелых Т-клетках [361]) сочетается со значительно более выраженным разнообразием его V-сегментов (V_α) в геноме мыши [155] и человека [2293] и громадным количеством (18) независимых сегментов J_α , распределенных на большом участке ДНК (более 60 тыс. п. о.) [87, 1907]. Это сопровождается большим числом и разнообразием кластеров V_α - J_α при экспрессии единичного гена C_α и

отсутствием во многих случаях включения сегмента D_α в перестроенный ген, а также соматических мутаций внутри гена T_α [808]. Еще один источник разнообразия гена T_α — шесть потенциальных сайтов для N-гликозилирования его продукта [2283].

Третий ген (T_γ) картирован в хромосоме XIII мыши [1077] и VII человека в проксимальном регионе по отношению к гену T_β , локализованному в той же хромосоме VII [1434]. Его особенности — ограничение числа сегментов V и J (в ДНК T-линий человека найдено 4 сегмента V_γ , разделенных на два семейства по степени гомологии [1162a]), отсутствие D-сегмента и возрастание числа C-сегментов до трех, разделенных относительно короткими интронами [809]. Кроме того, в отличие от генов T_β и T_α , перестроенных в большинстве T-клеток независимо от их функции, перестройка гена T_γ наблюдается не во всех T-субклассах мыши (см. ниже).

Варианты комбинаций трех субъединиц — продуктов указанных генов — в структуре рецепторов различных T-субклассов остаются предметом исследования. Неспособность молекул T_β и T_α выполнять в отдельности функцию рецептора подтверждена тем, что T-гибридомы, утратившие как один из генов (V_β или V_α), так и специфическую реакцию на антиген, восстанавливают реактивность после их слияния [2264a]. Особенно демонстративна трансфекция комбинации экзонов α - и β -генов (но не одного β -гена) из клона ЦТЛ, специфичного к комплексу флуоресцеина с молекулой H-2D^d. После такой трансфекции в клетки «посторонней» T-гибридомы они, сохраняя собственные α - и β -гены, приобретают способность лизировать КМ, на поверхности которых представлен комплекс флуоресцеин+D^d [448a].

Несмотря на очистку, характеристику, секвенирование молекул T_β и T_α и даже возникновение в посторонних клетках специфической активности после трансфекции генов, кодирующих обе эти молекулы, их функционирование в качестве природных T-рецепторов требует прямых доказательств — специфического связывания с антигеном (или его комплексом с молекулой МНС) и блокировки этого связывания МкАТ к рецептору. Очевидно также, что структурная модель T-рецептора должна объяснять их основные биологические особенности, отличающие их от Ig-рецепторов В-клеток: а) возникновение специфической реактивности T-хелперов к сингенной Ia-молекуле как обязательного этапа их дифференцировки в тимусе, независимой от контакта с чужеродным антигеном; б) распознавание рецепторами антигена в ассоциации с продуктом МНС — класса I для ЦТЛ и класса II для T-хелпера/амплифайера; в) количественное ограничение репертуара рецепторов ЦТЛ и T-хелперов по сравнению с множественным репертуаром В-рецепторов и качественное различие эпитопов, распознаваемых этими рецепторами; г) узнавание рецепторами трех основных T-субклассов принципиально

разных участков белковой молекулы; д) необходимость энергетического метаболизма для активности мембранных рецепторов и динамичность их экспрессии на мембране. Последняя особенность может быть связана с отсутствием готовых рецепторов на поверхности покоящейся клетки и окончательным формированием их активного центра в ходе взаимодействия активированной клетки с комплексом антиген×молекула МНС.

У.5.3. Связь особенностей генов Т-рецепторов с дифференцировкой Т-лимфоцитов и биологическими свойствами их субклассов

Хотя связь указанных свойств Т-рецепторов с молекулярной структурой гетеродимера остается неясной, некоторые из этих свойств можно сопоставить с особенностями генов, их перестройки и транскрипции внутри тимуса и в разных Т-субклассах. В частности, способность Т-рецептора распознавать не множество простых СО-детерминант, а уникальную конфигурационную структуру молекулы МНС класса I, а также не сам по себе эпитоп белка, а его комплекс с молекулой МНС коррелирует с усложнением структуры генов Т-рецептора (см. табл. 46) по сравнению с генами Ig. Такое усложнение может быть связано с несколькими обстоятельствами: сочетание большого числа (7) гипервариабельных участков V-сегмента с резким ограничением числа его вариантов в гене T_V ; разнообразие VDJ-, DJ-, VJ- и даже JC-комбинаций ввиду возрастания числа сегментов D, J и C (и их элементов) в том или ином гене Т-рецептора; вариабельность дистанций V-J и J-C в разных генах, а также их взаимного расположения («голова к хвосту» или «голова к голове»), что сопровождается разными механизмами перестройки гена (делеция интрона, инверсия экзона или их комбинация).

Создается впечатление, что если разнообразие перестройки генов Ig в различных клонах В-клеток определяется в основном множеством V-сегментов (а также включением некоторых D-сегментов в ген H-цепи), то каждый из трех выявленных генов Т-рецепторов имеет иные и разнообразные возможности перестройки. Например, необычное расположение одного из генов V_V ($V_V 14$) — дистально (10 тыс. п. о.) по отношению к 3' региону гена $C_V 2$ (в зародышевой конфигурации) приводит к тому, что V- и C-гены объединяются через инверсию хромосомальной структуры, т. е. без делеции интронов [1266a]. Реализация разнообразных возможностей перестройки должна приводить к индивидуальности сложной структуры продуктов данного гена. Такая индивидуальность в гене T_V может сопровождаться разной степенью аффинитета рецепторов ЦТЛ одной и той же специфичности [809].

Возникновение на части тимоцитов рецептора к сингенной Ia-молекуле в ходе антигеннезависимой дифференцировки может иметь отношение к выраженной транскрипции генов субъ-

единиц гетеродимера внутри тимуса, что проявляется в 10—20-кратном превышении уровня мРНК гена T_β в тимусе (и линиях Т-лейкемий с фенотипом незрелых тимоцитов) по сравнению с клонами зрелых Т-клеток [2292, 1260].

Перестройка генов T_β , T_α и T_γ , отсутствующая в ПТ костного мозга и начинающаяся после их проникновения в тимус, имеет в большинстве незрелых тимоцитов ряд особенностей. Во-первых, мРНК оказалась неполной (ее размер — 650—1000 нуклеотидов по сравнению с 1300 нуклеотидами в зрелых тимоцитах и Т-лимфоцитах) в результате перестройки D-J-C без V-сегмента и его транскрипции [1652, 2291]. Во-вторых, перестройка и транскрипция генов T_β , T_α и T_γ мыши существенно различаются в тимоцитах в ходе эмбриогенеза. В частности, высокий уровень мРНК, гибридизующейся с кДНК гена T_γ на 15-й день эмбрионального развития, сопровождается ее снижением к 17-му дню и полным отсутствием в тимоцитах новорожденного и в поющих зрелых Т-клетках. Экспрессия гена T_β имеет противоположную кинетику: начинается не ранее 17-го дня и постепенно нарастает, достигая пика в тимусе взрослого. Наконец, ген T_α начинает перестраиваться только после резкого снижения транскрипции гена T_γ (на 19-й день), достигая высокого уровня экспрессии лишь в периферических Т-клетках [1652, 1908].

Подобная кинетика экспрессии трех генов воспроизведена как в Т-гибридах, выращенных из тимоцитов эмбриона мыши на разных стадиях онтогенеза [237], так и в тимоцитах взрослой мыши [1652, 2100] и человека [1737] на разных стадиях их дифференцировки. В последних случаях в наименее зрелых тимоцитах (двойные отрицательные: $Lyt-2^-$, $L3T4^-$ мыши и $T6^-$, $T3^-$ человека) высокая экспрессия гена T_γ сочетается с отсутствием или минимальной экспрессией гена T_β . На стадии II промежуточных (созревающих) тимоцитов ($Lyt-2^+$, $L3T4^+$ мыши, $T6^+$, $T3^-$ человека, составляющих около 90% клеток тимуса) падение экспрессии T_γ сочетается с обильной транскрипцией гена T_β . Тем не менее Т-рецепторы на мембране этих клеток не экспрессированы [38], а содержание изотипических детерминант очень мало [1709]. Стремительное нарастание экспрессии гена T_α в малой фракции зрелых тимоцитов стадии III ($Lyt-2^+$, $L3T4^-$ или $L3T4^+$, $Lyt-2^-$ мыши и $T6^-$, $T3^+$ человека), сохраняющих также экспрессию гена T_β , четко коррелирует с возникновением молекулы рецептора на поверхности клетки и появлением пептида ТЗ на той же мембране [387].

В табл. 47 представлена гипотеза, согласно которой гетеродимер γ/β наименее зрелых тимоцитов перестраивается в гетеродимер α/β только в той части созревающих тимоцитов, рецепторы которых после подключения V-сегмента распознают Ia-молекулу стромы тимуса. Из этого следует, что перестройка комплекса $\gamma/\beta \rightarrow \alpha/\beta$ происходит в тех клетках тимуса, из которых в последующем возникают Т-клетки хелперной группы, распознающие антиген в ассоциации с Ia-молекулой. В пользу такого

Гипотеза перестройки генов рецепторов в различных Т-субклассах

Предшест- венник субклассов	Этапы перестройки гена в тимоцитах		
	Незрелых *	Созревающих **	Зрелых ***
ЦТЛ	γ/β без V-сегмента	γ/β без V-сегмента	$\gamma/\beta + V$ -сегмент
СТС	γ/β без V-сегмента	<div style="text-align: center;"> ↓ Делеция ↓ Ген СТС без ↓ V-сегмента </div>	Ген СТС + V-сегмент
Хелперы	—	α/β без V-сегмента	$\alpha/\beta + V$ -сегмент

* $Ly1-2^-$, $L3T4^-$ (двойные отрицательные).

** $Ly1-2^+$, $L3T4^+$ (двойные положительные).

*** $Ly1-2^+$, $L3T4^-$ или $Ly1-2^-$, $L3T4^+$.

представления свидетельствует близкое разморасположение генов С-района α -цепи и пуриноклеозидфосфорилазы (ген Nr-2) в хромосоме XIV мыши [448]: если α -цепь определяет аутореактивность Т-рецептора к сингенной Ia-молекуле, то именно совместная экспрессия двух этих генов — T_α и Nr-2 — необходима для выживания и дифференцировки Т-хелперов в тимусе (гл. II.4.3. и II.4.4.), а общий дефект этих генов может приводить к тяжелым иммунодефицитам [1663].

Напротив, пЦТЛ должны сохранять комплекс γ/β , который после подключения V-сегмента представлен на мембране зрелых тимоцитов в виде рецептора, распознающего антиген в ассоциации с молекулой МНС класса I. В соответствии с этим предположением ген T_γ выявляется только в клонах ЦТЛ, но не Т-хелперов мыши [1751, 1078]. Исследование этой проблемы с помощью клонов Т-гибридом и Т-лейкемий показало, что в действительности ген T_γ транскрибируется только в тех ЦТЛ мыши, которые специфичны к молекуле МНС класса I, но не класса II [821], тогда как в активированных Т-клетках человека перестройка гена T_γ вовсе не ограничена субклассом ЦТЛ [1162]. Из этого следует, что молекула T_γ включена в структуру рецептора не любых ЦТЛ мыши, а только тех, которые распознают молекулу H-2K/D/L; в Т-лимфоцитах человека ген T_γ значительно более разнообразен.

Наконец, большинство предшественников СТС, также удерживающих комплекс γ/β , не должны экспрессировать его на мембране. Это означает, что в них сохраняется неполноценная перестройка β - и γ -генов без экспрессии V-сегмента [1560], они не подвергаются дальнейшей дифференцировке в медуллярном тимусе, сохраняя, таким образом, фенотип незрелых тимоцитов (гл. IV.2.3.), и не содержат рецепторов, распознающих антиген

в ассоциации с молекулой МНС (гл. V.2.3.). В дальнейшем их созревание связано с экспрессией иных рецепторов — продуктов еще не идентифицированного гена, для транскрипции которого может понадобиться полная делеция гена T_β , что действительно обнаружено в большинстве клонов СТС мыши [1086, 820] и человека [2093, 1736]. Сохранение этого гена и даже экспрессия его продукта на мембране некоторых клонов СТС [176] коррелирует с неоднородностью этого Т-субкласса (гл. IV.2.3.)

Перестройка генов T_β и T_α , их транскрипция и даже экспрессия их продуктов на мембране клонов СТС мыши, трансформированных вирусом радиационной лейкемии [454a], может быть связана с тем, что такая перестройка абберантна в клетках опухолей — Т- и В-лейкемий [1567a], что сопровождается необычным объединением генов $Ig(V_H)$ и Т-рецептора ($J_\alpha C_\alpha$) [121a].

Один из возможных вариантов рецептора СТС — продукт, синтезированный *in vitro* на полисомах, которые выделены из супрессорной Т-гибридомы мыши с помощью кроличьих антител к гаптенспецифическому фактору СТС. Хотя эта молекула (молекулярная масса 71 кДа в редуцирующих условиях, pI 5,0), состоящая из нековалентно сцепленных пептидов с молекулярной массой 23,5 кДа, специфически связывается с гаптенем без его ассоциации с продуктом МНС [150], ее отношение к мембранному рецептору СТС остается невыясненным. Описанные выше МкАТ к аллотипическим детерминантам Т-рецепторов могут послужить средством для выделения молекулы рецептора из мембраны супрессорных Т-гибридом мыши [1918a].

Полная перестройка гена T_β в НК-клетках мыши и даже экспрессия продукта этого гена на поверхности НК-клонов [2282] может означать, что возникновения на мембране цельной молекулы T_β вместе с пептидом ТЗ недостаточно для функции Т-рецептора: в отличие от ЦТЛ НК-клетки лишены антигенной специфичности и МНС-рестрикции (гл. IV.3.4) (напротив, в НК-клетках человека [1135b] и крысы [1679] транскрипция гена T_β не обнаружена).

В любом случае очевидно, что для установления прямого отношения указанных выше молекул к истинным Т-рецепторам необходимо выявить: специфическое связывание этих молекул с антигеном; предотвращение связывания мембранных рецепторов живой Т-клетки с комплексом антиген+продукт МНС антителами к Т-рецептору; воспроизведение последнего эффекта антителами, которые специфически связываются с клетками Т-субкласса определенной специфичности, индуцированными *in vivo* без длительного поддержания их роста в культуре, т. е. без возникновения дополнительных детерминант *in vitro*. Второе условие недавно выполнено в результате очистки молекулярного комплекса «процессированного» в МФ меченного ^{125}I инсулина с I-A молекулой того же МФ: специфическое связывание этого комплекса с клетками клона Lu1, пролиферирующего при реакции на тот же комплекс, ингибировалось МкАТ к Т-рецептору указанного клона [1635].

V.5.4. Структурная и функциональная ассоциация Т-рецептора с молекулой ТЗ

Во многих случаях для экспрессии функциональной молекулы на плазматической мембране, так же как для реализации ее функции, необходима ее ассоциация с иным пептидом-помощником. Функции таких помощников варьируют: доставка ранее синтезированной молекулы в плазматическую мембрану, стабилизация ее экспрессии на поверхности клетки, обеспечение эффективности ее взаимодействия с лигандой и(или) предотвращение ее модуляции после контакта с лигандой, обеспечение передачи сигнала внутрь клетки. В частности, роль подобного помощника выполняет L-цепь для экспрессии H-цепи Ig на мембране В-клетки [1863], β_2M для H-цепи молекулы МНС класса I (гл. I.3.2.4), цепь Ii для молекулы МНС класса II и α -цепь для β -цепи той же молекулы (гл. I.3.3.2): β -цепь для α -цепи молекулы LFA-1; L γ t-2 и L3T4 мыши, Т8 и Т4 человека — для увеличения эффективности низкоаффинных рецепторов ЦТЛ (гл. IV.3.2).

Без пептида-помощника не обходится и предполагаемый Т-рецептор. Функцию его выполняет белок ТЗ зрелых Т-клеток человека (гл. II.4.2.2) и его аналог мыши. Последний преципитирован из лизата клеток Т-лимфомы [61] или Т-гибридомы мыши [1494a] с помощью МкАТ к цепи Т γ , связь которой с молекулой ТЗ была предварительно стабилизирована на мембране химическим реагентом.

Только в популяции зрелых тимоцитов человека, экспрессирующих молекулу ТЗ, V-сегмент встраивается в перестроенный ген, и на плазматической мембране появляется полноценный рецептор [38]. В кортикальной зоне тимуса мыши не более 20% клеток также экспрессируют рецептор [1908], по-видимому, в результате их раннего созревания (гл. II.3.3). Поскольку в незрелых тимоцитах, не содержащих ТЗ, этот рецептор отсутствует, несмотря на наличие транскрипта его гена и даже соответствующего белка в цитоплазме, предполагается, что уже в ходе дифференцировки Т-клеток, так же как на их периферических потомках, ТЗ обеспечивает стабильную конформацию рецептора на мембране. Если, однако, вспомнить, что на той же мембране Т-клетки содержится множество иных маркеров, особую ценность представляют доказательства физической и функциональной ассоциации ТЗ с рецептором, что отличает ТЗ от остальных белков мембраны Т-клетки. В пользу уникальности этого свойства белка ТЗ получен ряд убедительных данных.

1. Молекулы индивидуального (клонотипспецифического) рецептора (Ti) и ТЗ прочно ассоциированы на поверхности клона Т-клетки [1349] или Т-лимфомы человека [243], судя по совместному «кэппингу» этих двух молекул при обработке клеток МкАТ к одной из них.

2. МкАТ только к ТЗ (но не к иным маркерам Т-клеток) преципитируют из лизата комплекс, в состав которого, помимо трех

пептидов ТЗ (см. ниже), входит гетеродимер Тi; напротив, преципитат, осажденный МкАТ к Тi, обычно не содержит молекулу ТЗ, что указывает на возможность их разобщения под действием МкАТ анти-Тi [1348].

3. Любая функция данного Т-клона (секреция ИЛ-2 или интерферона, цитотоксичность, пролиферация), активированная при его контакте с соответствующим антигеном, блокируется в присутствии МкАТ (а также их Fab-фрагмента) не только к Тi, но и к ТЗ. Блокировка не связана с какой-либо токсичностью или нарушением взаимодействия ИЛ-2 с чувствительным к нему рецептором: МкАТ к обоим указанным молекулам (частота их экспрессии на мембране одинакова) не угнетают пролиферацию активированных Т-клеток под действием ИЛ-2; функция Т-клона возобновляется после реэкспрессии ТЗ на их поверхности [1664, 1346].

4. Искусственная элиминация с поверхности клеток Т-лейкемической линии человека Jurkat гетеродимера с молекулярной массой 90 кДа или ТЗ с помощью их культивирования в присутствии мутагена и МкАТ к одной из этих молекул приводит к исчезновению второй молекулы [2209], причем скорость ресинтеза этих двух молекул одинакова, независимо от того, какая из них служила мишенью для МкАТ [680a]. Таким образом, они могут быть экспрессированы только совместно (способность 20—35% ЦТЛ человека и их клонов функционировать в отсутствие ТЗ связана со свойствами их предшественников — лимфоцитов периферической крови, что установлено их активацией в МЛС методом лимитирующих разведений [1409]).

5. Каждое из МкАТ к Тi или к ТЗ в отсутствие антигена стимулирует пролиферацию [1350] и цитотоксическую функцию Т-клона [1925], причем для такой стимуляции МкАТ анти-ТЗ могут быть использованы в молярной концентрации в 1000 раз меньшей, чем концентрация митогена Кон А [1134]. Эта стимуляция функции, осуществляемая в отличие от блокировки функции только цельной молекулой МкАТ, связана с двумя независимыми событиями в одних и тех же клетках: возникновением рецепторов к ИЛ-2 (и другим факторам) и секреции ИЛ-2 (гл. III). В отличие от первого события второе требует не только присутствия МкАТ, но и их фиксации на гранулах сефарозы и(или) присутствия МФ, причем блокировка FcR этих МФ при добавлении IgG человека отменяет секрецию ИЛ-2. Это означает, что для активации функции специфических Т-клеток и их клонов под действием МкАТ к молекулам Тi или ТЗ необходимо перекрестное сцепление комплексов Тi-ТЗ на мембране Т-клетки, что обеспечивается ее мультимерным прикреплением ко множеству молекул антител, фиксированных на сефарозе или на FcR поверхности МФ.

Из приведенных данных очевидно, что молекула ТЗ ответственна не только за экспрессию Т-рецептора, но и за реализацию его функции после контакта с антигеном, т. е. она обеспе-

чивает передачу сигнала с мембраны (один из таких сигналов приводит к летальному удару ЦТЛ после связывания его рецептора с антигеном КМ, гл. IV.3.2). Поскольку уже через несколько минут после мультимерного сцепления мембранных комплексов Тi-ТЗ фиксированными МкАТ к любой из этих молекул начинается внутриклеточный ток ионов Ca^{++} [2211], предполагается, что модуляция конформационной структуры этого комплекса формирует трансмембранный канал между сцепленными молекулами ТЗ.

Изменение конформационной структуры молекулы ТЗ с помощью МкАТ и их Fab-фрагментов особенно легко достигается (в отсутствие перекрестного сцепления) на покоящихся Т-супрессорах [444] и некоторых Т-лейкемиях человека [1494]. Такого воздействия достаточно для активации этих клеток, что сопровождается в первом случае подавлением образования антител, а во втором — быстрым транспортом Ca^{++} в цитоплазму. Столь же чувствительно изменение конформации молекулы ТЗ при ее контакте с МкАТ к действию РМА, который в этом случае вызывает в одних и тех же Т-клетках секрецию ИЛ-2, экспрессию рецепторов к ИЛ-2 и пролиферацию в отсутствие моноцитов (787).

Выяснение уникальной функции ТЗ, очевидно, будет способствовать решению одной из наиболее сложных проблем — механизма передачи сигнала активации от плазматической мембраны к ядру [914]. В связи с этим большую ценность представляет детальное исследование молекулярной структуры ТЗ. Хотя у мыши эта структура сложнее, чем у человека [1494a], в обоих случаях она включает три инвариабельных нековалентно сцепленных пептида — γ (25 кДа), δ (20 кДа) и ϵ (20 кДа), различающихся по пептидным картам, антигенным детерминантам и степени гликозилирования [238] и легко разобщающихся после интернализации в цитоплазму под действием антител к одному из этих пептидов [976]. Только один из пептидов (δ) является трансмембранным. Он кодируется единичной копией гена, анализ клонированной кДНК которого позволил сконструировать его структуру, состоящую из 150 АК [2125]: домены внемембранный (79 остатков АК, включая 5 остатков цистеина), трансмембранный (АК с 80 по 106, всего 27 остатков) и цитоплазматический (АК со 107 по 150, всего 44 остатка) (гомологичный аналог ТЗ мыши содержит в цитоплазме на два остатка АК больше [2126]). Поскольку гидрофобная структура трансмембранного домена прерывается остатком аспарагиновой кислоты (Asp^{90}), ее солевой мостик с остатком лизина трансмембранного домена рецептора может объяснить их нековалентную связь. Именно этот пептид формирует трансмембранный канал; связь же других внемембранных пептидов ТЗ (γ и ϵ) с константными (примембранными) доменами α - и β -цепей Т-рецептора может стабилизировать его экспрессию.

V.5.5. Динамичность экспрессии Т-рецептора на мембране и формирования его активного центра

Представления о множестве нековалентно сцепленных субъединиц указывают на динамичность организации сложного комплекса. Если даже примембранный домен константного участка Т-рецептора сформирован независимо от контакта с антигеном, N-концевые участки внеклеточных пептидов ТЗ- γ , δ , ϵ могут достигать V-доменов α - и β -цепей Т-рецептора. В этом случае на их ассоциацию должно влиять взаимодействие активного центра рецептора с антигеном в комплексе с молекулой МНС. Такое взаимодействие, по одним представлениям, может приводить к укреплению ассоциации [2107], по другим, напротив, к разобщению α/β -цепей Т-рецептора с пептидами ТЗ [1883]. В любом случае этот процесс сопровождается конформационной модуляцией и смещением трансмембранных участков α/β -цепей Т-рецептора и пептида ТЗ- δ , а также его длинного цитоплазматического домена, что затем приводит к возникновению ионных каналов в мембране и рецепторов к ИЛ-2.

Еще более вероятно, с нашей точки зрения, что динамичность и гибкость структуры Т-рецептора, а также возникновение разнообразия его ИР основано на отсутствии предсуществующего готового активного центра до контакта с антигеном, если последний распознается в комплексе с продуктом МНС. Это означает, что в отличие от рецепторов В-лимфоцита и Т-супрессора, распознающих простую детерминанту антигена без его ассоциации с продуктом МНС и полностью сформированных на мембране клетки независимо от контакта с антигеном, структура активного центра рецепторов ЦТЛ и клеток хелперной группы формируется лишь в ходе контакта, причем ключевую роль в этом процессе выполняет данный продукт МНС.

На такую возможность указывает ряд косвенных данных: неспособность пЦТЛ даже на промежуточном этапе его антигензависимой дифференцировки (пЦТЛ-А) эффективно связываться с антигеном Н-2 на монослое КМ (гл. V.2.3); необходимость длительного срока инкубации при 37° С эффекторных Т-хелперов и $\text{ЭТ}_{\text{гэт}}$ с соответствующим антигеном, ассоциированным с молекулой МНС на монослое МФ, для специфического связывания рецепторов с антигеном (гл. V.2.2); необходимость клеточного метаболизма для такого связывания (гл. V.2.3.); зависимость степени экспрессии рецептора на высокоспецифичных клонах Т-клеток от срока их инкубации с антигеном клеток-стимуляторов [754]; лабильность репертуара каждого из клонов ЦТЛ в ходе его взаимодействия с антигеном, включающим молекулу МНС [1659].

Механизмы участия молекул МНС класса I и II, а также вариантов этих молекул и продуктов их аллелей в формировании активного центра должны быть неоднородны. Существует представление, что в отличие от константных участков α - и β -цепи

рецептора, сближенных единичным дисульфидным мостиком вблизи мембраны, V-домены тех же цепей, напротив, разобщены и не формируют сами по себе активного центра, а их потенциалы для связывания антигена участки направлены в противоположные стороны, как это показано на рис. 38. Соединение каждого из этих доменов с соответствующим (α_1 и β_1) полиморфным доменом двух разных Ia-молекул «презентирующей» А-клетки формирует активные центры, реагирующие с эпитопом и агретопом молекулы антигена. Последующее объединение «тыльных» поверхностей тех же двух доменов Ia- α_1 и Ia- β_1 приводит к сборке межмембранного комплекса молекул, экспрессированных на двух взаимодействующих клетках: Ia-молекул А-клетки и рецепторов Т-клетки, что сопровождается взаимным объединением нескольких пептидов ТЗ и возникновением трансмембранного канала в мембране Т-лимфоцита [1482]. Из этого следует, что ни активный центр рецептора на Т-клетке, ни комплекс антигена с Ia-молекулой на А-клетке не предсуществуют, а возникают лишь после соединения субъединиц Т-рецептора и Ia-молекулы А-клетки, происходящего независимо от антигена. Изложенная модель «синаптической основы активации Т-лимфоцитов» вовсе не исключает возникновения в определенных условиях комплекса агретоп — дезетоп, обнаруженного в ряде экспериментальных условий независимо от контакта Т-рецептора с антигеном и Ia-молекулой (гл. V.3.3).

В любом случае очевидно, что даже если рецептор ЦТЛ включает две субъединицы, как это следует из приведенных выше данных, их объединение и лабильность их формирования должны быть основаны на ином принципе. В частности, молекула МНС класса I может действовать как аллостерический эффектор: ее взаимодействие с рецептором изменяет его конформацию таким образом, что он приобретает способность аффинно связываться только с определенной мозаичной конфигурацией аллогенной молекулы МНС и(или) комплекса сингенной молекулы МНС с антигеном — модель «лабильного аллостерического рецептора» [379].

Эти представления отнюдь не исключают существование клональной структуры Т-рецепторов, которое твердо установлено. Ее отличие от множества сравнительно простых и однородных по своей организации клонов В-лимфоцитов состоит в том, что, во-первых, разнообразие клонов Т-лимфоцитов значительно ограничено, во-вторых, репертуар рецепторов разных Т-субклассов принципиально различен и, в-третьих, предсуществуют лишь субъединицы рецептора данного клона. В связи с этим окончательное формирование Т-рецептора наиболее вероятно только в ходе его взаимодействия с комплексом антиген+продукт МНС. В таком случае очевидно принципиальное отличие Т-рецептора от предсуществующего Ig-рецептора В-клетки и значительно более сложная, несмотря на определенную степень гомологии их первичной структуры, конфигурация молекулы Т-рецептора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стремительное развитие клеточной иммунологии и ее молекулярных основ привело к важным последствиям.

Прежде всего возникла возможность получать вместо косвенных указаний и догадок точные ответы на поставленные вопросы с помощью разрешающих методов. В категорию последних можно включить выращивание В- и Т-гибридом, синтезирующих соответственно МкАТ и факторы Т-субклассов определенной функции и узкой специфичности, а также клонированных линий каждого из высокоспецифичных субклассов Т-клеток, экспрессирующих на своей мембране потенциальные рецепторы и дифференцировочные маркеры. К той же категории точных методов относится создание библиотеки клонов кДНК с последующим выделением генов изучаемых молекул и выяснением их первичной последовательности, на основании которой можно синтезировать пептид, получить к нему МкАТ, и с их помощью извлечь из лизата цельную молекулу в чистом виде. Большое значение для изучения биологических особенностей и молекулярной структуры Т-рецептора имеет также адекватная оценка его связывания с антигеном, ассоциированным с молекулой МНС. Такой подход дает возможность исследовать тонкую специфичность антигенсвязывающих рецепторов, а также концентрировать индуцированную *in vivo* популяцию данного Т-субкласса определенной специфичности без ее выращивания в культуре.

Использование комплекса этих методических подходов привело к возникновению новой области знания, охватывающей по меньшей мере два аспекта: механизмы узнавания чужого, связанного с особенностями рецепторов Т-субклассов и с молекулярными этапами их межклеточной кооперации, и регуляция этого процесса вариантами Т-супрессоров и контрсупрессоров. Первый аспект включает прежде всего взаимодействие сложной и динамичной структуры Т-рецептора с мозаичной конфигурацией, уникальной в каждом случае при возникновении на поверхности сингенных клеток комплекса антигена или его процессированного фрагмента с определенным продуктом МНС класса I или II. В связи с этим большинство Т-рецепторов вовсе не узнает множество простых детерминант на поверхности интактной молекулы белка, а также детерминант гаптенного типа, индивидуально связывающихся с одним из большого числа клонов В-лимфоцитов.

Это означает, что Т-рецепторы отличаются от рецепторов В-клеток не только по кодирующим их генам и молекулярной структуре, но и по резкому ограничению клонального репертуара и по включению в этот репертуар не «букв» и «слов», а только «сложных слов» и даже «целых фраз». Важнейшая особенность Т-рецептора — способность четко дискриминировать тонкие конформационные изменения распознаваемой мозаики, возникающие при варьировании эпитопов антигена, ассоциированных с молекулой МНС, или при мутациях молекулы МНС. Если говорить образно, то малейшие изменения сложной фразы или ее частичное совпадение с иной фразой приводят соответственно к резкому уменьшению реакции Т-рецептора на индуцировавший его эпитоп или к возникновению перекрестной реакции того же рецептора на «посторонний» эпитоп.

Такой своеобразный комплексный принцип распознавания, основанный не на формальном, а на смысловом подходе, означает, что ограниченный репертуар Т-рецепторов сочетается с выраженной лабильностью комплементарности каждого из таких рецепторов по отношению к иммунизирующему комплексу, причем степень такой комплементарности может сильно варьировать в зависимости от аффинитета рецептора. Кроме того, этот принцип не однороден внутри класса Т-лимфоцитов: каждый из Т-субклассов реализует его по-своему, реагируя на разные эпитопы, ассоциированные с разными продуктами МНС, по-видимому, с помощью разных механизмов. Существо этого различия связано прежде всего с разной структурой и биологическими свойствами молекул МНС класса I (H-2K/D/L мыши и HLA-A, B, C человека) и класса II (I-A/E мыши и HLA-D человека). Хотя оба типа этих трансмембранных молекул полиморфны внутри вида, молекула класса I универсальна для органов и тканей (несмотря на количественное варьирование ее экспрессии), стабильна на плазматической мембране и почти не зависит от этапа дифференцировки или пролиферации клетки; напротив, молекулы класса II не универсальны, а их экспрессия на мембране, как правило, отличается исключительной лабильностью и зависимостью от стадии пролиферации и дифференцировки клетки.

В связи с этим различием между молекулами МНС и их ключевой ролью в «презентационной рестрикции» при распознавании антигена рецепторами Т-субклассов одна из наиболее актуальных и наименее понятных проблем — структура и соотношение детерминант молекулы МНС, реагирующих: а) с антителом (СО-детерминанта); б) с Т-рецептором, иммунным к данной аллогенной молекуле (Т-эпитоп); в) с участком Т-рецептора, специфичного не к молекуле МНС, а к антигену, ассоциированному с этой молекулой (гистотоп); г) с иммунизирующим антигеном или его процессированным фрагментом (дезетоп); д) с иными молекулами мембраны Т-лимфоцита (типа Lyt-2 и L3T4 мыши, T8 и T4 человека, LFA-1 разных видов животных), функционирующими в качестве стабилизаторов взаимодействия Т-рецепто-

ра с антигеном на поверхности КПА. Хотя по этим проблемам в гл. V изложено множество данных и моделей, ясность в них еще не достигнута. Из полученных результатов очевидно, что природа и прочность ассоциации антигена, молекулы МНС и Т-рецептора сильно варьируют в зависимости от конкретных условий. Выяснение основных закономерностей такой ассоциации и подбор методических подходов необходимы для того, чтобы выделять комплексы антигена с молекулой МНС и изучать структуру их организации.

Так же как контакт антитела с антигеном, специфический этап взаимодействия Т-рецептора с иммунизирующим комплексом хотя и необходим, но недостаточен для какой-либо иммунологической функции: этот этап сам по себе служит лишь первым сигналом для запуска активности Т-лимфоцита, что затем приводит к его трансформации, пролиферации, дифференцировке и в конечном счете — к функциональной активности. Каждый из этих последующих этапов имеет свои достаточно сложные механизмы, которые интенсивно изучаются в последние годы. Стало понятным, что первый (специфический) сигнал индуцирует в Т-клетках несколько последовательных событий: возникновение рецепторов к факторам роста и дифференцировки, секрецию самих этих факторов, активацию мембранной экспрессии Ia-молекулы, появление рецептора к трансферрину, контакт которого с трансферрином запускает пролиферацию. Решающим в этом комплексе событий является контакт ИЛ-2 с соответствующим рецептором, причем обе эти молекулы (и их гены) выделены, изучены и секвенированы. Медиатор, секретированный определенным Т-хелпером, имеет индивидуальные особенности иммунологической специфичности и генетической рестрикции, молекулярной структуры, условий синтеза.

Тем не менее по-прежнему не вполне выяснены молекулярные механизмы активации (транспорт ионов, фосфорилирование белков) и передачи сигнала в ядро, а также различия механизмов, запускающих пролиферацию и дифференцировку, за которые ответственны разные факторы и реагирующие с ними рецепторы. Сложность этих событий, хотя и требует времени для возникновения иммунного ответа, компенсируется тем, что все они направлены к одной цели — обеспечению помощи для дифференцировки эффекторных Т-субклассов и В-лимфоцитов. В связи с этим одна из актуальных проблем — детальное изучение рецепторов и механизмов действия разнообразных Т-помощников — амплифайеров, активаторов функций макрофагов, индукторов хелперов, супрессоров, эффекторов ГЗТ, а также самих хелперов Т-В, т. е. индивидуально способствующих дифференцировке каждого из субклассов лимфоидных клеток. Механизмы эффекторных функций, в особенности ЦТЛ, детально анализированные в гл. IV.3, также представляют широкий простор для исследования.

Второй аспект новой области знания — «супрессология»

включающая множество проблем, связанных с исключительным разнообразием Т-супрессоров (гл. IV.2). Наиболее актуальна проблема способности предшественников Т-супрессоров подвергаться быстрой дифференцировке в различных (особенно нефизиологических) условиях, реагируя при этом (в отличие от клеток иных Т-субклассов) на множество антигенов независимо от их ассоциации с молекулой МНС и функции Ig-генов, и распознавая иные (разнообразные) эпитопы в структуре белка. В связи с отличием Т-супрессоров от иных Т-субклассов по клональному репертуару и условиям взаимодействия их рецепторов с антигеном молекулярная структура этих рецепторов может оказаться принципиально различной, что коррелирует с различиями генов Т-супрессоров и других Т-субклассов.

Специальный интерес представляет генетическая рестрикция функций Т-супрессоров, в особенности если она является не «презентационной», а «интеракционной», т. е. зависит от взаимодействия не рецептора с чужеродным антигеном, а мембранных маркеров Т-супрессоров и подавляемых ими иных субклассов сингенных лимфоцитов (независимо от того, какие антигены они при этом распознают). Такой тип рестрикции, один из механизмов которого, по-видимому, связан с взаимодействием рецептора к сингенной молекуле МНС с самой этой молекулой на поверхности кооперирующей клетки, может играть определяющую роль в ограничении пролиферации клеток в физиологических условиях, при торможении аутоиммунных процессов или роста лейкемических клеток. Кроме того, в связи с высокой эффективностью блокировки Т-супрессорами функций иных Т-субклассов (в особенности на ранних этапах иммунного ответа, а также при росте опухолей) исключительно важно исследование их дифференцировочных маркеров и маркеров их предшественников, не экспрессированных на других Т-субклассах. Получение МкАТ к этим маркерам позволит направленно изменять иммунный ответ за счет избирательного усиления дифференцировки Т-супрессоров или, напротив, их инактивации *in vivo*.

Попытки решить узкие прикладные задачи, как правило, неэффективны для практики (в особенности медицинской), тогда как, казалось бы, чисто теоретические фундаментальные исследования оказываются в этих случаях решающими. Указанная закономерность четко прослеживается при анализе достижений современной клеточной иммунологии. В частности, установление важной роли Ia-молекулы в презентации антигена на поверхности КПА для активации Т-клеток хелперной группы приводит к возможности предотвращения развития аутоиммунных заболеваний с помощью введения *in vivo* анти-Ia-антител, что сопровождается активацией Т-супрессоров, реагирующих на сам по себе антиген без участия Ia-молекулы. Столь же эффективной оказалась отмена дифференцировки ЦТЛ при аллотрансплантации с помощью торможения синтеза ИЛ-2 анти-Ia антителами или циклоспорином А.

22 Подавление эффекторной функции ЦТЛ может быть достигнуто с помощью антител к молекуле LFA-1, экспрессия которой на поверхности ЦТЛ необходима для стабилизации его контакта с антигеном КМ. Напротив, локальное введение ИЛ-2 или продуцирующего его клона Т-клеток в очаг растущей опухоли, так же как избирательная элиминация Т-супрессоров, приводит к усилению функции Т-амплифайеров и дифференцировки ЦТЛ, что в некоторых экспериментальных моделях сопровождается рассасыванием прогрессивно растущей опухоли. Выяснение структуры ограниченных иммунодоминантных эпитопов в сложной молекуле белка (включая вирусные и опухолево-ассоциированные антигены), которые распознаются рецепторами Т-хелперов и ЦТЛ, играет ключевую роль в конструировании синтетических вакцин и выращивании протективных клонов этих клеток для усиления противовирусного и противоопухолевого иммунитета. Очевидно, что установление молекулярных механизмов цитолиза, осуществляемого специфическими ЦТЛ, этапов, маркеров и механизмов антигензависимой дифференцировки Т-супрессоров и в особенности природы истинных рецепторов каждого из Т-субклассов приведет к иммунологической инженерии, т. е. к подлинной и эффективной иммунотерапии.

Автор выражает глубокую признательность Г. И. Абелеву, М. Б. Зайцевой, А. Ю. Руденскому, В. Е. Татарченко, А. В. Червонскому, В. Л. Юрину за подлинный интерес к монографии и критический анализ отдельных ее фрагментов, а также Н. О. Калининой, помощь которой сыграла важную роль в создании монографии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АБА — азобензоларсенат
 АЕД — ацетил-этилен-диамин
 АК — аминокислота
 АЛС — антилимфоцитарная сыворотка
 АОК — антителообразующая клетка
 АСС — антисупрессорная сыворотка
 АТС — антиtimoцитарная сыворотка
 АФП — α -фетопротенин
 БСА — бычий сывороточный альбумин
 ВЛМ — вирус лейкемии Молони
 ВР — высокореактивная (линия животных)
 ГА — гемагглютини (вируса)
 ГГЧ — гамма-глобулин человека
 ГЗТ — гиперчувствительность замедленного типа
 ГК — гидрокортизон
 ГЦ — гемоцианин
 2ДГ — 2-дезоксиглюкоза
 ДМСО — диметилсульфоксид
 ДНФБ — динитрофторбензол
 ДНФ — динитрофенол
 ДК — дендритическая клетка
 ИФ — иммунофлуоресценция
 ИФ- γ — гамма-интерферон
 ИЛ — интерлейкин
 ИТ_{ГЗТ} — индуктор Т-клеток ГЗТ
 ИТ_с — индуктор Т-супрессора
 ИТ_х — индуктор Т-хелпера
 кДНК — комплементарная ДНК
 КЛК — комитированная лимфоидная клетка
 К — киллерная клетка
 КМ — клетка-мишень
 Кон А — конканавалин А
 КПА — клетка, представляющая («презентирующая») антиген
 КПФ — клетка, представляющая («презентирующая») фактор
 КР — кортизонрезистентная (клетка)
 КСС — клетка сингенной селезенки
 КЧ — кортизончувствительная (клетка)
 ЛАК — лимфокинаktivированные киллеры
 ЛК — лагергансовая клетка
 ЛПС — липополисахарид
 ЛХМ — вирус лимфоцитарного хориоменингита
 МБСА — метилированный бычий сывороточный альбумин
 МкАТ — моноклональные антитела
 МС — митомин С
 МФ — макрофаг
 НК — натуральная киллерная (клетка)
 НР — низкореактивная (линия животных)
 НЦ — натуральная цитотоксическая (клетка)
 ОВА — овальбумин
 PLL — поли-L-лизин
 ПР — перекрестная реактивность
 ПТ — предшественник Т-клетки
 пТ_с — предшественник Т-супрессора
 ПТП — посттимический предшественник
 пЦТЛ — предшественник ЦТЛ
 пЦТЛ-А — активированный пЦТЛ
 пЦТЛ-Н — наивный пЦТЛ
 Р — рекомбинант или родитель
 РЛ — реагирующий лимфоцит
 РТПХ — реакция трансплантата против хозяина
 СКК — стволовая кроветворная клетка
 СО — серологически определяемая (детерминанта)
 СТС — специфический Т-супрессор
 Т-лимфоцит — клетка тимусного происхождения
 Т_{кс} — Т-контрсупрессор
 ТНФ — тринитрофенол
 Т_{сэ} — эффективный Т-супрессор
 Т_{хэ} — эффекторный Т-хелпер
 Т_Г — Т-клетка, несущая рецептор к Fc-фрагменту IgG
 Т_μ — Т-клетка, несущая рецептор к Fc-фрагменту IgM
 ТХУ — трихлоруксусная кислота
 ТФ — трансферрин
 ТЭ — тимэктомия
 УФ — ультрафиолет
 ФГА — фитогемагглютини
 ФИТЦ — изотиоцианат флуоресценции
 ЦА, ЦБ — цитохалазин А, Б
 ЦФ — циклофосфамид
 ЦФНК — цитотоксический фактор натуральных киллеров

ЭАЭ — экспериментальный аутоим-
 мунный энцефаломиелит
 ЭБ — эритроциты барана
 ЭГТА — этиленгликолтетраацетат
 ЭДТА — этилендиаминтетраацетат
 ЭТ_{гат} — эффекторная Т-клетка ГЗТ
 А-клетка — вспомогательная (accessory) клетка
 АК — атипичный, аномальный, старый (aged) киллер
 В-лимфоцит — происходящий из фабрициевой сумки (bursa) птиц
 В₂М — В₂-микροглобулин
 bm — мутант локуса H-2^b
 С' — комплемент
 С3R — рецептор к 3-му компоненту комплемента
 С_H, С_L — константные (constant) области тяжелой (H, heavy) или легкой (L, light) цепей иммуноглобулина
 сАМР — циклический аденозинмонофосфат
 сGMP — циклический гуанозинмонофосфат
 СВ-пептид — пептид, полученный расщеплением молекулы цианогенбромидом (CNBr)
 CRI — перекрестно реагирующий идиотип (cross-reactive idotype)
 DB-сАМР — дибутирил сАМР
 dGTP — дезоксигуанозинтрифосфат
 DEAE — диэтиламиноэтил
 dm — мутант локуса H-2^d
 FcR — рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулина
 FTS — сывороточный фактор тимуса (facteur thymique sérique)
 GAT — L-глутаминовая кислота⁶⁰ — L-аланин³⁰ — L-тирозин¹⁰
 GLPhe — глутаминовая кислота⁶⁷ — лизин³⁸ — фенилаланин⁵
 GLT — L-глутаминовая кислота — L-лизин — L-тирозин
 gp70 — гликопротеид с М. м. 70 кДа
 GT — L-глутаминовая кислота⁵⁰ — L-тирозин⁵⁰
 H-2 — тканевая совместимость (histocompatibility)-2
 HLA — антиген лимфоцитов человека (human lymphocyte antigen)
 H-Y — антиген гистосовместимости — продукт Y-хромосомы

Ia — молекула, ассоциированная с I-районом MHC
 Ig — иммуноглобулин
 IgG, IgM, IgA, IgE — классы Ig
 Igh-C, Igh-V—C- и V-области H-цепи Ig
 Ii — инвариантная цепь Ia-молекулы
 I-район — промежуточный (intermediate) район MHC
 Ir-ген — ген иммунореактивности
 Is-ген — ген иммуносупрессии
 J-сегмент — соединяющий (joining)
 LAgl — Лобстер агглютинин I
 LDH_B — лактатдегидрогеназа B
 Lyl-, Lyb-антиген — антиген Т-, В-лимфоцита
 NP-гаптен — 4-гидроксн-3-нитрофенил ацетил
 PGE₂ — простагландин E₂
 PMA — форболовый эфир (phorbol myristic acetate)
 PNA — агглютинин земляного ореха
 PNP — пуринуклеозидфосфорилаза
 PPD — очищенное производное белка (туберкулина) (purified protein derivative)
 RadLV — вирус радиационной лейкемии
 SC-1 — стволово-клеточный антиген мозга (stem cell-1)
 TcsiF — фактор индукторов Т-контрсупрессоров
 TdT — терминальная дезоксиууклеотидил-трансфераза
 (T, G)—А—L — L-тирозин, L-глутаминовая кислота, D-L-аланин, L-лизин
 ThB — общий маркер Т- и В-клеток
 THF — гуморальный фактор тимуса (thymic humoral factor)
 Ti — индивидуальная (клонотипспецифическая) молекула рецептора Т-клетки
 TL — антиген — тимус-лейкемический антиген
 TLA комплекс — комплекс тимус-лейкемических антигенов
 TsF — фактор Т-супрессора
 TsiF — фактор индуктора Т-супрессора
 V_H, V_L — вариабельная область H (heavy) или L (light) цепи Ig
 W — дикий (wild) тип
 xid — регуляторный ген X-хромосомы

ЛИТЕРАТУРА

1. Аброна И. О., Брондз Б. Д., Сулов А. П. и др.//Молекуляр. биология. 1981. Т. 15. С. 1131—1143.
2. Аброна И. Ф., Зайцева М. Б., Брондз Б. Д.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1985. № 8. С. 215—218.
3. Андреев А. В., Дризлик Г. И., Брондз Б. Д.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1976. № 10. С. 710—713.
4. Апт А. С., Мороз А. М., Абрамова В. Т. и др.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1983. № 5. С. 78—81.
5. Брондз Б. Д., Гольберг Н. Е., Ворнакова Г. Н.//Цитология. 1969. Т. 11. С. 1411—1421.
6. Брондз Б. Д.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1971. № 3. С. 60—64.
7. Брондз Б. Д., Дризлик Г. И.//Молекуляр. биология. 1977. Т. 11. С. 253—285.
8. Брондз Б. Д., Андреев А. В., Дризлик Г. И., Егорова С. Г.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1979. № 2. С. 176—179.
9. Брондз Б. Д., Хачикян Е. Я., Караулов А. В.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1979. № 4. С. 325—328.
10. Брондз Б. Д., Караулов А. В.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1980. № 3. С. 315—318.
11. Брондз Б. Д., Караулов А. В., Аброна И. Ф.//Цитология. 1980. Т. 22. С. 583—590.
12. Брондз Б. Д., Караулов А. В., Аброна И. Ф., Бландова З. К.//Генетика. 1980. Т. 16. С. 2151—2163.
13. Брондз Б. Д., Аброна И. Ф., Зайцева М. Б., Бландова З. К.//Генетика. 1982. Т. 18. С. 639—651.
14. Брондз Б. Д., Пименов А. А., Бландова З. К., Ворнакова Г. Н.//Молекуляр. биология. 1982. Т. 16. С. 481—492.
15. Брондз Б. Д., Пименов А. А., Бландова З. К., Ворнакова Г. Н.//Иммунология. 1984. № 5. С. 10—14.
16. Кан Е. С., Червонский А. В., Исакова В. Р. и др.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1986. № 8. С. 203—205.
17. Краскина Н. А., Лопатина Т. К., Мокренко Л. И. и др.//Иммунология. 1980. № 4. С. 50—55.
18. Петров Р. В. Иммунология. 1984. № 4. С. 88—92.
19. Пименов А. А., Брондз Б. Д.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1983. № 11. С. 79—81.
20. Пименов А. А., Аброна И. Ф., Брондз Б. Д.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1984. № 1. С. 66—68.
21. Славина Е. Г.//Иммунология опухолей. Итоги науки и техники. Сер. онкология. Москва, 1984. Т. 13. С. 98—141.
22. Сулов А. П., Геринг С.//Иммунология. 1980. № 1. С. 52—55.
23. Сулов А. П., Елисеева Л. С., Брондз Б. Д. и др.//Иммунология. 1980. № 1. С. 74—80.
24. Сулов А. П., Харкевич Д. Д., Брондз Б. Д. и др.//Цитология. 1982. Т. 24. С. 1110—1116.
25. Хаитов Р. М., Маджидов А. В.//Успехи соврем. биологии. 1984. Т. 97. С. 3—19.
26. Харкевич Д. Д., Сулов А. П.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1982. № 2. С. 53—55.

27. Харкевич Д. Д., Суслов А. П., Бландова З. К.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1984. № 4. С. 443—445.
28. Червонский А. В., Филатов А. В., Орлова Е. А., Брондз Б. Д.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1987. В печати.
29. Черноусов А. Д., Червонский А. В., Познакирев П. Р. и др.//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1986. № 4. С. 450—452.
- 30—31. Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения. М.: Медицина, 1977. 272 с.
32. Abbas A. K., Dorf M. E., Karnovsky M. J., Unanue E. R.//J. Immunol. 1976. Vol. 116. P. 371—378.
33. Abbas A. K., Perry L. L., Bach B. A., Greeny M. I.//Ibid. 1980. Vol. 120. P. 1160—1166.
34. Abramson S., Miller R. G., Phillips R. A.//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 145. P. 1567—1579.
35. Abramson-Leeman S. R., Cantor H.//Ibid. 1983. Vol. 153. P. 428—437.
36. Acha-Orbea H., Groscurth P., Lang R. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2952—2959.
37. Acha-Orbea H., Zinkernagel R. M., Hengartner H.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 31—36.
38. Acuto O., Hussey R. E., Fitzgerald K. A. et al.//Cell. 1983. Vol. 34. P. 717—726.
39. Acuto O., Meuer S. C., Hodgdon J. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1368—1373.
40. Acuto O., Fabbi M., Smart J. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 3851—3855.
41. Acuto O., Campen T. J., Royer H. D. et al.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 1326—1343.
42. Adams D. O.//Fed. Proc. 1982. Vol. 41. P. 2193—2197.
43. Adelman N. E., Watling D. L., McDevitt H. O.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1350—1355.
44. Adorini L., Miller A., Sercarz E. E.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 871—877.
45. Adorini L., Agarossi G., Fioravanti D., Doria G.//Scand. J. Immunol. 1983. Vol. 17. P. 99—108.
46. Adorini L., Colizzi V., Doria G., Ricciardi-Castagnoli P.//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 826—830.
47. Ahmann G. B., Sachs D. H., Hodes R. J.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1981—1989.
48. Ahmann G. B., Nadler P. I., Birnkrant A., Hodes R. J.//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 2308—2313.
49. Aihara Y., Todokoro I., Katoh K. et al.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 2920—2925.
50. Aizawa S., Sado T., Muto M., Kubo E.//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 2426—2431.
51. Al-Adra A. R., Pilarski L. M.//Europ. J. Immunol. 1978. Vol. 8. P. 504—511.
52. Albert F., Buferne M., Boyer C., Schmitt-Verhulst A.-M.//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 533—549.
53. Albert F., Bayer C., Leserman L. D., Schmitt-Verhulst A.-M.//Mol. Immunol. 1983. Vol. 20. P. 655—667.
54. Albert F., Boyer C., Bufferne M., Schmitt-Verhulst A.-M.//Immunogenetics. 1984. Vol. 19. P. 279—294.
55. Allavena P., Ortaldo J. R.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 2363—2369.
56. Allen H., Wraith D., Pala P. et al.//Nature. 1984. Vol. 309. P. 279—281.
57. Allen P. M., Unanue E. R.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1074—1079.
58. Allen P. M., Matsueda G. R., Haber E., Unanue E. R.//Ibid. 1985. Vol. 135. P. 368—373.
59. Allison J. P., McIntyre B. W., Block D.//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 2293—2298.
60. Allison J. P., Ridge L., Lund J. et al.//Immunol. Rev. 1984. Vol. 81. P. 145—160.

61. Allison J. P., Lanier L. L.//*Nature*. 1985. Vol. 314. P. 107—109.
62. Alpert B., Sprent J.//*J. Exp. Med. (US)*. 1982. Vol. 155. P. 548—556.
63. Al-Sukka L., Cooke A., Hutchings P., Jones B.//*Immunology*, 1979. Vol. 38. P. 375—383.
64. Alter B. J., Grillo-Courvalin C., Bach M. L. et al.//*J. Exp. Med. (US)*. 1976. Vol. 143. P. 1005—1014.
65. Alter B. J., Bach F. H.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 2599—2601.
66. Altman A., Sterruza A., Weiner R. G., Katz D. H.//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 1365—1371.
67. Altman A., Cardenas J. M., Houghten R. A. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1984. Vol. 81. P. 2176—2180.
68. Alvarez J. M., Silva A., de Landazuri M. O.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 977—987.
69. Amsbaugh D. F., Prescott B., Baker P. J.//*Ibid.* 1978. Vol. 121. P. 1483—1485.
70. Andersson B., Skoglund A.-C., Ronnholm M. et al.//*Immunol. Rev.* 1981. Vol. 56. P. 5—50.
71. Andersson J., Grönvik K.-O., Larsson E.-L., Coutinho A.//*Europ. J. Immunol.* 1979. Vol. 9. P. 581—587.
72. Andersson J., Melchers F.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1981. Vol. 78. P. 2497—2501.
73. Andersson L. C.//*Scand. J. Immunol.* 1973. Vol. 2. P. 75—80.
74. Andersson L. C., Nordling S., Häyry P.//*J. Immunol.* 1975. Vol. 114. P. 1226—1229.
75. Ando J., Hurme M.//*Nature*. 1981. Vol. 289. P. 494—496.
76. Andrew M. E., Braciale V. L., Braciale T. J.//*J. Immunol.* 1984. Vol. 132. P. 839—844.
77. Androtti P. E.//*Ibid.* 1982. Vol. 129. P. 91—96.
78. Andrus L., Granelli-Piperno A., Reich E.//*J. Exp. Med. (US)*. 1984. Vol. 159. P. 647—652.
79. Aoki I., Minami M., Dorf M. E.//*Ibid.* 1983. Vol. 157. P. 1726—1735.
80. Aoki I., Usui M., Minami M., Dorf M. E.//*J. Immunol.* 1984. Vol. 132. P. 1735—1740.
81. Apte R. N., Eshhar Z., Lövy I. et al.//*Europ. J. Immunol.* 1981. Vol. 11. P. 931—936.
82. Araneo B. A., Yowell R. L., Sercarz E. E.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 961—967.
83. Araneo B. A., Kapp J. A.//*Ibid.* 1980. Vol. 124. P. 1492—1498.
84. Araneo B. A., Kapp J. A.//*Immunogenetics*. 1981. Vol. 14. P. 221—230.
- 84a. Araneo B. A., Yowell R. L.//*J. Immunol.* 1985. Vol. 135. P. 73—79.
85. Arce-Gomez B., Jones E. A., Barnstable C. J. et al.//*Tissue Antigens*. 1977. Vol. 11. P. 96—112.
86. Arden B., Klein J.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1982. Vol. 79. P. 2342—2346.
87. Arden B., Klotz J. L., Siu G., Hood L. E.//*Nature*. 1985. Vol. 316. P. 783—787.
88. Argyris B. F., De Lusto F.//*Cell. Immunol.* 1977. Vol. 28. P. 390—403.
89. Argyris B.//*Ibid.* 1982. Vol. 66. P. 352—359.
90. Armerding D.//*Infect. and Immun.* 1981. Vol. 30. P. 1164—1175.
91. Arnold B., Burgert H.-C., Hamann U. et al.//*Cell*. 1984. Vol. 38. P. 79—87.
- 91a. Arnold B., Horstmann U., Kuon W. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1985. Vol. 82. P. 7030—7034.
92. Arora P. K., Levy R. B., Shearer G. M.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 551—555.
93. Asano Y., Okumura K., Tada T.//*Scand. J. Immunol.* 1981. Vol. 13. P. 353—359.
94. Asano Y., Hodes R. J.//*J. Exp. Med. (US)*. 1983. Vol. 158. P. 1178—1190.
95. Asano Y., Hodes R. J.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 1061—1065.
96. Asano Y., Hodes R. J.//*Ibid.* 1984. Vol. 132. P. 1151—1157.
97. Asherson G. L., Dorf M. E., Colizzi V. et al.//*Immunology*. 1984. Vol. 53. P. 491—498.

98. Ashman R. B., Mullbacher A.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 50. P. 1277—1282.
99. Ashwell G., Harford J.//Annu. Rev. Biochem. 1982. Vol. 51. P. 531—554.
100. Ashwell J. D., DeFranco A. L., Paul W. E., Schwartz R. H.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 881—905.
101. Askenase P. W., Van Loveren H.//Immunol. Today. 1983. Vol. 4. P. 259—264.
102. Askenase P. W., Van Loveren H., Kraeuter-Kops S. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2687—2694.
103. Askonas B. A., Webster R. G.//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 151—155.
104. Askonas B. A., Lin Y. L.//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 83—87.
105. Askonas B., Mullbacher A., Ashman R. B.//Immunology. 1982. Vol. 45. P. 79—84.
106. Atassi M. Z.//Europ. J. Biochem. 1984 Vol. 145. P. 1—20.
107. Audhya T., Scheid M. P., Goldstein G.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 2847—2849.
108. Auffray C., Korman A. I., Roux-Dosseto M. et al.//Ibid. 1982. Vol. 79. P. 6337—6341.
109. Aune T. M., Pierce C. W.//J. Immunol 1981. Vol. 127. P. 1828—1833.
- 110—111. Aune T. M., Pierce C. W.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 5099—5103.
112. Auron P. E., Webb A. C., Rosenwasser L. J. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 7907—7911.
113. Austin P., Trausdale J., Rudd C. et al.//Nature. 1985. Vol. 313. P. 61—62.
114. Austyn J. M., Gordon S.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 805—815.
115. Austyn J. M., Steinman R. M., Weinstein D. E. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1101—1115.
116. Babbitt B. P., Allen P. M., Matsueda G. et al.//Nature. 1985. Vol. 317. P. 359—361.
117. Babu U. M., Sabbadini E.//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 781—785.
118. Bach B. A., Greene M. I., Benacerraf B., Nisonoff A.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 1084—1098.
119. Bach F. H.//Immunol. Today. 1985. Vol. 6. P. 89—94.
120. Bach J.-F., Dardenne M., Pleau J.-M., Rosa J.//Nature. 1977. Vol. 266. P. 55—57.
121. Bach M. A.//J. Immunol 1977. Vol. 119. P. 641—647.
- 121a. Baer R., Chen K.-C., Smith S. D., Rabbitts T. M.//Cell. 1985. Vol. 43. P. 705—713.
122. Baird S., Lesley J., Majda J., Raschke W.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 1576—1581.
123. Baker P. J., Stashak P. W., Amsbaugh D. F., Prescott B.//Ibid. 1974. Vol. 112. P. 2020—2024.
124. Baker P. E., Fakey J. V., Munck A.//Cell. Immunol. 1981. Vol. 62. P. 52—61.
125. Baldacci P., Pozo F., Gisselbrecht S., Kourilsky P.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158 P. 1294—1306.
126. Balk S. P., Mescher M. F.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 51—57.
127. Balk S., Walker J., Mescher M. F.//Ibid. Vol. 126. P. 2174—2183.
128. Ball E. J., Stastny P.//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 157—169.
129. Ballas Z. K., Henney C. S.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1696—1704.
130. Barbosa J. A., Mentzer S. J., Minowada G.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 7549—7553.
131. Barcinski M. A., Rosenthal A. S.//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 145. P. 726—742.
132. Barclay A. N., Mayrhofer G.//Ibid. 1981. Vol. 153. P. 1666—1671.
133. Barth R. K., Kim B. S., Lan N. C. et al.//Nature. 1985. Vol. 316. P. 517—523.
134. Barthold D. R., Stashak P. W., Amsbaugh D. F. et al.//Cell. Immunol. 1973. Vol. 6. P. 315—323.
135. Barton R., Goldschneider I., Bollum F. J.//J. Immunol. 1976. Vol. 116. P. 462—468.

136. *Basch R. S., Goldstein G.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1974. Vol. 71. P. 1474—1478.
137. *Basch R. S., Kadish J. L.*//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 145. P. 405—419.
138. *Basch R. S., Kadish J. L., Goldstein G.*//Ibid. 1978. Vol. 147. P. 1843—1848.
139. *Basch R. S., Berman J. W.*//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 359—364.
140. *Bash J. A., Singer A. M., Waksman B. H.*//J. Immunol. 1976. Vol. 116. P. 1350—1353.
141. *Basten A., Miller J. F. A. P., Abraham R.*//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 141. P. 547—560.
142. *Basten A., Miller J. F. A. P., Loblay R. et al.*//Europ. J. Immunol. 1978. Vol. 8. P. 360—370.
143. *Batchelor J. R., Phillips B. E., Grennan D.*//Transplantation. 1984. Vol. 37. P. 43—46.
144. *Battisto R., Beckman K., Yen-Lieberman B.*//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 2131—2138.
145. *Batuman O. A., Caro J., Schmidt R. R., Hauptman S. P.*//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 1051—1055.
146. *Baum L. L., Pilarski L. M.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1579—1591.
147. *Baum L. L., Pilarski L. M.*//Transplantation. 1981. Vol. 32. P. 409—414.
- 147a. *Baumhüter S., Bron C., Corradin G.*//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 989—994.
148. *Baxevanis C. N., Nagy Z. A., Klein J.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 3809—3813.
149. *Baxevanis C. N., Ishii N., Nagy Z. A., Klein J.*//Scand. J. Immunol. 1982. Vol. 16. P. 25—31.
- 149a. *Baxevanis C. N., Ioannides C.-D. G., Papamichail M.*//Europ. J. Immunol. 1986. Vol. 16. P. 361—365.
150. *Beaman K. D., Ruddle N. H., Bothwell A. L. M., Cone R. E.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 1524—1528.
151. *Beardsley T. R., Pierschbacher M., Wetzel G. D., Hays E. F.*//Ibid. 1983. Vol. 80. P. 6005—6009.
152. *Beck B. N., Frelinger J. G., Shigeta M. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1186—1194.
153. *Beck B. N., Infante A. J., Fathman C. G.*//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 568—571.
154. *Beck B. N., Nelson P. A., Forman C. G.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1396—1404.
155. *Becker D. M., Patten P., Chien Y.-H. et al.*//Nature. 1985. Vol. 317. P. 430—434.
156. *Beckwith M., Rich S. S.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 791—796.
157. *Beckwith M., Rich S.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1853—1867.
158. *Beer A. E., Billingham E. R.*//Ciba Found Symp. 1979. Vol. 64. P. 293—322.
159. *Beller D. I., Unanue E. R.*//J. Immunol. 1977. Vol. 118. P. 1780—1787.
160. *Beller D. I., Unanue E. R.*//Ibid. 1978. Vol. 121. P. 1861—1864.
161. *Beller D. I., Kiely J.-M., Unanue E. R.*//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1426—1432.
162. *Beller D. I., Unanue E. R.*//Ibid. 1981. Vol. 126. P. 263—269.
163. *Beller D. I., Ho K.*//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 971—976.
164. *Bellgrau D., Zöller M.*//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 2005—2007.
165. *Belsito D. V., Sanchez M. R., Bear R. L. et al.*//New England. J. Med. 1984. Vol. 310. P. 1279—1282.
166. *Benacerraf B., Germain R. N.*//Immunol. Rev. 1978. Vol. 38. P. 70—119.
167. *Benacerraf B., Germain R. N.*//Fed. Proc. 1979. Vol. 38. P. 2053—2057.
168. *Benca R., Quintans J., Kearney J. F. et al.*//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 823—831.
169. *Bendtzen K.*//Scand. J. Immunol. 1981. Vol. 14. P. 427—431.
170. *Benjamin D. C.*//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 311—314.

171. Benjamin D. C., Berzofsky J. A., East I. J. et al.//Annu. Rev. Immunol. 1984. Vol. 2. P. 68—101.
172. Ben-Nun A., Lando Z., Dorf M. E., Burakoff S. J.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 2147—2153.
173. Ben-Nun A., Strauss W., Leeman S. A. et al.//Immunogenetics. 1985. Vol. 22. P. 123—130.
174. Benoist C. O., Mathis D. J., Kanter M. R. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 534—538.
175. Ben-Sasson S. Z., Lipscomb M. F., Tucker T. F., Uhr J. W.//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 1493—1500.
176. Bensussan A., Acuto O., Hussey R. E. et al.//Nature. 1984. Vol. 311. P. 565—567.
177. Beraud E., Varriale S., Farnarier C., Bernard D.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 926—930.
178. Berke G., Amos D. B.//Nature. 1973. Vol. 242. P. 237—238.
179. Berke G., Gabison D.//Europ. J. Immunol. 1975. Vol. 5. P. 671—675.
180. Berke G., Tzur R., Inbar M.//Ibid. 1978. Vol. 120. P. 1378—1384.
181. Berke G., Fishelson Z., Shick B.//Transplant. Proc. 1979. Vol. 11. P. 804—807.
182. Berke G.//Progr. Allergy. 1980. Vol. 27. P. 69—133.
183. Berke G., McVey E., Hu V., Clark W. R.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 782—787.
184. Berke G., Clark W. R.//Adv. Exp. Med. Biol. 1982. Vol. 146. P. 57—68.
185. Berke G.//Immunol. Rev. 1983. Vol. 72. P. 5—42.
186. Berkower I., Buckenmeyer G. K., Gurd F. R. N., Berzofsky J. A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 4723—4727.
187. Berkower I., Matis L. A., Buckenmeyer G. K. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1370—1378.
188. Berkower I., Kawamura H., Matis L. A., Berzofsky J. A.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 2628—2634.
189. Berman J. W., Basch R. S.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 1718—1722.
190. Bernabeu C., van de Rijn M., Lench P. G., Terhorst C. P.//Nature. 1984. Vol. 308. P. 642—644.
191. Bernards R., Schreier P. I., Houweling A. et al.//Ibid. 1983. Vol. 305. P. 776—779.
192. Berrih S., London J., Bonavida B., Bach J. F.//J. Immunol. Meth. 1981. Vol. 41. P. 235—245.
193. Berzofsky J. A., Richman L. K., Killion D. J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1979. Vol. 76. P. 4046—4050.
194. Besedovsky H. O., del Rey A., Sorkin E.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1351—1358.
195. Bevan M. J.//Nature. 1977. Vol. 269. P. 417—419.
196. Bevan M. J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 2094—2098.
197. Bhattacharya A., Dorf M. E., Springer T. A.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2488—2495.
198. Bialick R., Gill R., Berke G., Clark W. R.//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 81—87.
199. Bianchi A. T. J., Bril H., Benner R.//Nature. 1983. Vol. 301. P. 614—616.
200. Biasi G., Saggin L., Dazzi F. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1447—1450.
201. Biddison W. E., Hansen T. H., Levy R. B., Doherty P. C.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1678—1691.
202. Biddison W. E., Kostyn D. D., Strominger J. L., Krangel M. S.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 730—734.
203. Biddison W. E., Rao P. E., Talle M. A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1065—1075.
204. Biddison W. E., Rao P. E., Talle M. A. et al.//Ibid. 1984. Vol. 159. P. 783—797.
205. Binz H., Wigzell H.//Contemp. Top. Immunobiol. 1977. Vol. 7. P. 113—177.
206. Binz H., Frischknecht M., Mercolli C. et al.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1084—1097.

207. Binz H., Wigzell H. //Ibid. 1981. Vol. 154. P. 1261—1278.
208. Binz H., Fenner M., Frei D., Wigzell H. //Ibid. 1983. Vol. 157. P. 1252—1260.
209. Birmingham J. R., Chesnut R. W., Kappler J. W. et al. //J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1491—1493.
210. Birnbaum D., Pla M., Colombani M., Colombani J. //Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 71—77.
211. Birx D. L., Berger M., Fleisher T. A. //J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 2904—2909.
212. Bismuth G., Sommé G., Roth C. et al. //Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 503—510.
213. Bixler G. S., Atassi M. Z. //J. Immunogenet. 1984. Vol. 11. P. 229—353.
214. Bixler G. S., Yoshida T., Atassi M. Z. //Ibid. P. 327—337.
215. Blanden R. V., Dunlop M. B. C., Doherty P. C. et al. //Immunogenetics. 1976. Vol. 3. P. 541—548.
216. Blanden R. V., Kees U., Dunlop M. B. C. //J. Immunol. Meth. 1977. Vol. 16. P. 73—89.
217. Blanden R. V., Kees U. //J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1661—1670.
218. Blanden R. V., Pang T. //Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci. 1978. Vol. 56. P. 69—80.
219. Bleackley R. C., Havele C., Paetkau V. //J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 758—767.
220. Blomgren H., Svedmyr E. //Cell. Immunol. 1971. Vol. 2. P. 285—299.
221. Blomgren H., Jacobsson H. //Ibid. 1974. Vol. 12. P. 296—308.
- 221a. Blue M.-L., Daley J. F., Levine H., Schlossman S. F. //Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 8178—8182.
222. Bluestone J. A., McKenzie T. E., Melvold R. W. et al. //J. Immunogenet. 1984. Vol. 11. P. 197—208.
223. Bluestone J. A., Potter T. A., Chatterjee-Hasroum S., Rajan T. V. //J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 1168—1173.
224. Bluestone J. A., Foo M., Allen H. et al. //J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 265—281.
225. Blumanthal E. J., Roberts W. K., Vasil A., Talmage D. W. //Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 2031—2035.
226. Bodger M. P., Francis G. E., Delia D. et al. //J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2269—2274.
227. Boersma W. J. A., Duculsi R., van der Westen G. //Cell. and Tissue Kinet. 1981. Vol. 14. P. 197—210.
228. Boersma W. J. A., Kohenberg E., van der Westen G., Haaijman J. J. //Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 615—619.
229. Bolhuis R. L. H., Schellekens H. //Scand. J. Immunol. 1981. Vol. 13. P. 401—412.
230. Bona C., Paul W. //J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 592—600.
231. Bona M. R., Strominger J. L. //Nature. 1982. Vol. 299. P. 836—837.
232. Bonavida B. //J. Immunol. 1974. Vol. 112. P. 1308—1321.
233. Bonavida B., Bradley T., Fan J. et al. //Immunol. Rev. 1983. Vol. 72. P. 119—141.
234. Bonavida B., Lebow L. T., Bradley T. P. //J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 594—598.
235. Bongrand P., Pierres M., Golstein P. //Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 424—429.
- 235a. Boog C. J. P., Kast W. M., Timmers H. Th. M. et al. //Nature. 1985. Vol. 318. P. 59—62.
236. Born W., Wekerle H. //J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 51—59.
237. Born W., Yague J., Palma E. et al. //Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 2925—2929.
238. Borst J., Coligan J. E., Oettgen H. et al. //Nature. 1984. Vol. 312. P. 455—458.
239. Borysiewicz L., Morris S., Page J. D., Sissons J. G. P. //Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 804—809.

240. Bottomly K., Mathieson B. J., Mosier D. E.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1216—1227.
241. Bottomly K., Mosier D. E.//Ibid. 1981. Vol. 154. P. 411—421.
242. Boyd H. C., Potter T. A., Rajan T. V. et al.//Immunogenetics. 1983. Vol. 18. P. 183—187.
243. Boylston A. W., Goldin R. D., Moore C. S.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 273—275.
244. Boyse E. A., Beauchamp G. K., Yamazaki K. et al.//Oncodevelop. Biol. Med. 1982. Vol. 4. P. 101—116.
245. Boyse E. A.//Cell. 1984. Vol. 38. P. 1—2.
246. Braciale T. J., Yap K. L.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1236—1252.
247. Braciale T. J.//Ibid. 1979. Vol. 149. P. 856—869.
248. Braciale T. J., Andrew M. E., Braciale V. L.//Ibid. 1981. Vol. 153. P. 1371—1376.
249. Braciale T. J., Mojcik C. F., Hauptfeld V.//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 41—52.
250. Braciale T. J., Braciale V. L., Henkel T. J. et al.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 341—354.
251. Bradley S. M., Kruisbeck A. M., Singer A.//Ibid. 1982. Vol. 156. P. 1650—1664.
252. Bradley S. M., Morrissey P. J., Sharrow S. O., Singer A.//Ibid. Vol. 155. P. 1638—1652.
253. Bradley T. P., Bonavida B.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2260—2265.
254. Bradley T. P., Bonavida B.//Ibid. P. 2352—2356.
255. Braley-Mullen H.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 42—54.
256. Brandy L. M., Mishell R. I.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 3155—3159.
257. Braun M., Saal F.//Cell. Immunol. 1977. Vol. 30. P. 254—260.
258. Brenner M. B., Trowbridge I. S., McLean J., Strominger J. L.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 541—551.
- 258a. Brenner M. B., McLean J., Yang S. Y. et al.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 384—390.
259. Brent L., Opara S. C.//Transplantation. 1979. Vol. 27. P. 120—126.
260. Bretscher P. A.//Scand. J. Immunol. 1985. Vol. 20. P. 519—525.
261. Brideau R. J., Carter P. B., McMaster W. R. et al.//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 609—615.
262. Broff M. D., Jonsen M. E., Geha R. S.//Ibid. 1981. Vol. 11. P. 365—371.
263. Brondz B. D.//Folia biol. (CSSR), 1968. Roč. 14. S. 115—131.
264. Brondz B. D.//Transplant. Proc. 1969. Vol. 1. P. 416—419.
265. Brondz B. D., Golberg N. E.//Folia biol. (CSSR). 1970. Roč. 16. S. 20—28.
266. Brondz B. D., Snegiröva A. E.//Immunology. 1971. Vol. 20. P. 457—468.
267. Brondz B. D.//Transplant. Rev. 1972. Vol. 10. P. 112—151.
268. Brondz B. D., Snegiröva A. E., Rassulin Y. A., Shamborant O. G.//Immunochemistry. 1973. Vol. 10. P. 175—189.
269. Brondz B. D., Yelisejeva L. S., Kotomina I. F., Egorova S. G.//Scand. J. Immunol. 1973. Vol. 2. P. 463—477.
270. Brondz B. D., Egorov I. K., Drizlikh G. I.//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 141. P. 11—26.
271. Brondz B. D., Egorova S. G., Kotomina I. F.//Europ. J. Immunol. 1975. Vol. 5. P. 733—741.
272. Brondz B. D., Andreev A. V., Egorova S. G., Drizlikh G. I.//Scand. J. Immunol. 1979. Vol. 10. P. 195—206.
273. Brondz B. D., Karaulov A. V., Abronina I. F., Blandova Z. K.//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 833—849.
274. Brondz B. D., Karaulov A. V., Abronina I. F., Blandova Z. K.//Scand. J. Immunol. 1981. Vol. 13. P. 517—534.
275. Brondz B. D.//Sov. Sci. Rev. 1982. Vol. 3. P. 371—435.
276. Brondz B. D., Karaulov A. V., Chervonsky A. V., Blandova Z. K.//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 167—176.

277. Brondz B. D., Zaitseva M. B., Abronina I. F., Blandova Z. K.//J. Immunogenet. 1983. Vol. 10. P. 425—438.
278. Brondz B. D., Abronina I. F., Zaitseva M. B. et al.//Immunol. Rev. 1984. Vol. 80. P. 31—76.
279. Brooks C. G.//J. Immunol. Meth. 1978. Vol. 22. P. 23—36.
280. Brooks C. G.//Nature. 1983. Vol. 305. P. 155—158.
281. Bruce J., Symington F. W., McKearn T. J., Sprent J.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2496—2501.
282. Br uner K., Opitz H. G., K lisch F.//Immunobiology. 1982. Vol. 162. P. 221—228.
283. Brunner K. T., Mauel J., Cerottini J.-C., Chapuis B.//Immunology. 1968. Vol. 14. P. 181—196.
284. Brunner K. T., MacDonald H. R., Cerottini J.-C.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 362—373.
285. Bubbers J. E., Henney C. S.//J. Immunol. 1975. Vol. 114. P. 1126—1131.
286. Bubbers J. E., Chen S., Lilly F.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 340—351.
287. Bubenik J., Perlmann P., Indrova M. et al.//Cancer Immunol. and Immunother. 1983. Vol. 14. P. 205—206.
288. Buchmuller Y., Corradin G.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 412—416.
289. Bukowski J. F., Welsh R. M.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 257—262.
290. Bullock W. E., Carlson E. M., Gershon R. K.//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 1709—1716.
291. Bunjes D., Hardt C., R llinghoff M., Wagner H.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 657—661.
292. Burakoff S. J., Finberg R., Glimcher L. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1414—1422.
293. Burger D. R., Ford D., Vetto R. M. et al.//Human Immunol. 1981. Vol. 3. P. 209—230.
294. Burger R., Shevach E. M.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 1011—1023.
295. Burleson R., Levey R. H.//Cell. Immunol. 1972. Vol. 4. P. 333—345.
296. Burns F. D., Marrack P. C., Kappler J. W., Janeway C. A.//J. Immunol. 1975. Vol. 114. P. 1345—1347.
297. Burns G. F., Triglia T., Bartlett P. F., Mackay I. R.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 7606—7610.
298. Burns G. F., Triglia T., Werkmeister J. A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 1063—1078.
299. Burnside S. S., Hunt P., Ozato K., Sears D. W.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 5204—5208.
300. Burton R. C., Plate J. M. D.//Cell. Immunol. 1981. Vol. 58. P. 225—238.
301. Burton R. C., Russell P. S.//Transplantation. 1981. Vol. 31. P. 445—449.
- 301a. Bushkin V., Tung J.-S., Pinter A. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1986. Vol. 83. P. 432—436.
302. Butler J. L., Falkoff R. J. M., Fauci A. S.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 2475—2478.
303. Butler L. D., Miller S. D., Claman H. N.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1963—1967.
304. Bykovskaja S. N., Rytenko A. N., Rauschenbach M. O., Bykovsky A. F.//Cell. Immunol. 1978. Vol. 40. P. 164—174.
305. Bykovskaja S. N., Sergeev A. V., Rauschenbach M. O., Bykovsky A. F.//Scand. J. Immunol. 1980. Vol. 11. P. 261—270.
306. Bykovskaja S. N., Kupriyanova T. A., Raushenbach M. O.//Sov. Sci. Rev. 1984. Vol. 4. P. 41—107.
307. Caccia N., Kronenberg M., Saxe D. et al.//Cell. 1984. Vol. 37. P. 1091—1099.
308. Caccia N., Bruns G. A., Kirsch I. R. et al.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 1255—1260.
309. Cahill G. F., McDevitt H. O.//New England. J. Med. 1981. Vol. 304. P. 1454—1465.

310. Calamai E. G., Beller D. I., Unanue E. R.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1692—1695.
311. Callahan G. N., Allison J. P., Pellegrino M. A., Reisfeld R. A.//Ibid. 1979. Vol. 122. P. 70—74.
312. Callard R. E., Fazekas de St. Groth B., Basten A., McKenzie I. F. C.//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 52—58.
313. Campbell A. E., Foley F. L., Tevethia S. S.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 490—492.
314. Campbell D. C., Williams A. F., Bayley P. M., Reid K. B. M.//Nature. 1979. Vol. 282. P. 341—343.
315. Cantor H., Jandinski J.//J. Exp. Med. (US). 1974. Vol. 140. P. 1712—1716.
316. Cantor H., Boyse E. A.//Ibid. 1975. Vol. 141. P. 1376—1389.
317. Cantor H., Boyse E. A.//Ibid. P. 1390—1399.
318. Cantor H., Simpson E.//Europ. J. Immunol. 1975. Vol. 5. P. 330—336.
319. Cantor H., Simpson E., Sato V. L. et al.//Cell. Immunol. 1975. Vol. 15. P. 180—191.
320. Cantor H., Hugenberg J., McVay-Boudreau L. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 871—877.
321. Cantor H., McVay-Boudreau L., Herzenberg J. et al.//Ibid. Vol. 147. P. 1116—1125.
322. Cantrell D. A., Smith K. A.//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 1895—1911.
323. Caplan B., Gibbs C., Paetkau V.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 1351—1354.
324. Carchon H.-J., Levy-Strauss M., Carnaud C., Bach J.-F.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 777—780.
325. Carnaud D., Ishizaka S. T., Stulman O.//Ibid. 1984. Vol. 133. P. 45—49.
326. Carpen O., Virtanen I., Saksela E.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 2691—2696.
327. Carroll M. C., Passmore H. C., Capra J. D.//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1745—1749.
328. Carter R. H., Drebin J. A., Schatten S. et al.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 997—1002.
329. Cartwright G. S., Smith L. M., Heinzelmann E. W. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 1506—1510.
330. Castellanos R. C., Leizerovitz R., Kaiser N. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 121—129.
331. Cayre Y., Palladiho M. A., Mareu K. B., Stavnezer J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 3814—3818.
332. Ceredig R., Glasebrook A. L., MacDonald H. R.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 358—379.
333. Ceredig R., MacDonald H. R.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 614—620.
334. Ceredig R., Dialynas D. P., Fitch F. W., MacDonald H. R.//J. Exp. Med. 1983. Vol. 158. P. 1654—1671.
335. Ceredig R., Lowenthal J. W., Nabholz M., MacDonald H. R.//Nature. 1985. Vol. 314. P. 98—100.
336. Cerny J., Cronkhite R., Heusser C.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 244—248.
337. Cerottini J.-C., Brunner K. T.//Nature. New Biol. 1972. Vol. 237. P. 272—273.
338. Cerottini J.-C., MacDonald H. R.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 490—496.
339. Challacombe S. J., Tamari T. B.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 1459—1472.
340. Chan E. L., Henry C.//J. Immunol. 1976. Vol. 117. P. 1132—1138.
341. Chan E. L., Kan P. B., Mishell R. I.//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 1391—1396.
342. Chan M. M., Tada N., Kimura S. et al.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 2075—2078.
343. Chang M.-P., Makinodan T., Peterson W. J., Strehler B. L.//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 2426—2430.
344. Chang T. W., Celis E., Eisen H. N., Salomon F.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1979. Vol. 76. P. 2917—2921.
345. Chang T. W., Eisen H. N.//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 1028—1033.

346. Chang T. W., Kung P. C., Gingras S. P., Goldstein G.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1805—1808.
347. Chaouat G.//Cell. Immunol. 1978. Vol. 36. P. 1—14.
348. Chaouat G., Veisin G. A.//Immunology. 1981. Vol. 44. P. 393—400.
349. Chaouat G., Mathieson B. J., Asofsky R.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 502—508.
350. Chapdelaine J. M., Rajan T. V., Nathenson S. G., Lilly F.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 429—436.
351. Chauvenet P. H., McArthur C. P., Smith R. T.//J. Immunol. 1979. Vol. 128. P. 2575—2581.
352. Cheever M. A., Greenberg P. D., Fefer A., Gillis S.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 968—980.
353. Cheever M. A., Greenberg P. D., Irle C. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 2259—2265.
354. Chensue S. W., Boros D. L., David C. S.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 219—230.
355. Chernyahovskaja I. Ju., Prigogina T. B., Shaposhnikova G. B. et al.//Transplantation. 1980. Vol. 29. P. 409—412.
356. Chesnut R. W., Endres R. O., Grey H. M.//Clin. Immunol. and Immunopathol. 1980. Vol. 15. P. 397—408.
357. Chesnut R. W., Colon S. N., Grey H. M.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1764—1768.
358. Chesnut R. W., Colon S. M., Grey H. M.//Ibid. Vol. 129. 2382—2388.
359. Chi D. S., Grebenau M. D., Thorbecke G. J.//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 203—209.
360. Chien Y.-H., Gascoigne N. R. J., Kavalier J. et al.//Nature. 1984. Vol. 309. P. 322—326.
361. Chien Y.-H., Becker D. M., Lindsten T. L. et al.//Ibid. Vol. 312. P. 31—35.
362. Chin K. M., Faanes R. B., Choi Y. S.//Cell. Immunol. 1980. Vol. 49. P. 283—292.
363. Ching L.-M., Miller R. G.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2345—2351.
364. Chiorazzi N., Fox D. A., Katz D. H.//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 48—54.
365. Chouaib S., Fradelizi D.//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 2463—2468.
366. Christadoss P., Lennon V. A., David C.//Ibid. 1979. Vol. 123. P. 2540—2549.
367. Christiaansen J. E., Sears D. W.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 4945—4949.
368. Chu E. T., Rosenwasser C. J., Dinarello C. A. et al.//Ibid. 1984. Vol. 81. P. 4945—4949.
369. Ciavarra R., Forman J.//Immunol. Rev. 1981. Vol. 58. P. 73—94.
370. Claesson M. H., Miller R. G.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 1702—1716.
- 370a. Claesson-Welch L., Peterson P. A.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 3551—3557.
371. Clark A. F., Capra J. D.//J. Exp. Med., 1982. Vol. 155. P. 611—616.
372. Clark D. A., McDermott M. R.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 1267—1272.
373. Clark R. B., Shevach E. M.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 635—640.
374. Clark W., Nedrud J.//Cell. Immunol. 1974. Vol. 10. P. 159—164.
375. Clark-Lewis J., Schrader J. W.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 175—180.
376. Clason A. E., Duarte A. J. S., Kupiec-Weglinski J. W. et al.//Ibid. Vol. 129. P. 252—259.
377. Clayberger C., DeKruyff R. H., Aisenberg J., Cantor H.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1906—1919.
378. Clayberger C., DeKruyff R. H., Fay R., Cantor H.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 183—187.
379. Cleveland W. L., Erlanger B. F.//Mol. Immunol. 1984. Vol. 21. P. 1037—1046.

380. *Cohen J. J., Fairchild S. S.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1979. Vol. 76. P. 6587—6590.
381. *Cohen J. J., Duke R. C.*//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 38—42.
382. *Cohn M., Epstein R.*//J. Cell. Immunol. 1978. Vol. 39. P. 125—153.
383. *Coligan J. E., Kindt T. J., Nairn R. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 1134—1138.
384. *Coligan J. E., Kindt T. J., Uehara H. et al.*//Nature. 1981. Vol. 291. P. 35—39.
385. *Collins J. K., Britt W. J., Chesebro B.*//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 1318—1324.
386. *Collins M. K. L., Goodfellow P. N., Spurr N. K. et al.*//Nature. 1985. Vol. 314. P. 273—274.
387. *Collins M. K. L., Tanigawa G., Kissonerghis A.-M. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 4503—4507.
388. *Collins T., Kopman A. J., Wake C. T. et al.*//Ibid. 1983. Vol. 81. P. 4917—4921.
389. *Comeglio P. M., Prut M., Bretli S.*//Immunology. 1985. Vol. 54. P. 289—295.
390. *Cone R. E., Rosenstein R. W., Murray J. H. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 6411—6415.
391. *Conlon P. J., Henney C. S., Gillis S.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 797—801.
392. *Conlon P. J., Ramthun C. A., Henney C. S., Gillis S.*//Ibid. Vol. 129. P. 11—17.
393. *Conlon P. J.*//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 1280—1282.
394. *Conrad P. J., Lerner E. A., Murphy D. B. et al.*//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 2616—2620.
395. *Conta B. S., Powell M. B., Ruddle N. H.*//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 2231—2235.
396. *Conwa T. A., Picker L. J., Raff H. V. et al.*//Ibid. P. 706—711.
397. *Cook R. G., Vitetta E. S., Uhr J. W., Capra J. D.*//Mol. Immunol. 1979. Vol. 16. P. 29—35.
398. *Cooley M. A.*//Scand. J. Immunol. 1978. Vol. 7. P. 371—380.
399. *Corradin G., Engers H. D.*//Nature. 1984. Vol. 308. P. 547—548.
400. *Coutinho A., Forni L., Blomberg B.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 862—870.
401. *Coutinho A., Meo T., Honjo T. et al.*//Scand. J. Immunol. 1983. Vol. 18. P. 79—100.
402. *Cowan E. P., Schwartz B. D., Cullen S. E.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2019—2025.
403. *Cowan E. P., Coligan J. E., Biddison W. E.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 4490—4494.
404. *Cowdery J. S., Johlin B. J.*//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 2783—2789.
405. *Cowens J. W., Ozer H., Ehrke M. J. et al.*//Ibid. P. 95—100.
406. *Cowing C., Pincus S. H., Sachs D. H., Dickler H. B.*//Ibid. 1978. Vol. 121. P. 1680—1686.
407. *Cowing C., Chapdelaine J. M.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6000—6004.
408. *Cramer M., Krawinkel U., Melchers I. et al.*//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 332—338.
409. *Croce C. M., Linnebach A., Huebner K. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 5754—5758.
410. *Crone M., Koch C., Simonsen M.*//Transplant. Rev. 1972. Vol. 10. P. 36—56.
411. *Cullen S. E., Freed J. H., Nathanson S. G.*//Ibid. 1976. Vol. 30. P. 236—270.
412. *Cullen S. E., Kindle C. S., Littman D. R.*//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 855—859.
413. *Cullen S. E., Kindle C. S., Shreffler D. C., Cowing C.*//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 1478—1484.

414. *Curtis A. S., Rooney P.*//*Nature*. 1979. Vol. 281. P. 222—223.
415. *Czitrom A. A., Sunshine G. H., Mitchison N. A.*//*Immunogenetics*. 1980. Vol. 11. P. 97—102.
416. *Czitrom A. A., Sunshine G. H., Reme T. et al.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 546—550.
417. *Daéron M., Néauport-Sautès C., Yodoi J. et al.*//*Europ. J. Immunol.* 1985. Vol. 15. P. 668—674.
418. *Daéron M., Yodoi J., Néauport-Sautès C. et al.*//*Ibid.* P. 662—667.
419. *Dailey M. O., Fathman C. G., Butcher E. C. et al.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 2134—2136.
420. *Dailey M. O., Pillemer E., Weissman I. L.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1982. Vol. 79. P. 5384—5387.
421. *Dales S., Fujinami R. S., Oedstone M. B. A.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 1332—1338.
422. *Dallman M. J., Mason D. W., Webb M.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 511—518.
423. *Damle N. K., Engleman E. G.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1983. Vol. 158. P. 159—173.
424. *Damle N. K., Mohagheghpour N., Hansen J. A., Engleman E. G.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 2296—2300.
425. *Damle N. K., Mohagheghpour N., Engleman E. G.*//*Ibid.* 1984. Vol. 132. P. 644—650.
426. *Damle N. K., Mohagheghpour N., Engleman E. G.*//*Ibid.* Vol. 133. P. 1235—1240.
427. *Darrow T. L., Tomar R. H.*//*Cell. Immunol.* 1980. Vol. 56. P. 172—183.
428. *David C. S., Shreffler D. C., Freilinger J. A.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1973. Vol. 70. P. 2509—2514.
429. *David C. S., Meo T., McCormick J., Shreffler D. C.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1976. Vol. 143. P. 218—224.
430. *David C. S., Neely B. S., Cullen S. E.*//*Ir genes and Ia antigens*/Ed. H. O. McDevitt. N. Y.: Acad. press, 1978. P. 255—262.
431. *Davies F. M., Tsao T. Y., Fowler S. K., Rao P. N.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1983. Vol. 80. P. 2926—2930.
432. *Davignon D. J., Laux D. C.*//*Cell. Immunol.* 1978. Vol. 41. P. 294—303.
433. *Davignon D. J., Martz E., Reynolds T. et al.*//*J. Immunol.* 1981. Vol. 127. P. 590—595.
434. *Davignon J. L., Guimezanes A., Schmitt-Verhulst A.-M.*//*Ibid.* 1983. Vol. 131. P. 1073—1079.
435. *Davis M. M., Chien Y., Gascoigne N. R. J., Hedrick S. M.*//*Immunol. Rev.* 1984. Vol. 81. P. 235—258.
436. *Day C. E., Jones P. P.*//*Nature*. 1983. Vol. 302. P. 157—159.
437. *Dayton E. T., Perussia B., Trinchieri C.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 1120—1129.
438. *Debré P., Kapp J. A., Dorf M. E., Benacerraf B.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1975. Vol. 142. P. 1447—1454.
439. *Debré P., Waltenbaugh C., Dorf M. E., Benacerraf B.*//*Ibid.* 1976. Vol. 144. P. 277—281.
440. *DeFabo E. C., Noonan F. P.*//*Ibid.* 1983. Vol. 158. P. 84—98.
441. *DeFranco A., Raveche E., Asofsky R., Paul W. E.*//*Ibid.* 1982. Vol. 155. P. 1523—1536.
442. *DeKruyff R. H., Kim Y. T., Siskind G. W., Weksler M. E.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 125. P. 142—147.
443. *DeKruyff R. H., Clayberger C., Cantor H.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1983. Vol. 158. P. 1881—1894.
444. *Deltraissy J.-F., Wallon C., Boué F. et al.*//*Europ. J. Immunol.*, 1985. Vol. 15. P. 433—438.
- 444a. *DeLisi C., Berzofsky J. A.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1985. Vol. 82. P. 7048—7052.
445. *Delovitch T. L., Barber B. M.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1979. Vol. 150. P. 100—107.
446. *del Rey A., Besedovsky H., Sorkin E.*//*Cell. Immunol.* 1980. Vol. 56. P. 217—224.

447. *Démant P., Ivanyi D., Oudsnoorn-Snock M. et al.*//Immunol. Rev. 1981. Vol. 60. P. 6—21.
448. *Dembic Z., Bannwarth W., Taylor B. A., Steinmetz M.*//Nature. 1985. Vol. 314. P. 271—272.
- 448a. *Dembic Z., Haas W., Weiss S. et al.*//Ibid. 1986. Vol. 320. P. 232—238.
449. *Dennert G., Lennox E.*//J. Immunol. 1974. Vol. 113. P. 1553—1561.
450. *Dennert G., Hyman R.*//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 583—589.
451. *Dennert G., Podack E. R.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1483—1495.
452. *Dennison D. K., Rich S. S., Rich R. R.*//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2176—2182.
453. *Depper J. M., Leonard W. J., Robb R. J. et al.*//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 690—696.
454. *Depper J. M., Leonard W. J., Dragula C. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 4230—4234.
- 454a. *De Santis R., Givol D., Hsu P.-L. et al.*//Ibid. 1985. Vol. 82. P. 8638—8642.
455. *Despont J. P., Abel C. A., Grey H. M.*//Cell. Immunol. 1975. Vol. 17. P. 487—494.
456. *Dessaint J.-P., Katz S. P., Waksman B. H.*//J. Immunopharmacology. 1979. Vol. 1. P. 399—414.
457. *De Vries J. E., Vith F. A., Mendelsohn J.*//Clin. and Exp. Immunol. 1981. Vol. 43. P. 302—310.
458. *de Waal L. P., Melief C. J. M., Melvold R. W.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 258—265.
459. *de Waal L. P., Kast W. M., Melvold R. V., Melief C. J. M.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1090—1096.
460. *de Waal L. P., Melvold R. W., Melief C. J. M.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1537—1546.
461. *de Waal L. P., Nathenson S. G., Melief C. J. M.*//Ibid. P. 1720—1726.
462. *de Waal R. M. W., Lems S. P. M., Koene R. A. P.*//Transplantation. 1979. Vol. 27. P. 376—379.
463. *de Waal R. M. W., Bogman M. J. J., Maass C. N. et al.*//Nature. 1983. Vol. 303. P. 426—428.
464. *D'Hoostelaere L. A., Jouvin-Marche E., Huppi K.*//Immunogenetics. 1985. Vol. 22. P. 277—283.
465. *Dialynas D. P., Loken M. R., Glasebrook A. L., Fitch F. W.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 595—604.
466. *Dialynas D. P., Quan Z. S., Wall K. A. et al.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2445—2451.
467. *Dialynas D. P., Wilde D. B., Marrack P. et al.*//Immunol. Rev. 1983. Vol. 74. P. 29—56.
468. *Diamenstein T., Klos M., Reimann J.*//Immunology. 1984. Vol. 43. P. 183—184.
469. *Diamond A. C., Butcher G. W., Howard J. C.*//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1169—1175.
470. *Dick M. D., Benjamin W. R., Masuno T. et al.*//Fed. Proc. 1983. Vol. 42. P. 1243 (abstr. 5573).
471. *Dietz M. H., Sy M.-S., Benacerraf B. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 450—463.
472. *Dobberstein B., Garoff H., Warren G., Robinson P. J.*//Cell. 1979. Vol. 17. P. 759—769.
- 472a. *Dohi Y., Higara M., Nishimura M. et al.*//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 47—52.
473. *Dokhélar M.-C., Garson D., Testa U., Tursz T.*//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 340—344.
474. *Donohue J. H., Rosenberg S. A.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2203—2208.
475. *Donohue J. H., Rosenstein M., Chang A. E. et al.*//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 2123—2128.

476. Dorf M. E., Stimpfling J. H., Benacerraf B.//Ibid. 1979. Vol. 123. P. 269—271.
477. Dorf M. E.//The Role of the Major Histocompatibility Complex in Immunobiology/Ed. M. E. Dorf. N. Y.: Garland STPM press, 1981. P. 221—253.
478. Dorf M. E., Benacerraf B.//Annu. Rev. Immunol. 1984. Vol. 2. P. 127—158.
479. Doria G., Mancini C., Adorini L.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 3803—3807.
480. Dos Reis G. A., Shevach E. M.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2456—2460.
481. Dos Reis G. A., Shevach E. M.//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 2360—2367.
482. Dower S. K., Ozato K., Segal D. M.//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 751—758.
483. Dower S. K., Kronheim S. R., March C. J. et al.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 501—515.
484. Doyle A., Martin W. J., Funa K. et al.//Ibid. Vol. 161. P. 1135—1151.
485. Drebin J. A., Waltenbaugh C., Schatten S. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 506—509.
486. Drizlikh G. I., Andreev A. V., Kotomina I. F., Brondz B. D.//J. Immunol. Meth. 1975. Vol. 8. P. 383—393.
- 486a. Dröge W., Männel D., Falk W. et al.//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 3379—3383.
487. Dubreuil P. C., Caillot D. H., Lemonnier F. A.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 469—479.
488. Du Clos T. W., Kim B. S.//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 1769—1772.
489. Duff G. W., Durum S. K.//Nature. 1983. Vol. 304. P. 449—451.
490. Duke R. C., Chervanek R., Cohen J. J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6361—6365.
491. Duprez V., Hamilton B., Burakoff S. J.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 844—859.
492. Duprez V., Mescher M. F., Burakoff S. J.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 493—495.
493. Dvorak A. M., Galli S. J., Marcum J. A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 843—861.
494. Du M., Lebel B., Kamoun P., Hamburger J.//Ibid. 1981. Vol. 153. P. 293—309.
495. Eager K. B., Williams J., Breiding D. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 5525—5529.
496. Eardley D. D., Gershon R. K.//J. Immunol. 1976. Vol. 117. P. 313—318.
497. Eardley D. D., Sercarz E. E.//Ibid. Vol. 116. P. 600—605.
498. Eardley D. D., Sercarz E. E.//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 1306—1310.
499. Eardley D. D., Hugenberger J., McVay-Boudreau L. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1106—1115.
500. Eardley D. D.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2209—2213.
501. Eardley D. D., Hu S.-K., Gershon R. K.//Ibid. Vol. 131. P. 2154—2158.
502. Eberlein T. J., Rosenstein M., Rosenberg S. A.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 385—397.
503. Eckels D. D., Sell T. W., Bronson S. R. et al.//Immunogenetics 1984. Vol. 19. P. 409—423.
504. Eckhard L. A., Herzenberg L. A.//Ibid. 1980. Vol. 11. P. 275—291.
505. Effros R. B., Doherty P. C., Gerald W., Bennin K. J.//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 145. P. 557—568.
506. Efrat S., Kaempfer R.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 2601—2605.
507. Eichmann K.//Europ. J. Immunol. 1975. Vol. 5. P. 511—517.
508. Eichmann K., Ben-Neriah Y., Heltzelberger D. et al.//Ibid. 1980. Vol. 10. P. 105—112.
509. Eichmann K., Falk I., Melchers I., Simon M. M.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 477—492.
510. Eisenthal A., Machtigal D., Feldman M.//Transplant. Proc. 1979. Vol. 11. P. 904—906.

511. *El-Arini M. O., Osoba D.*//J. Exp. Med. (US). 1973. Vol. 137. P. 821—837.
512. *Elgert K. D., Farrar W. L.*//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 1345—1353.
513. *Elie R., Lapp W. S.*//Cell. Immunol. 1977. Vol. 34. P. 38—48.
514. *Elkins K., Cambier J. C.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1247—1251.
515. *Elkins W. L., Klinman N. R., Mayol R.*//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 988—1003.
516. *Elliott B. E., Takacs B., Nagy Z.*//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 646—651.
517. *Elliott B. E., Nagy Z. A., Ben-Neriah Y., Givol D.*//Immunogenetics. 1980. Vol. 11. 177—190.
518. *Ellis T. M., Johanakumar T.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2323—2327.
519. *Ellner J. J., Lipsky P. E., Rosenthal A. S.*//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 2053—2058.
520. *Ellner J. J., Spaguolo P. J.*//Ibid. 1979. Vol. 123. P. 2689—2695.
521. *Elmets C. A., Bergstresser P. R., Tigelaar R. E.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 781—794.
522. *Ely J. M., Prystowsky M. B., Eisenberg L. et al.*//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2345—2349.
523. *Endres R. O., Grey H. M.*//Ibid. 1980. Vol. 125. P. 1515—1520.
524. *Engelhard V. H., Powers G. A., Moore L. C. et al.*//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 76—90.
525. *Engers H. D., Glasebrook A. L., Sorenson G. D.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1280—1285.
526. *Engleman E. G., McMichael A. J., Batey M. E., McDevitt H. O.*//Ibid. 1978. Vol. 147. P. 137—146.
527. *Engleman E. G., Benike C. J., Grumet F. C., Evans R. L.*//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2124—2129.
528. *Engleman E. G., Warnke R., Fox R. I. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1791—1795.
529. *Erard D., Charreire J., Auffredou M. T. et al.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1573—1576.
530. *Erard F., Corthesy P., Smith K. A. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 584—599.
531. *Erard F., Nabholz M., MacDonald H. R.*//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 798—803.
532. *Erb P., Vogt P., Meyer B., Feldmann M.*//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 206—209.
533. *Erb P., Meier B., Matsunaga T., Feldmann M.*//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 686—701.
534. *Ertl H. C. J., Koszinowski U. H.*//J. Immunol. 1976. Vol. 117. P. 2112—2118.
535. *Ertl H. C. J., Finberg R. W.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 2850—2854.
536. *Ertl H. C. J., Homas E., Tournas S., Finberg R. W.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 1778—1783.
537. *Eshhar Z., Apte R. N., Löwy I. et al.*//Nature. 1980. Vol. 286. P. 270—272.
538. *Eskinazi D. P., Molinaro G. A., Reisfeld R. A., Ferrone S.*//J. Immunogenet. 1981. Vol. 8. P. 101—106.
539. *Etlinger H. M., Heusser C. H.*//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 851—855.
540. *Evans G. A., Margulies D. H., Camerini-Otero R. D. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 1994—1998.
541. *Ezekowitz A. B., Austyn J., Stahl P. D., Gordon S.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 60—76.
- 541a. *Ezquerria A., Bragado R., Vega M. A. et al.*//Biochemistry. 1985. Vol. 24. P. 1733—1741.
542. *Falk W., Männel D. N., Dröge W.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2214—2218.
543. *Fan J., Bonavida B.*//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 1426—1432.

544. *Farr A. G., Dorf M. E., Unanue E. R.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 3542—3546.
545. *Farrar J. J., Fuller-Farrar J., Simon P. L. et al.*//Behring Inst. Mitt. 1980. Bd. 67. S. 58—66.
546. *Farrar J. J., Fuller-Farrar J., Simon P. L. et al.*//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 2555—2558.
547. *Farrar J. J., Mizel S. B., Fuller-Farrar J. et al.*//Ibid. P. 793—798.
548. *Farrar J. J., Benjamin W. R., Hilfiker M. L. et al.*//Immunol. Rev. 1982. Vol. 63. P. 129—166.
549. *Farrar J. J., Howard M., Fuller-Farrar J., Paul W. E.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 1838—1842.
550. *Farrar W. L., Mizel S. B., Farrar J. J.*//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1371.
551. *Farrar W. L., Elgert K. D., See-Yan Foo A.*//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 2339—2344.
552. *Fast L. D., Fan D. P.*//Ibid. 1978. Vol. 120. P. 1092—1096.
553. *Fathman C. G., Cone J. L., Sharrow S. O. et al.*//Ibid. 1975. Vol. 115. P. 584—589.
554. *Fathman C. G.*//Transplantation. 1980. Vol. 30. P. 1—4.
555. *Fathman C. G., Kimoto M., Melvold R., David C. S.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1853—1857.
556. *Fauser A. A., Bross K. G., Kauz L., Löhr G. W.*//Blut. 1982. Bd. 45. S. 97—102.
557. *Faustman D., Hauptfeld V., Lacy P., Davie J.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 4153—4156.
558. *Fazekas de St. Groth B., Basten A., Loblay R.*//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 228—235.
559. *Feldman S. P., Martelsman R., Venuta S. et al.*//Blood. 1983. Vol. 61. P. 815—819.
560. *Feldmann M., Kontiainen S.*//Europ. J. Immunol. 1976. Vol. 6. P. 302—305.
561. *Feldmann M., Beverley P., Woody J., McKenzie I. F. C.*//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 145. P. 793—801.
562. *Feng H. M., Glasebrook A. L., Engers H. D., Louis J. A.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2165—2169.
563. *Fenner N., Frischknecht H., Binz H. et al.*//Scand. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 553—562.
564. *Ferguson R. M., Anderson S. M., Simmons R. L.*//Transplantation. 1978. Vol. 26. P. 331—339.
565. *Fernandez-Cruz E., Gilman S. C., Fedman J. D.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1112—1117.
566. *Fernbach B. R., Kirchner H., Bonnard G. D., Herberman R. B.*//Transplantation. 1976. Vol. 21. P. 381—386.
567. *Ferreira A., Nussenzweig V., Gigli J.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1186—1197.
568. *Festenstein H., Bishop C., Taylor B. A.*//Immunogenetics. 1977. Vol. 5. P. 357—361.
569. *Fey K., Melchers J., Eichmann K. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 40—52.
570. *Finberg R., Greene M. I., Benacerraf B., Burakoff S. J.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1205—1209.
571. *Finberg R., Cantor H., Benacerraf B., Burakoff S. J.*//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1858—1860.
572. *Fineman S. M., Mudawwar F. B., Gena R. S.*//Cell. Immunol. 1979. Vol. 45. P. 120—132.
573. *Fink P. J., Bevan M. J.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 766—775.
574. *Fink P. J., Weissman J. L., Bevan M. J.*//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 141—154.
575. *Fink P. J., Rammensee H.-G., Bevan M. J.*//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 1745—1782.
576. *Fink P. J., Weissman J. L., Kaplan H. S., Kyewski B. A.*//Ibid. Vol. 132. P. 2266—2272.

577. Fink P. J., Gallatin W. M., Reichert R. A. et al.//Nature. 1985. Vol. 313. P. 233—235.
- 577a. Finnegan A., Needleman B. W., Hodes R. J.//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 2960—2965.
578. Fischer-Lindahl K., Peck A. B., Bach F. H.//Scand. J. Immunol. 1975. Vol. 4. P. 541—553.
579. Fischer-Lindahl K., Lemke H.//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 526—536.
580. Fischer-Lindahl K., Hausmann B.//Ibid. 1980. Vol. 10. P. 289—298.
581. Fishelson Z., Berke G.//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 1121—1126.
582. Fitch F. W., Ramsejer H.//Ibid. 1976. Vol. 117. P. 504—510.
583. Fleischer B.//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 1731—1735.
584. Fleischer B.//Nature. 1984. Vol. 308. P. 365—367.
585. Fleischman R. A., Custer R. P., Mintz B.//Cell. 1982. Vol. 30. P. 351—359.
586. Flood P. M., Kripke M. L., Rowley D. A., Schreiber H.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 2209—2213.
587. Flood P. M., Phillips C., Taupier M. A., Schreiber H.//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 424—430.
588. Flood P. M., DeLeo A. B., Old L. J., Gershon R. K.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 1683—1687.
589. Flood P. M., Lowy A., Tominaga A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1938—1947.
590. Flood P. M., Louie D. C.//Ibid. 1984. Vol. 159. P. 1413—1428.
591. Flyer D. C., Anderson R. W., Tevethia S. S.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2368—2371.
592. Flyer D. C., Burakoff S. J., Faller D. V.//Nature. 1983. Vol. 305. P. 815—818.
593. Folch H., Waksman B. H.//J. Immunol. 1974. Vol. 113. P. 127—139.
594. Fontaine-Perus J. C., Calman F. M., Kaplan C., Le Douarin N. M.//Ibid. 1981. Vol. 126. P. 2310—2316.
595. Fontana A., Kristensen F., Dubs R.//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 2413—2419.
596. Fontana A., McAdam K. P. W. J., Kristensen F., Weber E.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 685—689.
597. Fontana A., Fierz W., Wekerle H.//Nature. 1984. Vol. 307. P. 273—276.
598. Ford R. J., Mehta S. R., Franzini D. et al.//Ibid. 1981. Vol. 294. P. 261—263.
599. Ford W. L., Simmons S. J., Atkins R. C.//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 141. P. 681—696.
600. Forman J., Möller G.//Immunogenetics. 1974. Vol. 1. P. 211—225.
601. Forman J., Klein J.//J. Immunol. 1975. Vol. 115. P. 711—715.
602. Forman J., Vitetta E. S., Hart D. A., Klein J.//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 797—802.
603. Forman J., Goodenow R. S., Hood L., Giavarra R.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1261—1272.
604. Forman J.//Immunol. Rev. 1984. Vol. 81. P. 203—219.
605. Forni G., Landolfo S., Giovarelli M. et al.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 664—670.
- 605a. Fotedar A., Boyer M., Smart W. et al.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 3028—3033.
606. Fournier C., Charreire J.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 2698—2704.
- 606a. Fowlkes B. J., Edison L., Mathieson B. J., Chused T. M.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 802—822.
607. Fox J. F., Sy M.-S., Benacerraf B., Greene M. I.//Transplantation. 1981. Vol. 31. P. 262—265.
608. Freed J. H., David C. S., Shreffler D. C., Nathenson S. G.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 91—98.
609. Freeman G. J., Clayberger C., De Kruffy R. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 4094—4098.
610. Frelinger J. A., Niederhuber J. E., David C. S., Shreffler D. S.//J. Exp. Med. (US). 1974. Vol. 140. P. 1273—1284.

611. *Frelinger J. G., Shigeta M., Infante A. J. et al.*//*Ibid.* 1984. Vol. 159. P. 704—715.
- 611a. *French D. L., Plate J. M. D.*//*J. Immunol.* 1985. Vol. 135. P. 39—46.
612. *Fresno M., McVay-Bondreau L., Nabel G., Cantor H.*//*J. Exp. Med.* 1981. Vol. 153. P. 1260—1274.
613. *Fresno M., Nabel G., McVay-Bondreau L. et al.*//*Ibid.* P. 1236—1259.
614. *Fresno M., McVay-Bondreau L., Cantor H.*//*Ibid.* 1982. Vol. 155. P. 981—993.
615. *Fridman W. H., Fradelizi D., Guimezanes A. et al.*//*Europ. J. Immunol.* 1977. Vol. 7. P. 549—554.
616. *Fridman W. H., Néauport-Sautés C., Daëron M. et al.*//*Mol. Immunol.* 1984. Vol. 21. P. 1243—1251.
617. *Friedman A., Zerubavel R., Gitler C., Cohen J. R.*//*Immunogenetics.* 1983. Vol. 18. P. 277—290.
618. *Friedman A., Zerubavel R., Gitler C., Cohen J. R.*//*Ibid.* P. 291—302.
619. *Friedman S. M., Neyhard N., Chess L.*//*J. Immunol.* 1978. Vol. 120. P. 630—637.
620. *Fromenberg N., Duffly E., Naito K., Dupont B.*//*Immunogenetics.* 1983. Vol. 17. P. 317—324.
621. *Frye L. D., Frion G. J.*//*Nature.* 1975. Vol. 258. P. 333—335.
622. *Fujimoto S., Matsuzawa T., Nakagama K., Tada T.*//*Cell. Immunol.* 1978. Vol. 38. P. 378—387.
623. *Fujiwara H., Levy R. B., Shearer G. M., Terry W. D.*//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 423—425.
624. *Fujiwara H., Shearer G. M.*//*Ibid.* 1980. Vol. 124. P. 1271—1276.
625. *Fujiwara H., Shearer G. M.*//*Europ. J. Immunol.* 1981. Vol. 11. P. 700—704.
626. *Fulton A. M., Levy J. G.*//*Cell. Immunol.* 1980. Vol. 55. P. 29—37.
627. *Galli P., Dröege W.*//*Europ. J. Immunol.* 1980. Vol. 10. P. 87—92.
628. *Gamble R., Vadas M. A., Munoz J. J. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 2036—2039.
- 628a. *Gammon G., Dunn K., Shastri N. et al.*//*Nature.* 1986. Vol. 319. P. 413—415.
629. *Garland J. M., Dexter T. M.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 998—1001.
630. *Garman R., Fan D. P.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 756—762.
631. *Garovoy M. R., Reddish M. A., Rocklin R. E.*//*Ibid.* P. 357—361.
632. *Garrido F., Festenstein H., Schirmacher V.*//*Nature.* 1976. Vol. 261. P. 705—707.
633. *Gascoigne N. R. J.*//*Europ. J. Immunol.* 1984. Vol. 14. P. 677—680.
634. *Gascoigne N. R. J., Chien Y.-H., Becker D. M. et al.*//*Nature.* 1984. Vol. 310. P. 387—391.
635. *Gascoigne N. R. J., Crispe I. N.*//*Europ. J. Immunol.* 1984. Vol. 14. P. 210—215.
636. *Gascoigne N. R. J., Crispe I. N.*//*Immunogenetics.* 1984. Vol. 19. P. 511—517.
637. *Gaston J. S. H., Rickinson A. B., Epstein M. A.*//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 158. P. 280—293.
638. *Gately M. K., Wechter W. J., Martz E.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 125. P. 783—792.
639. *Gately M. K., Martz E.*//*Ibid.* 1981. Vol. 126. P. 709—714.
640. *Gatenby P. A., Kansas G. S., Xian C. Y. et al.*//*Ibid.* 1982. Vol. 129. P. 1997—2000.
641. *Gates F. T., Coligan J. E., Kindt T. J.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1981. Vol. 78. P. 554—558.
642. *Gautam S. C., Beckman K. D., Wong H. L., Battisto J. R.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 2557—2565.
643. *Geha R. S., Malakian A., Geha O., Yunis E.*//*Ibid.* 1977. Vol. 118. P. 1286—1291.
644. *Geha R. S., Milgron H., Broff M. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1979. Vol. 76. P. 4038—4041.

645. Geha R. S., Jonsen M. E., Ault B. H. et al.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 781—786.
646. Geib R., Chiang C., Klein J.//Ibid. 1978. Vol. 120. P. 340—342.
647. Geiger B., Rosenthal K. L., Klein J. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1979. Vol. 76. P. 4603—4607.
648. Geiger B., Rosen D., Berke G.//J. Cell Biol. 1982. Vol. 95. P. 137—143.
649. Gelfand M., Paul W. E.//J. Immunol. 1975. Vol. 115. P. 1—4.
- 649a. Geppert T. D., Lipsky P. E.//Ibid. 1985. Vol. 135. P. 3750—3762.
650. Gerhard W., Hackett C., Melchers F.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 2379—2385.
651. Germain R. N., Theze J., Wallenbaugh C. et al.//Ibid. 1978. Vol. 121. P. 602—607.
652. Germain R. N., Ju S.-T., Kipps T. J. et al.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 613—622.
653. Germain R. N.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 1964—1966.
654. Germain R. N., Bhattarcharia A., Dorf M. E., Springer T. A.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 1409—1413.
655. Germain R. N., Norcross M. A., Margulies D. H.//Nature. 1983. Vol. 306. P. 190—193.
- 655a. Gerrard T. L., Volkman D. J.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 3217—3223.
656. Gershon R. K., Eardley D. D., Durum S. et al.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1533—1546.
657. Gibofsky A., Winchester R. J., Patarrayo H. et al.//Ibid. 1978. Vol. 148. P. 1728—1732.
658. Gibson J., Basten A., Walker K. Z., Loblay R. H.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 5120—5124.
659. Gidlund M., Orn A., Pattengale P. K. et al.//Nature. 1981. Vol. 292. P. 848—850.
660. Gill H. K., Liew F. Y.//Europ. J. Immunol. 1978. Vol. 8. P. 172—176.
661. Gill H. K., Dhaliwal J. S., Sukumaran K. D., Liew E. Y.//Immunology. 1984. Vol. 53. P. 669—675.
662. Gillis S., Ferm M. F., Ou W., Smith K. A.//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 2027—2032.
663. Gillis S., Union N. A., Baker P. E., Smith K. A.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 1460—1476.
664. Gillis S., Mizel S.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1133—1137.
665. Gillis S., Nochizuki D. Y., Conlon P. J. et al.//Immunol. Rev. 1982. Vol. 63. P. 167—209.
666. Gilman S. G., Rosenberg J. S., Feldman J. D.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 649—650.
667. Giri J. G., Kincade P. W., Mizel S. B.//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 223—228.
668. Gisler R. H., Fridman W. H.//Cell. Immunol. 1976. Vol. 23. P. 99—107.
669. Glasebrook A. L., Quintans J., Eisenberg L., Fitch F. W.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 240—244.
670. Glasebrook A. L., Kelso A., MacDonald H. R., Engers H. D.//Transplant. and Clin. Immunol. 1982. Vol. 13. P. 63—68.
671. Glasebrook A. L., MacDonald H. R.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1552—1555.
672. Glaser M.//Cell. Immunol. 1979. Vol. 45. P. 230—236.
673. Glaser M.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 774—779.
674. Gleason K., Köhler H.//J. Exp. Med. 1982. Vol. 56. P. 539—549.
675. Glimcher L. H., Kim K.-J., Green J., Paul W. E.//Ibid. Vol. 155. P. 445—459.
676. Glimcher L. H., Schwartz R. H., Longo D. L., Singer A.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 987—991.
677. Glimcher L. H., Hamano T., Asofsky R. et al.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 2287—2294.
678. Glimcher L. H., Schroer J. A., Chan C., Shevach E. M.//Ibid. Vol. 131. P. 2868—2874.
679. Godal T., Davies C., Smeland E. B. et al.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 173—177.

680. *Goding J. W., Harris A. W.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 4530—4534.
- 680a. *Goldin R. D., Boulton R. A., Boylstone A. W.*//Immunology. 1985. Vol. 56. P. 295—300.
681. *Golding H., McCluskey J., Munitz T. I. et al.*//Nature. 1985. Vol. 317. P. 425—427.
- 681a. *Golding H., Munitz T. I., Singer A.*//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 943—961.
682. *Golding M., Singer A.*//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 597—605.
683. *Goldschneider I.*//Cell. Immunol. 1975. Vol. 16. P. 269—284.
684. *Goldschneider I.*//J. Immunol. 1977. Vol. 118. P. 2040—2046.
685. *Goldschneider I., Gordon L. K., Morris R. J.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1351—1366.
686. *Goldschneider I., Metcalf D., Mandel T., Bollum F. J.*//Ibid. 1980. Vol. 152. P. 438—446.
687. *Goldschneider I., Ahmed A., Bollum F. J., Goldstein A. L.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 2469—2473.
- 687a. *Goldschneider I., Komschlies K. L., Greiner D. L.*//J. Exp. Med. (US). 1986. Vol. 163. P. 1—17.
688. *Goldstein A. L., Guha A., Howe M. L., White A.*//J. Immunol. 1971. Vol. 106. P. 773—780.
689. *Golstein P., Svedmyr E. A. J., Wigzell H.*//J. Exp. Med. (US). 1971. Vol. 134. P. 1385—1402.
690. *Golstein P., Smith E. T.*//Contemp. Top. Immunobiol. 1977. Vol. 7. P. 273—300.
691. *Golstein P., Foa C., MacLennan I. C. M.*//Europ. J. Immunol. 1978. Vol. 8. P. 302—309.
692. *Golstein P., Goridis C., Schmitt-Verhulst A.-M. et al.*//Immunol. Rev. 1982. Vol. 68. P. 5—41.
693. *Golub S. H.*//Cell. Immunol. 1977. Vol. 28. P. 379—389.
694. *Gomard E., Wybier-Franqui J., Levy J. P.*//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 891—896.
695. *Gomard E., Wybier-Franqui J., Simmler M. C. et al.*//Ibid. Vol. 127. P. 2291—2295.
- 695a. *Gomard E., Begue B., Sodoyer S. et al.*//Nature. 1986. Vol. 319. P. 153—154.
696. *Good M. F., Nossal G. J. V.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2662—2669.
697. *Goodenow R. S., McMillan M., Orn A. et al.*//Science. 1982. Vol. 215. P. 677—679.
698. *Goodman J. W., Lewis G. K., Primi D. et al.*//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 933—945.
699. *Goodman J. W., Sercarz E. E.*//Annu. Rev. Immunol. 1983. Vol. 1. P. 465—498.
700. *Goodman M. G., Fidler J. M., Weigle W. O.*//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1905—1913.
701. *Goodwin J. S., Kaszubowski P. A., Williams R. C.*//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1260—1264.
702. *Goolmy E., van Leeuwen A., Blokland E. et al.*//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 1567—1572.
703. *Gootenberg J. E., Ruscetti F. W., Mier J. W. et al.*//Ibid. 1981. Vol. 154. P. 1403—1418.
704. *Gorczynski R. M., MacRae S.*//Immunology. 1979. Vol. 38. P. 1—12.
705. *Gorczynski R. M., MacRae S.*//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 737—746.
706. *Gordon J., Sagman U., Rode H.*//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 66—69.
707. *Goronzy J., Schafer U., Eichmann K., Simon M. M.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 857—870.
708. *Goto M., Zwaifler N. J.*//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 1309—1323.
709. *Gottlieb A. B., Engelhard M., Kunhel H. G. et al.*//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 2001—2004.
710. *Gottlieb P. D.*//J. Exp. Med. (US). 1974. Vol. 140. P. 1432—1437.

- 710a. Gougeon M.-L., Leclercq L., Bismuth G., Thèze J.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 1878—1883.
711. Goverman J., Minard K., Shastri N. et al.//Cell. 1985. Vol. 40. P. 859—867.
712. Goyert S. M., Shively J. E., Silver J.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 550—566.
713. Granberg C., Hirvonen T.//Cell. Immunol. 1980. Vol. 51. P. 13—22.
714. Granelli-Piperno A., Vassali J.-D., Reich E.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 422—431.
715. Granelli-Piperno A., Andrus L., Reich E.//Ibid. 1984. Vol. 160. P. 738—750.
716. Granstein R. D., Lowey A., Greene M. I.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 563—565.
717. Green D. R., Eardley D. D., Kimura A. et al.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 973—980.
718. Green D. R., Gershon R. K., Eardley D. D.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 3819—3823.
719. Green D. R., Gold J., Martin S. St. et al.//Ibid. 1982. Vol. 79. P. 889—892.
720. Green D. R., Chue B., Gershon R. K.//J. Mol. and Cell. Immunol. 1983. Vol. 1. P. 19—28.
721. Green D. R., Flood P. M., Gershon R. K.//Annu. Rev. Immunol. 1983. Vol. 1. P. 439—463.
722. Green W. F., Colley D. G.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1152—1156.
723. Green W. R., Nowinski R. C., Henney C. S.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 647—655.
724. Greenberg P. D., Cheever M. A., Fefer A.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 952—963.
725. Greenberg P. D., Cheever M. A., Fefer A.//J. Immunogenet. 1981. Vol. 8. P. 493—508.
726. Greenberg P. D., Kern D. E., Cheever M. A.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 1122—1134.
727. Greene M. I., Dorf M. E., Pierres M., Benacerraf B.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 5118—5121.
728. Greene M. I., Perry L. L.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 2363—2366.
729. Greene M. I., Sugimoto M., Benacerraf B.//Ibid. Vol. 120. P. 1604—1611.
730. Greene M. I., Bach B. A., Benacerraf B.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 1069—1083.
731. Greene M. I., Sy M.-S., Kripke M., Benacerraf B.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1979. Vol. 76. P. 6591—6595.
732. Greene M. I., Sy M.-S., Nisonoff A., Benacerraf B.//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 857—866.
733. Greene M. I., Ratnofsky S., Takaoki M. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1188—1191.
734. Greene W. C., Fleisher T. A., Waldmann T. A.//Ibid. 1981. Vol. 126. P. 1185—1191.
735. Greenstein J. L., Kappler J., Marrack P., Burakoff S. J.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 1213—1224.
736. Gregoire K. E., Goldschneider I., Barton R. W., Bollum F. J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 3993—3996.
737. Gregoire K. E., Goldschneider I., Barton R. W., Bollum F. J.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1347—1352.
738. Greiner D. L., Goldschneider I., Barton R. W.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1448—1460.
739. Grey H. M., Colon S. M., Chesnut R. W.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2389—2395.
740. Griffin J. D., Hercend T., Beveridge R., Schlossman S. F.//Ibid. 1983. Vol. 130. 2947—2951.
741. Grimm E. A., Ramsey K. M., Mazumder A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 884—897.

742. Grouchowsky S. H., Heagy W., Sanchez-Madrid F. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2546—2551.
743. Grouix B., Erard D., Charreire J., Galanaud P.//Immunology and Ageing/ Ed. N. Fabrius, M. Nijhoff. Netherlands, 1982. P. 59—62.
744. Gualde N., Weinberger O., Ratnofsky S. et al.//Transplantation. 1982. Vol. 33. P. 422—426.
745. Guerne P.-A., Piguet P.-F., Vassalli P.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2225—2230.
746. Guidos G., Wong M., Lee K.-C.//Ibid. 1984. Vol. 133. P. 1179—1184.
747. Guimezanes A., Davignon J.-L., Schmitt-Verhulst A.-M.//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 37—46.
748. Guimezanes A., Schmitt-Verhulst A.-M.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1540—1544.
- 748a. Guimezanes A., Schmitt-Verhulst A.-M.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 1187—1191.
749. Gullberg M., Ivars F., Coutinho A., Larsson E.-L.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 407—411.
750. Gullberg M., Larsson E.-L.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 746—750.
751. Gunn H. C., Varey A.-M., Cooke A.//Transplantation. 1981. Vol. 32. P. 338—340.
752. Ha T.-Y., Waksman B. H., Treffers H. P.//J. Exp. Med. (US). 1974. Vol. 139. P. 13—23.
753. Haaijman J. J., Micklem H. S., Ledbetter J. A. et al.//Ibid. 1981. Vol. 153. P. 605—614.
754. Haars R., Rohowsky-Kochan C., Reed E. et al.//Immunogenetics. 1984. Vol. 20. P. 397—406.
755. Haas W., Mathur-Rochat J., Kisielow P., von Boehmer H.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 963—965.
756. Habu S., Yamauchi K., Gershon R. K., Murphy D. B.//Immunogenetics. 1981. Vol. 13. P. 215—225.
757. Habu S., Okumura K., Diamenstein T., Shevach E. U.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 456—460.
758. Hackett C. J., Askonas B. A.//Immunology. 1982. Vol. 45. P. 431—437.
759. Hackett C. J., Dietzschold B., Gerhard W. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 294—302.
760. Haines K. A., Flotte T. J., Springer T. A. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 3448—3451.
761. Hale A. H., Paulus L. K.//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 640—646.
762. Hale A. H.//Cell. Immunol. 1980. Vol. 55. P. 328—341.
763. Hale A. H.//Ibid. P. 236—239.
764. Hale A. H., Ruebush M. J., Lyles D. S., Harris D. T.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 6105—6108.
765. Hale A. H., Evans D. L., McGee M. P.//Cell. Immunol. 1981. Vol. 63. P. 42—56.
766. Hale A. H., McGee M. P.//Ibid. Vol. 58. P. 147—155.
767. Hall B. M.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 123—133.
768. Halper J., Fu S. M., Wang G. Y. et al.//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 1480—1484.
769. Hamann U., Eichmann K., Krammer P. H.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 7—14.
- 769a. Hamann U., Krammer P. H.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 18—24.
770. Hamaoka T., Fujiwara H., Teshima K. et al.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 185—199.
771. Hamaoka T., Takatsu K., Okuno K., Tsuchida T.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 659—665.
772. Hämmerling G. J., McDevitt H. O.//Ibid. 1974. Vol. 112. P. 1734—1740.
773. Hämmerling G. J., Hämmerling U., Flaherty L.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 108—116.
774. Hämmerling G. J., Rusch E., Tada N. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 4737—4741.

775. *Hammerling U., Chin A. F., Abbott J., Scheid M. P.*//J. Immunol. 1975. Vol. 115. P. 1425—1431.
776. *Hank J. A., Sondel P. M.*//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 2734—2738.
777. *Hannestad K., Jørgensen T.*//Scand. J. Immunol. 1979. Vol. 10. P. 367.
778. *Hannum C., Freed J. H., Tarr G. et al.*//Immunol. Rev. 1984. Vol. 81. P. 161—176.
779. *Hannum C. H., Kappler J. W., Trowbridge I. S. et al.*//Nature. 1984. Vol. 312. P. 67—69.
780. *Hansburg D., Fairwell T., Schwartz R. H., Appella E.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 319—324.
781. *Hansburg D., Huber-Katz E., Fairwell T., Appella E.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 25—39.
782. *Hansen T. H., Cullen S. E., Melvold R. et al.*//Ibid. 1977. Vol. 145. P. 1550—1558.
783. *Hansen T. H., Sachs D. H.*//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1469—1472.
784. *Hansen T. H., Ozato K., Melino M. R. et al.*//Ibid. 1981. Vol. 126. P. 1713—1719.
785. *Hapel A. J., Bablanian R., Cole G. A.*//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1997—2003.
786. *Hapel A. J., Lee J. C., Farrar W. L., Ihle J. N.*//Cell. 1981. Vol. 25. P. 179—186.
787. *Hara T., Fu S. M.*//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 641—656.
788. *Hara T., Fu S. M., Hansen J. A.*//Ibid. P. 1513—1524.
789. *Hardt C., Pfizenmaier K., Rölinghoff M. et al.*//Ibid. 1980. Vol. 152. P. 1413—1418.
790. *Hardt C., Rölinghoff M., Pfizenmaier K. et al.*//Ibid. 1981. Vol. 154. P. 262—274.
791. *Haregewoin A., Godal T., Mustafa A. S. et al.*//Nature. 1983. Vol. 303. P. 342—344.
792. *Harel-Bellan A., Joskowicz M., Fradelizi D., Eisen H.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 3466—3469.
793. *Harimatsu H., Saito K.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 37—44.
794. *Harris D. T., MacDonald H. R., Cerottini J.-C.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 261—275.
795. *Harris J. F., Delovitch T. L.*//Ibid. 1980. Vol. 125. P. 2167—2176.
796. *Harris J. W., MacDonald H. R., Engers H. D. et al.*//J. Immunol. 1976. Vol. 116. P. 1071—1077.
797. *Hart D. D. J., Fabre J. W.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 347—361.
798. *Harvey M. A., Adorini L., Benjamin C. et al.*//Supramol. Struct. Suppl. 1979. Vol. 3. P. 295 (abstr.).
799. *Haskins K., Kubo R., White J. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1146—1169.
800. *Haskins K., Hannum C., White J. et al.*//Ibid. 1984. Vol. 160. P. 452—471.
801. *Hashins K., Kappler J., Marrack P.*//Annu. Rev. Immunol. 1984. Vol. 2. P. 51—66.
802. *Hauptfeld M., Hauptfeld V., Klein J.*//Transplantation. 1975. Vol. 19. P. 528—530.
803. *Hauptfeld V., Klein D., Klein J.*//Science. 1973. Vol. 181. P. 167—169.
804. *Hauptfeld V., Braciale T. J., Shreffler D. C.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2026—2031.
805. *Hauryłowicz C. M., Klaus G. G. B.*//Immunology. 1984. Vol. 53. P. 703—711.
806. *Hausman P. B., Moody C. E., Innes J. B.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1307—1318.
807. *Hawrylko E., Mele C. A., Stutman O.*//Cell. Immunol. 1982. Vol. 66. P. 139—151.
808. *Hayday A. C., Diamond D. J., Tonigawa G. et al.*//Nature. 1985. Vol. 316. P. 828—832.
809. *Hayday A. C., Saito H., Gillies S. D. et al.*//Cell. 1985. Vol. 40. P. 259—269.

810. Hayes C. E., Bach F. H.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1678—1686.
- 811—812. Hayes C. E., Hullett D. A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 3594—3598.
813. Hayes R. L., Claman H. N.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 56—62.
814. Häyry P., Defendi V.//Science. 1970. Vol. 168. P. 133—135.
815. Healy C. T., Kapp J. A., Webb D. R.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2843—2847.
816. Heber-Katz E., Schwartz R. H., Matis L. A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 1086—1099.
817. Heber-Katz E., Hansburg D., Schwartz R. H.//J. Mol. and Cell. Immunol. 1983. Vol. 1. P. 3—14.
818. Hedrick S. M., Matis L. A., Hecht T. T. et al.//Cell. 1982. Vol. 30. P. 141—152.
819. Hedrick S. M., Cohen D. I., Nielson E. A., Davis M. M.//Nature. 1984. Vol. 308. P. 149—153.
820. Hedrick S. M., Germain R. N., Bevan M. J. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 531—535.
821. Heilig J. S., Glimcher L. H., Kranz D. M. et al.//Nature. 1985. Vol. 317. P. 68—70.
822. Heiniger H.-J., Brunner K. T., Cerottini J.-C.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1978. Vol. 75. P. 5683—5687.
823. Helderman H., Ström T. B., Dupuy-D'Angeac A.//Cell. Immunol. 1979. Vol. 46. P. 247—258.
824. Hellström I., Hellström K. E., Bernstein I. D.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1979. Vol. 76. P. 5294—5298.
825. Hemler M. E., Brenner M. B., McLean J. M., Strominger J. L.//Ibid. 1984. Vol. 81. P. 2172—2175.
826. Henkart M. P., Henkart P. A.//Adv. Exp. Med. Biol. 1982. Vol. 146. P. 227—242.
827. Henkart P. A., Millard P. J., Reynolds C. W., Henkart M. P.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 75—93.
828. Henkart P. A.//Annu. Rev. Immunol. 1985. Vol. 3. P. 31—58.
829. Henney C. S., Bubbers J. E.//J. Immunol. 1973. Vol. 110. P. 63—72.
830. Henney C. S., Faggney J., Bloom B. R.//J. Exp. Med. (US). 1974. Vol. 140. P. 837—852.
831. Henney C. S., Gillis S.//Fundamental Immunology/Ed. W. E. Paul. N. Y.: Raven press, 1984. P. 669—684.
832. Herberman R. B., Nunn M. E., Laurin D. H.//Intern. J. Cancer. 1975. Vol. 16. P. 216—229.
833. Herberman R. B., Santoni A.//Biological Responses in Cancer./Ed. E. Minich. Plenum Publ. Corp. 1984. Vol. 2. P. 121—143.
- 833a. Herrmann F., Cannistra S. A., Levine H., Griffin D.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 1111—1116.
834. Herrmann S. H., Mescher M. F.//J. Biol. Chem. 1979. Vol. 254. P. 8713—8716.
835. Herrmann S. H., Mescher M. F.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 2488—2492.
836. Herrmann S. H., Weinberger O., Burakoff S. J., Mescher M. F.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1968—1974.
837. Herron L. R., Abel C. A., Van der Wall J., Campbell P. A.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 73—78.
838. Hersey P., Bindon C., Czerniecki M. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2837—2842.
839. Hersey P., Haran G., Hasic E., Edwards A.//Ibid. P. 171—174.
840. Hertel-Wulff B., Goodman J. W., Fathman C. G., Lewis G. K.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 987—997.
841. Herzenberg L. A., Tokuhiisa T., Hayakawa K.//Annu. Rev. Immunol. 1983. Vol. 1. P. 609—632.
842. Hess A. D., Tutschka P. J., Pu Z., Santos G. W.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 360—367.
843. Hess A. D., Donnenberg A. D., Tutschka P. J., Santos G. W.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 717—721.

844. Heuer J., Brüner K., Opalka B., Kölsch E.//*Nature*. 1982. Vol. 296. P. 456—459.
845. Hildreth J. E. K., Gotch F. M., Hildreth P. D. K., McMichael A. J.//*Europ. J. Immunol.* 1983. Vol. 13. P. 202—208.
846. Hilfiker M. L., Moore R. N., Farrar J. J.//*J. Immunol.* 1981. Vol. 127. P. 1983—1987.
847. Hilgert I., Rieger M., Kristofova H. et al.//*Transplant. Proc.* 1979. Vol. 11. P. 887—890.
848. Hill S. W., Frelinger J. A.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 2704—2708.
849. Hirai Y., Nisonoff A.//*J. Exp. Med. (US)*. 1980. Vol. 151. P. 1213—1231.
850. Hiramatsu K., Ochi A., Miyatani S. et al.//*Nature*. 1982. Vol. 296. P. 666—668.
851. Hirano T., Nordin A. A.//*J. Immunol.* 1976. Vol. 116. P. 1115—1122.
852. Hirano T., Teraniski T., Onoue K.//*Ibid.* 1984. Vol. 132. P. 229—234.
853. Hirano T., Tada T., Nakano N. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1985. Vol. 82. P. 5490—5494.
854. Hirschberg H., Braathen C. R., Thorsby E.//*Immunol. Rev.* 1982. Vol. 66. P. 55—77.
855. Hiserodt J. C., Bonavida B.//*J. Immunol.* 1981. Vol. 126. P. 256—262.
856. Hiserodt J. C., Britvan L. J., Targan S. R.//*Ibid.* 1982. Vol. 129. P. 1782—1787.
857. Hiserodt J. C., Britvan L. J., Targan S. R.//*Ibid.* 1983. Vol. 131. P. 2705—2709.
858. Ho M.-K., Springer T. A.//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 1221—1228.
859. Ho M.-K., Springer T. A.//*Ibid.* P. 2281—2286.
860. Hochman P. S., Huber B. T.//*J. Exp. Med. (US)*. 1984. Vol. 160. P. 1925—1930.
861. Hodes R. J., Svedmyr E. A. J.//*Transplantation*. 1970. Vol. 9. P. 470—477.
862. Hodes R. J., Hathcock K. S.//*J. Immunol.* 1976. Vol. 116. P. 167—177.
863. Hodes R. J., Schmitt-Verhulst A.-M., Hathcock K. S., Shearer G. M.//*Scand. J. Immunol.* 1976. Vol. 5. P. 369—382.
864. Hodes R. J., Nadler L. M., Hathcock K. S.//*J. Immunol.* 1977. Vol. 119. P. 961—967.
865. Hodes R. J., Ahmann G. B., Hathcock K. S. et al.//*Ibid.* 1978. Vol. 121. P. 1501—1509.
866. Hodes R. J., Hathcock K. S., Singer A.//*J. Exp. Med. (US)*. 1980. Vol. 152. P. 1779—1794.
867. Hodes R. J., Hathcock K. S., Singer A.//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 134—139.
868. Hoffman M. K., Koenig S., Mittler R. S. et al.//*Ibid.* 1979. Vol. 122. P. 497—502.
869. Holan V., Hašek M., Chutná J.//*Transplantation*. 1978. Vol. 25. P. 27—30.
870. Holan V., Mitchison N. A.//*Europ. J. Immunol.* 1983. Vol. 13. P. 652—657.
871. Holbrook N. J., Smith K. A., Fornace A. J. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1984. Vol. 84. P. 1634—1638.
872. Hollander N., Pillemer E., Weissman I. L.//*J. Exp. Med. (US)*. 1980. Vol. 152. P. 674—687.
873. Hollander N., Pillemer E., Weissman I.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1981. Vol. 78. P. 1148—1151.
- 873a. Honda M., Chan C., Shevach E. M.//*J. Immunol.* 1985. Vol. 135. P. 834—839.
874. Honeycutt P. J., Gooding L. R.//*Europ. J. Immunol.* 1980. Vol. 10. P. 363—370.
875. Hood L., Steinmetz M., Malissen B.//*Annu. Rev. Immunol.* 1983. Vol. 1. P. 529—568.
876. Hopper K., Shortman K.//*Cell. Immunol.* 1976. Vol. 27. P. 256—273.
877. Horton M. A., Beverley P. C. L., Simpson E.//*Europ. J. Immunol.* 1979. Vol. 9. P. 345—352.
878. Hosono M., Katsura Y., Muramatsu S.//*Immunology*. 1984. Vol. 51. P. 161—168.

879. Howard F. D., Ledbetter J. A., Carter D. P. et al.//Mol. Immunol. 1982. Vol. 19. P. 1481—1489.
880. Howard J. G., Hale C., Liew F. Y.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 557—568.
881. Howard M., Farrar J., Hilfiker M. et al.//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 914—923.
882. Howard M., Matis L., Malek T. R. et al.//Ibid. 1983. Vol. 158. P. 2024—2039.
883. Howard M., Mizel S. B., Lachman L. et al.//Ibid. Vol. 157. P. 1529—1543.
884. Hu S.-K., Eardley D. D., Cantor H., Gershon R. K.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 3779—3781.
- 884a. Hua C., Buferne M., Schmitt-Verhulst A.-M.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 1029—1032.
885. Hua C., Langlet C., Buferne M., Schmitt-Verhulst A.-M.//Immunogenetics. 1985. Vol. 21. P. 227—234.
886. Huang C.-M., Huang H.-J., Klein J.//Ibid. 1979. Vol. 9. P. 173—182.
887. Huber B., Cantor H., Shen F. W., Boyse E. A.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 1128—1133.
888. Huber B. T., Jones P. P., Thorley-Lawson D.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 4525—4529.
889. Huber B. T., Hansen T. H., Skelly R. R., Thorley-Lawson D. A.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2349—2352.
890. Huber B. T., Hochman P. S.//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 1106.
891. Hudson L., Sprent J., Miller J. F. A. P., Playfair J. H. L.//Nature. 1974. Vol. 251. P. 60—62.
892. Hudson L., Sprent J.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 143. P. 444—449.
893. Hui K., Grosveld F., Festenstein H.//Nature. 1984. Vol. 311. P. 750—752.
894. Hullett D. A., Klyczek K. K., Hayes C. E.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 3183—3187.
895. Hünig T., Bevan M. J.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 688—702.
896. Hünig T. R., Bevan M. J.//Ibid. 1982. Vol. 115. P. 111—125.
897. Hünig T., Loos M., Schimpl A.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 1—6.
898. Hunt P., Sears D. W.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1439—1446.
899. Hunt S. V., Williams A. F.//J. Exp. Med. (US). 1974. Vol. 139. P. 479—496.
900. Hurme M., Bång B. E., Sihvola M.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 2484—2488.
901. Hurme M., Karjalainen K., Mäkelä O.//Scand. J. Immunol. 1980. Vol. 11. P. 241—246.
902. Hurme M., Sihvola M.//Ibid. 1981. Vol. 14. P. 433—438.
903. Hurt S. N., Berke G., Clark W.//J. Immunol. Meth. 1979. Vol. 28. P. 321—329.
904. Hurwitz L., Heber-Katz E., Hackett C. J., Gerhard W.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 3371—3377.
905. Igarashi T., Okada M., Kishimoto S., Yamamura Y.//Immunology. 1975. Vol. 28. P. 37—47.
906. Ihle J. N., Lee J. C., Rebar L.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2565—2570.
907. Ihle J. N., Keller J., Oroszlan S. et al.//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 282—287.
908. Ikezawa Z., Baxevanis C. N., Arden B. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6637—6641.
909. Ikezawa Z., Baxevanis C. N., Nonaka M. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1855—1866.
910. Ikezawa Z., Nagy Z. A., Klein J.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1605—1607.
911. Ikezawa Z., Walden P., Arden B. et al.//Scand. J. Immunol. 1984. Vol. 20. P. 113—123.
- 911a. Ikuta K., Ogura T., Shimuzu A., Honjo T.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 7701—7705.
912. Ilfeld D. N., Krakauer R. S., Blaese B. M.//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 428—434.
913. Imai Y., Okawa T.//Clin. and Exp. Immunol. 1982. Vol. 49. P. 572—578.

914. *Imboden J. B., Weiss A., Stobo J. D.*//Immunol. Today. 1985. Vol. 6. P. 328—331.
915. *Inaba K., Muramatsu S.*//Cell. Immunol. 1978. Vol. 39. P. 276—288.
916. *Inaba K., Nakano K., Muramatsu S.*//Ibid. P. 260—275.
917. *Inaba K., Steinman R. M., van Voorhis W. C., Muramatsu S.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6041—6045.
- 917a. *Inaba K., Koide S., Steinman R. M.*//Ibid. 1985. Vol. 82. P. 7686—7690.
918. *Infante A. J., Atassi M. Z., Fathman C. G.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 1342—1356.
919. *Infante A. J., Infante P. D., Gillis S., Fathman C. G.*//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 1100—1107.
920. *Inouye M., Hank J. A., Alter B. J., Bach F. H.*//Scand. J. Immunol. 1980. Vol. 12. P. 149—154.
921. *Irlé C., Piguet P.-F., Vassalli P.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 32—45.
922. *Ishii N., Baxevanis C. N., Nagy Z. A., Klein J.*//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 283—292.
923. *Ishii N., Nagy Z. A., Klein J.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 622.
924. *Ishikawa H., Saito K.*//Ibid. 1980. Vol. 151. P. 965—968.
925. *Ishizaka K., Kishimoto T., Delespesse G., King T. P.*//J. Immunol. 1974. Vol. 113. P. 70—77.
926. *Ishizaka S. T., Stutman O.*//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 936—942.
927. *Itoh K., Suzuki P., Umezu Y. et al.*//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 395—400.
928. *Ivanyi D., Shock M., Demant P.*//Tissue Antigens. 1979. Vol. 14. P. 233—250.
929. *Ivanyi D., Demant P.*//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 467—476.
930. *Iverson M., Ptak W., Green D. R., Gershon R. K.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 982—987.
931. *Iwasaki H., Tuniguchi M., Shinohara N.*//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 3592—3596.
932. *Jacobson S., Nepom G. T., Richert J. R. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 126. P. 1608—1613.
933. *Jacobson-Merch E. B.*//Fed. Proc. 1978. Vol. 37. P. 1492..
934. *Jakobovits A., Frenkel A., Sharon N., Cohen I. R.*//Nature. 1981. Vol. 291. P. 666—668.
935. *Janeway C. A., Paul W. E.*//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 1641—1656.
936. *Janossy G., Tidman N., Papageorgiou E. S. et al.*//J. Immunol. 1981. Vol. 1216. P. 1608—1613.
937. *Jardieu P., Uede T., Ishizaka K.*//Ibid. 1984. Vol. 133. P. 3266—3273.
938. *Jay G., Ferrini U., Robinson E. A. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1979. Vol. 76. P. 6562—6566.
939. *Jay G., Palladino M. A., Khoury G., Old L. J.*//Ibid. 1982. Vol. 79. P. 2654—2657.
940. *Jayaraman S., Bellone C. J.*//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 278—284.
941. *Jayaraman S., Swierkosz J. E., Bellone C. J.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 641—646.
942. *Jegasothy B. V., Battles D. R.*//Ibid. 1979. Vol. 150. P. 622—634.
943. *Jenkins M. K., Melvold R. W., Miller S. D.*//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 616—622.
944. *Jenkinson E. J., van Ewijk W., Owen J. J. T.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 280—292.
945. *Jensen P. J.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2071—2074.
946. *Jensen P. E., Pierce C. W., Kapp J. A.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 1012—1026.
- 946a. *Jensen P. E., Kapp J. A.*//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 2990—2995.
947. *Jensenius J. C., Crone M., Koch C.*//Scand. J. Immunol. 1981. Vol. 14. P. 693—704.

948. *Jensenius J. C., Williams A. F.*//*Nature*. 1982. Vol. 300. P. 583—588.
949. *Jerne N. K.*//*Europ. J. Immunol.* 1971. Vol. 1. P. 1—9.
950. *Jerne N. K.*//*Ann. Immunol. Inst. Pasteur*. 1974. Vol. 125. P. 373—389.
951. *Johnson E. D., Cole G. A.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1975. Vol. 141. P. 866—881.
952. *Jones B., Penfold P.*//*Cell. Immunol.* 1979. Vol. 46. P. 259—274.
953. *Jones B., Janeway C. A.*//*Nature*. 1981. Vol. 292. P. 547—549.
954. *Jones P. P., Murphy D. B., Hewgill D., McDevitt H. O.*//*Mol. Immunol.* 1979. Vol. 16. P. 51—60.
955. *Jones P. P., Murphy D. B., McDevitt H. O.*//*Immunogenetics*. 1981. Vol. 12. P. 321—337.
956. *Jones-Villeneuve E. V., Rusthoven J. J., Miller R. G., Phillips R. A.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 597—601.
957. *Jordan B. R., Lemonnier F. A., Caillol D. H., Trucy J.*//*Immunogenetics*. 1983. Vol. 18. P. 165—172.
958. *Jordom R. K., Owen J. J. T., Raff M. C.*//*Europ. J. Immunol.* 1977. Vol. 7. P. 736—743.
959. *Joskowicz M., Rabourdin-Combe C., Neauport-Sautes C., Ridman W. H.*//*J. Immunol.* 1978. Vol. 121. P. 777—783.
960. *Jolereau F. V., Le Douarin N. M.*//*Ibid.* 1982. Vol. 129. P. 1869—1877.
- 960a. *Ju S.-T., Dorf M. E.*//*Ibid.* 1985. Vol. 134. P. 3720—3730.
961. *Julius M. H., Cosenza H., Augustin A. A.*//*Europ. J. Immunol.* 1978. Vol. 8. P. 484—491.
962. *Julius M. H., Cosenza H., Augustin A. A.*//*Ibid.* 1980. Vol. 10. P. 112.
963. *Julius M. H., Chiller J. M., Sidman C. L.*//*Ibid.* 1982. Vol. 12. P. 623—633.
964. *Juretić A., Nagy Z. A., Klein J.*//*Immunogenetics*. 1981. Vol. 14. P. 73—83.
965. *Kaartinen M., Ferreira A. M., Hurme M., Mäkelä O.*//*J. Immunol.* 1981. Vol. 127. P. 2371—2376.
966. *Kabelitz D., Canonica G. W., Sjöberg O. et al.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 687—691.
967. *Kadish J. L., Basch R. S.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1976. Vol. 143. P. 1082—1099.
968. *Kadish J. L., Basch R. S.*//*Cell. Immunol.* 1977. Vol. 30. P. 12—24.
969. *Kagnoff M. F.*//*J. Immunol.* 1978. Vol. 120. P. 1509—1513.
970. *Kahle R., Hiserodt B. B.*//*Cell. Immunol.* 1983. Vol. 80. P. 97—104.
971. *Kaiserlian D., Dardenne M.*//*Ibid.* 1982. Vol. 66. P. 360—371.
972. *Kakiuchi T., Chesnut R. W., Grey H. M.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 109—114.
973. *Kalina M., Berke G.*//*Cell. Immunol.* 1976. Vol. 24. P. 41—51.
974. *Kall M. A., Hellström J.*//*J. Immunol.* 1975. Vol. 114. P. 1083—1088.
975. *Kamat R., Henney C. S.*//*Ibid.* 1976. Vol. 116. P. 1490—1495.
976. *Kan E. A. R., Wang C. Y., Wang L. C., Evans R. L.*//*Ibid.* 1983. Vol. 131. P. 536—539.
977. *Kanagawa O., Louis J. A., Engers H. D., Cerottini J.-C.*//*Ibid.* Vol. 130. P. 24—28.
978. *Kanamori S., Walsh W. D., Hansen T. H., Tse H. Y.*//*Ibid.* 1984. Vol. 133. P. 2811—2817.
979. *Kannelopoulos-Langevin C., Mathieson B. J., Perkins A. et al.*//*Ibid.* Vol. 132. P. 1639—1646.
980. *Kanno M., Kobayashi S., Tokuhisa T. et al.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1981. Vol. 154. P. 1290—1304.
981. *Kapp J. A., Pierce C. W., Schlossman S., Benacerraf B.*//*Ibid.* 1974. Vol. 140. P. 648—659.
982. *Kapp J. A., Pierce C. W., Benacerraf B.*//*Ibid.* 1975. Vol. 142. P. 50—60.
983. *Kapp J. A.*//*Ibid.* 1978. Vol. 147. P. 997—1006.
984. *Kapp J. A., Sorensen C. M., Pierce C. W.*//*Ibid.* 1983. Vol. 158. P. 1962—1978.
985. *Kappler J. W., Marrack P.*//*Ibid.* 1978. Vol. 148. P. 1510—1522.
986. *Kappler J. W., Skidmore B., White J., Marrack P.*//*Ibid.* 1981. Vol. 153. P. 1198—1214.

987. *Kappler J., White J., Wegmann D. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1982. Vol. 79. P. 3604—3607.
988. *Kappler J., Kubo R., Haskins K. et al.*//*Cell.* 1983. Vol. 35. P. 295—302.
989. *Karjalainen K.*//*Europ. J. Immunol.* 1983. Vol. 13. P. 94—102.
990. *Kasakura S., Taguchi M., Watanabe Y. et al.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 2720—2726.
991. *Kast W. M., de Waal L. P., Melief C. J. M.*//*J. Exp. Med. (US).* 1984. Vol. 160. P. 1752—1766.
992. *Kastner D. L., Rich R. R., Chu L.*//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 1239—1243.
993. *Katz D. H., Katz L. R., Bogowitz C. A., Skidmore B. J.*//*J. Exp. Med. (US).* 1979. Vol. 149. P. 1360—1370.
994. *Katz M. E., Maizels R. M., Wicker L. et al.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 535—540.
995. *Kaufman J. F., Auffray C., Korman A. J. et al.*//*Cell.* 1984. Vol. 36. P. 1—13.
996. *Kaufmann Y., Berke G.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 50—56.
997. *Kavaler J., Davis M. M., Chien Y.-H.*//*Nature.* 1984. Vol. 310. P. 421—423.
998. *Kavathas P., Herzenberg L. A.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 524—528.
999. *Kawamura H., Rosenberg S. A., Berzofsky J. A.*//*J. Exp. Med. (US).* 1985. Vol. 162. P. 381—386.
1000. *Kawauchi H., Shimamoto Y., Taniguchi K. et al.*//*Cell. Immunol.* 1982. Vol. 70. P. 76—84.
1001. *Kay N. E., Zarling J. M.*//*Blood.* 1984. Vol. 63. P. 305—309.
1002. *Kaye J., Porcelli S., Tite J. et al.*//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 158. P. 836—856.
1003. *Kaye J., Gillis S., Mizel S. B. et al.*//*J. Immunol.* 1984. Vol. 133. P. 1339—1345.
1004. *Kaye J., Janeway C. A.*//*J. Exp. Med. (US).* 1984. Vol. 159. P. 1397—1412.
1005. *Kedar E., Bonavida B.*//*J. Immunol.* 1975. Vol. 115. P. 1301—1308.
1006. *Kedar E., Schwartzbach M., Baanan Z., Hefetz S.*//*J. Immunol. Meth.* 1977. Vol. 16. P. 39—58.
1007. *Kedar E., Clark W. R., Bonavida B.*//*Transplantation.* 1978. Vol. 25. P. 146—151.
1008. *Kedar E., Schwartzbach M.*//*Cell. Immunol.* 1979. Vol. 43. P. 326—340.
- 1009—1010. *Keene J.-A., Forman J.*//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 155. P. 768—782.
1011. *Kees U., Blanden R. V.*//*J. Exp. Med. (US).* 1976. Vol. 143. P. 450—455.
1012. *Kees U., Müllbacher A., Blanden R. V.*//*Ibid.* 1978. Vol. 148. P. 1711—1715.
1013. *Kees U. R.*//*Ibid.* 1981. Vol. 153. P. 1562—1573.
1014. *Kees U., Krammer P. H.*//*Ibid.* 1984. Vol. 159. P. 365—377.
1015. *Keller D. M., Swiercosz J. E., Marrack P., Kappler J. W.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 1350—1359.
- 1015a. *Keller J. R., Weinstein Y., Hursey M., Ihle J. N.*//*Ibid.* 1985. Vol. 135. P. 1864—1871.
1016. *Kelso A.*//*Ibid.* 1981. Vol. 127. P. 1563—1569.
1017. *Kelso A., Glasebrook A. L., Kanagawa O., Brunner K. T.*//*Ibid.* 1982. Vol. 129. P. 550—556.
1018. *Kelso A., MacDonald H. R.*//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 156. P. 1396—1397.
1019. *Kemp D. J., Adams J. M., Mottram P. L. et al.*//*Ibid.* P. 1848—1853.
1020. *Kennedy L. J., Dorf M. E., Unanue E. R., Benacerraf B.*//*J. Immunol.* 1975. Vol. 114. P. 1670—1675.
1021. *Kerbel R. S., Eidinger D.*//*Europ. J. Immunol.* 1972. Vol. 2. P. 114—118.
1022. *Kiessling R., Klein E., Wigzell H.*//*Ibid.* 1975. Vol. 5. P. 112—117.
1023. *Kim B. S.*//*J. Exp. Med. (US).* 1979. Vol. 149. P. 1371—1378.
1024. *Kim B. S., Greenberg J. A.*//*Ibid.* 1981. Vol. 154. P. 809—820.

1025. Kimball E. S., Nathenson S. G., Coligan J. E.//Biochemistry. 1981. Vol. 20. P. 3301—3308.
1026. Kimoto M., Fathman C. G.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 375—385.
1027. Kimura A. K., Wigzell H., Holmquist G. et al.//Ibid. 1979. Vol. 149. P. 473—484.
1028. Kimura A. K., Wigzell H.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2056—2061.
1029. Kimura H., Wilson D. B.//Nature. 1984. Vol. 308. P. 463—464.
1030. Kindred B.//Cell. Immunol. 1980. Vol. 51. P. 64—71.
1031. King D. P., Strober S.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 13—23.
1032. Kipps T. J., Benacerraf B., Dorf M. E.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1978. Vol. 75. P. 2914—2927.
1033. Kirkman R. L., Barrett L. V., Gaulton G. N. et al.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 358—362.
- 1033a. Kishi H., Inui S., Muraguchi A. et al.//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 3104—3107.
1034. Kisielow P., Hirst J. A., Shiku H., Beverley P. L. L.//Nature. 1975. Vol. 253. P. 219—220.
1035. Kisielow P., Draber P., Wysocka M.//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 1023—1025.
1036. Kisielow P., von Bœhmer H., Haas W.//Ibid. 1982. Vol. 12. P. 463—467.
1037. Kitamura K., Mukauchi H., Koyasu S. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 1371—1378.
1038. Klareskog L., Forsum U., Peterson P. A.//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 958—963.
1039. Klein J., Forman J., Hauptfeld V., Egorov I. K.//J. Immunol. 1975. Vol. 115. P. 716—718.
1040. Klein J., Geib R., Chiang C., Hauptfeld V.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 143. P. 1439—1452.
1041. Klein J.//Adv. Immunol. 1978. Vol. 26. P. 56—146.
1042. Klein J., Chiang C. L.//Immunogenetics. 1978. Vol. 6. P. 235—243.
1043. Klein J.//Science. 1979. Vol. 203. P. 516—521.
1044. Klein J., Figueroa F.//Immunol. Rev. 1981. Vol. 60. P. 23—57.
1045. Klein J., Figueroa F., David C. S.//Immunogenetics. 1983. Vol. 17. P. 553—596.
1046. Klyczek K. K., Cantor H., Hayes C. E.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 1604—1617.
1047. Knight S. C., Mertin J., Stackpoole A., Clark J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6032—6035.
1048. Knight S. C., Hunt R., Dore C., Medawar P. B.//Ibid. 1985. Vol. 82. P. 4495—4497.
1049. Knoules R. W., Bodmer W. F.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 676—681.
1050. Knuth A., Danowski B., Oettgen H. F., Old L. J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 3511—3515.
1051. Koch G. L. E., Smith M. J.//Nature. 1978. Vol. 273. P. 274—276.
1052. Koch N., Hämmerling G. J.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 437—444.
1053. Koch N., Hämmerling G. J.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1155—1158.
1054. Koch N., Koch S., Hämmerling G. J.//Nature. 1982. Vol. 299. P. 644—645.
1055. Koch N., Arnold B., Hämmerling G. J. et al.//Immunogenetics. 1983. Vol. 17. P. 497—505.
- 1055a. Köck A., Danner M., Stadler B. M., Luger T. A.//J. Exp. Med. (US). 1986. Vol. 163. P. 463—467.
1056. Koga Y., Taniguchi K., Kubo C., Nomoto K.//Cell. Immunol. 1982. Vol. 66. P. 196—201.
1057. Komatsu Y., Nawa Y., Bellamy A. R., Marbrook J.//Nature. 1978. Vol. 274. P. 802—804.
1058. Komuro K., Boyse E. A.//J. Exp. Med. (US). 1973. Vol. 138. P. 479—482.

1059. Konaka Y., Norcross M. A., Maino V. C., Smith R. T.//*Europ. J. Immunol.* 1981. Vol. 11. P. 445—450.
1060. Kontiainen S., Feldmann M.//*Ibid.* 1976. Vol. 6. P. 296—301.
1061. Kontiainen S., Howie S., Maurer P. H., Feldmann M.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 122. P. 253—259.
1062. Kontiainen S., Culbert E. J., Cecka M. et al.//*Immunology.* 1981. Vol. 43. P. 747—754.
1063. Kook A. T., Trainin N.//*J. Immunol.* 1975. Vol. 115. P. 8—14.
1064. Koszinowski U. H., Aller H., Gething M. J. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1980. Vol. 151. P. 945—958.
1065. Koszinowsky U. H., Kramer M.//*Nature.* 1981. Vol. 289. P. 181—183.
1066. Korman A. J., Auffray C., Schamboeck A., Strominger J. L.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1982. Vol. 79. P. 6013—6017.
1067. Korngold R., Bennink J. R., Doherty P. C.//*J. Immunol.* 1981. Vol. 127. P. 124—129.
- 1067a. Korngold R., Sprent J.//*Ibid.* 1985. Vol. 135. P. 3004—3010.
- 1067b. Kovač Z., Schwartz R. H.//*Ibid.* 1985. Vol. 134. P. 3233—3240.
1068. Kozak R. W., Moody C. E., Staiano-Coico L., Weksler M. S.//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 1723—1727.
1069. Kraal G., Geldof A. A., Boden D.//*Cell. Immunol.* 1980. Vol. 49. P. 110—119.
1070. Kraig E., Kronenberg M., Kapp J. A. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 158. P. 192—209.
1071. Krakauer T., Hansen T. H., Camerini-Otero R. D., Sachs D. H.//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 2149—2156.
1072. Kramer M., Koszinowski U.//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 784—790.
1073. Krammer P. H., Eichmann K.//*Nature.* 1977. Vol. 270. P. 733—735.
1074. Krammer P. H., Rehberger R., Eichmann K.//*J. Exp. Med. (US).* 1980. Vol. 151. P. 1166—1182.
1075. Krangel M. S., Orr H. T., Strominger J. L.//*Scand. J. Immunol.* 1980. Vol. 11. P. 561—571.
1076. Kranz D. M., Tonegawa S., Eisen H. N.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1984. Vol. 81. P. 7922—7926.
1077. Kranz D. M., Saito H., Disteché C. M. et al.//*Science.* 1985. Vol. 227. P. 941—944.
1078. Kranz D. M., Saito H., Heller M. et al.//*Nature.* 1985. Vol. 313. P. 752—755.
1079. Krawinkel U., Cramer M., Melchers I. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1978. Vol. 147. P. 1341—1347.
1080. Krensky A. M., Reiss C. S., Mier J. W. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1982. Vol. 79. P. 2365—2369.
- 1080a. Krieger J. I., Grammer S. F., Grey H. M., Chesnut R. W.//*J. Immunol.* 1985. Vol. 135. P. 2937—2945.
1081. Kripke M. L., Fidler I. J.//*Cancer Res.* 1980. Vol. 40. P. 625—629.
1082. Kronenberg M., Davis M. M., Early P. W. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1980. Vol. 152. P. 1745—1761.
1083. Kronenberg M., Kraig E., Hood L.//*Cell.* 1983. Vol. 34. P. 327—329.
1084. Kronenberg M., Kraig E., Siu G. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 158. P. 210—227.
1085. Kronenberg M., Steinmetz M., Kobori J. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 5704—5708.
1086. Kronenberg M., Gorman J., Haars R. et al.//*Nature.* 1985. Vol. 313. P. 647—653.
1087. Kronheim S. R., March C. J., Erb S. K. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1985. Vol. 161. P. 450—502.
1088. Krönke M., Scheurich P., Pfizenmaier K. et al.//*Ibid.* 1982. Vol. 156. P. 41—54.
1089. Krönke M., Leonard W. J., Depper J. M. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1984. Vol. 81. P. 5214—5218.
1090. Krönke M., Scheurich P., Pfizenmaier K.//*Europ. J. Immunol.* 1984. Vol. 14. P. 176—180.

1091. Krönke M., Leonard W. J., Depper J. M., Greene W. C.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 1593—1598.
1092. Kruisbeek A. M., Astaldi G. C. B.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 984—991.
1093. Kruisbeek A. M., Zijlstra J. J., Kröse T. J. M.//Ibid. 1980. Vol. 125. P. 995—1002.
1094. Kruisbeek A. M., Hodes R. J., Singer A.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 13—29.
1095. Kruisbeek A. M., Sharrow S. O., Mathieson B. J., Singer A.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2168—2176.
1096. Kruisbeek A. M., Hathcock K. S., Hodes R. J., Singer A.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 1864—1869.
1097. Kruisbeek A. M., Fultz M., Sharrow S. O. et al.//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 1932—1946.
1098. Kruisbeek A. M., Sharrow S. O., Singer A.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1027—1032.
1099. Kruisbeek A. M., Davis M.-L., Matis L. A., Longo D. L.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 839—857.
1100. Kruisbeek A. M., Mond J. J., Fowlkes B. J. et al.//Ibid. 1985. Vol. 161. P. 1029—1047.
1101. Krupen K., Araneo B. A., Brink L. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 1254—1258.
1102. Krzych U., Fowler A. V., Miller A., Sercarz E. E.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1529—1534.
1103. Kubagawa H., Mayumi M., Kearney J. F., Cooper M. D.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1010—1024.
1104. Kumagai S., Scher J., Green I.//J. Clin. Invest. 1981. Vol. 68. P. 356—364.
1105. Kuon W., Rüsck E., Koch N., Hämmerling C. J.//Immunobiology. 1982. Vol. 162. P. 382—383.
- 1105a. Kupfer A., Singer S. J., Dennert G.//J. Exp. Med. (US). 1986. Vol. 163. P. 489—498.
1106. Kupperts R. C., Henney C. S.//J. Immunol. 1977. Vol. 118. P. 71—76.
1107. Kupperts R. C., Ballas Z. K., Green W. R., Henney C. S.//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 500—504.
1108. Kurnick J. T., Grönvik K.-O., Kimura A. K. et al.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 1255—1265.
1109. Kurosawa Y., von Boehmer H., Haas W. et al.//Nature. 1981. Vol. 290. P. 565—570.
1110. Kurt-Jones E. A., Beller D. I., Mizel S. B., Unanue E. R.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 1204—1208.
1111. Kvist S., Bregegere F., Rask L. et al.//Ibid. 1981. Vol. 78. P. 2772—2776.
1112. Kyewski B. A., Kaplan H. S.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2287—2294.
1113. Kyoisumi S., Noro N., Teshigawara K. et al.//Ibid. P. 2586—2594.
1114. Lachman L. B.//Fed. Proc. 1983. Vol. 42. P. 2639—2645.
1115. Lafferty K. J., Prowse S. J., Al-Adra A. et al.//Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci. 1980. Vol. 58. P. 533—544.
1116. Lafuse W. P., McCormick J. F., David C. S.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 709—715.
1117. Lafuse W. P., David C. S.//Transplant. Proc. 1981. Vol. 13. P. 1846—1849.
1118. Lafuse W. P., McCormick J. F., Corser P. S., David C. S.//Immunogenetics. 1981. Vol. 13. P. 115—125.
1119. Lafuse W. P., Corder P. S., David C. S.//Ibid. 1982. Vol. 15. P. 365—375.
1120. L'Age-Stehr J.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1236—1245.
1121. Lahmann P. J., Grennau D., Martin A., Demant P.//Nature. 1975. Vol. 258. P. 242—243.
1122. Lake P., Sabbadini E., Sehon A. H.//Immunology. 1974. Vol. 27. P. 441—455.
1123. Lake J. P., Andrew M. E., Pierce C. W., Braciale T. J.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 1805—1810.

1124. *Lalande M. E., McCutcheon M. J., Miller R. G.*//*Ibid.* Vol. 151. P. 12—19.
1125. *Lamb J. R., Echels D. D., Lake P. et al.*//*Nature.* 1982. Vol. 300. P. 66—68.
1126. *Lamb J. R., Feldmann M.*//*Ibid.* P. 456—458.
1127. *Lamb J. R., Skidmore B. J., Green N. et al.*//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 157. P. 1434—1447.
1128. *Lamb J. R., Zanders E. D., Lake P. et al.*//*Europ. J. Immunol.* 1984. Vol. 14. P. 153—157.
1129. *Lambris J. D., Ross G. D.*//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 155. P. 1400—1411.
1130. *Lancaster F., Chui Y. L., Batchelor J. R.*//*Nature.* 1985. Vol. 315. P. 336—337.
1131. *Lancki D. W., Lorber M. J., Loken M. R., Fitch F. W.*//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 157. P. 921—935.
1132. *Landahl C. A.*//*Europ. J. Immunol.* 1976. Vol. 6. P. 130—134.
1133. *Landegren U., Ramstedt U., Axberg I. et al.*//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 155. P. 1579—1584.
1134. *Landegren U., Andersson J., Wigzell H.*//*Europ. J. Immunol.* 1984. Vol. 14. P. 315—328.
1135. *Lando G., Berzowsky J. A., Roichlin M.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 206—211.
- 1135a. *Landolfo S., Kirchner H., Simon M. M.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 295—299.
- 1135b. *Lanier L. L., Cwirla S., Federspiel N., Phillips J. H.*//*J. Exp. Med. (US).* 1986. Vol. 163. P. 209—214.
1136. *Lanzavecchia A.*//*Nature.* 1985. Vol. 314. P. 537—539.
1137. *Larhammar D., Wiman K., Schenning L. et al.*//*Scand. J. Immunol.* 1981. Vol. 14. P. 617—622.
1138. *Larhammar D., Schenning L. K. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1982. Vol. 79. P. 3687—3691.
1139. *Larsson E.-L., Blomgren H.*//*Scand. J. Immunol.* 1979. Vol. 9. P. 53—60.
1140. *Larsson E.-L., Coutinho A.*//*Nature.* 1979. Vol. 280. P. 239—241.
1141. *Larsson E.-L.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 2828—2833.
1142. *Larsson E.-L., Iscove N. N., Coutinho A.*//*Nature.* 1980. Vol. 283. P. 664—666.
1143. *Larsson E.-L.*//*J. Immunol.* 1981. Vol. 126. P. 1323—1326.
1144. *Larsson E.-L.*//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 742—745.
1145. *Larsson E.-L., Gullberg M., Beretta A., Coutinho A.*//*Immunol. Rev.* 1982. Vol. 68. P. 67—89.
1146. *Lattime E. C., Gershon H. E., Stutman O.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 274—278.
1147. *Lattime E. C., Gillis S., Pecoraro G., Stutman O.*//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 480—486.
1148. *Lau C. Y., Wang E. Y., Goldstein G.*//*Cell. Immunol.* 1982. Vol. 66. P. 217—232.
1149. *Laugdon W. Y., Holt P. G., Shellam G. R.*//*Immunology.* 1981. Vol. 43. P. 555—562.
1150. *Lawman M. J. P., Naylor P. T., Huang L. et al.*//*J. Immunol.* 1981. Vol. 126. P. 304—308.
1151. *Layton J. E.*//*Ibid.* 1980. Vol. 125. P. 1993—1997.
1152. *Leanderson T., Ludgren E., Ruuth E. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1982. Vol. 79. P. 7455—7459.
- 1152a. *Leanderson T., Julius M. H.*//*Europ. J. Immunol.* 1986. Vol. 16. P. 182—187.
1153. *Lea T., Forre O. T., Michaelsen T. E., Natvig J. B.*//*J. Immunol.* 1979. Vol. 122. P. 2413—2417.
1154. *Le Beau M., Diaz M. O., Rowley J. D., Mak T. W.*//*Cell.* 1985. Vol. 41. P. 335—336.
- 1154a. *Lechler R. I., Ronchese F., Braunstein N. S., Germain R. N.*//*J. Exp. Med. (US).* 1986. Vol. 163. P. 678—696.

1155. Ledbetter J. A., Rouse R. V., Micklem H. S., Herzenberg L. A.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 280—295.
1156. Ledbetter J. A., Evans R. L., Lipinski M. et al.//Ibid. 1981. Vol. 153. P. 310—323.
1157. Ledbetter J. A., Seaman W. E., Tsu T. T., Herzenberg L. A.//Ibid. P. 1503—1516.
1158. Lee J. C., Hapel A. J., Ihle J. N.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2393—2398.
1159. Lee K.-S., Wilkinson A., Wong M.//Cell. Immunol. 1979. Vol. 48. P. 79—90.
1160. Lee K.-C., Wong M.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2487—2492.
1161. Lee N. E., D'Eustrachio P., Pravteheva D. et al.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 905—913.
1162. Lefranc M.-P., Rabbitts T. H.//Nature. 1985. Vol. 316. P. 464—466.
- 1162a. Lefranc M. P., Faster A., Rabbitts T. H.//Nature. 1986. Vol. 319. P. 420—422.
1163. Lefrancois L., Puddington L., Machamer C. E., Bevan M. J.//J. Exp. Med. 1985. Vol. 162. P. 1275—1293.
1164. Le Gros G. S., Herbert A. G., Watson J.//Immunology. 1984. Vol. 51. P. 103—113.
1165. Lehner T., Lamb J. R., Welsh K. L., Batchelor R. J.//Nature. 1981. Vol. 292. P. 770—772.
1166. Lehner T.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 370—378.
1167. Lei H.-Y., Dorf M. E., Waltenbaugh C.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 955—967.
1168. Lei H.-Y., Melvold R. W., Miller S. D., Waltenbaugh C.//Ibid. Vol. 156. P. 596—609.
1169. Lei H.-Y., Ju S.-T., Dorf M. E., Waltenbaugh C.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1274—1279.
1170. Leibson H. L., Marrack P., Kappler J. W.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 1681—1693.
- 1170a. Le Meur M., Gerlinger P., Benoist C., Mathis D.//Nature. 1985. Vol. 316. P. 38—42.
1171. Lemke H., Hämmerling G. J.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2465—2469.
1172. Lemonnier F., Mescher M., Sherman L., Burakoff S.//Ibid. 1978. Vol. 120. P. 1114—1120.
1173. Lemonnier F. A., Dubreuil P. C., Caillot D. H.//Immunology. 1982. Vol. 46. P. 533—544.
1174. Lemonnier F. A., le Bouteiller P. P., Olive D. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1176—1182.
1175. Leonard W. J., Depper J. M., Uchiyama T. et al.//Nature. 1982. Vol. 300. P. 267—269.
1176. Leonard W. J., Depper J. M., Robb R. J. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6957—6961.
1177. Leopardi E., Friend D. S., Rosenau W.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 3429—3435.
1178. Lepault F., Weissman I. L.//Nature. 1981. Vol. 293. P. 151—154.
1179. Lepault F., Coffman R. L., Weissman I. L.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 64—69.
- 1180—1181. Lerner E. A., Matis L. A., Janeway C. A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 1085—1101.
1182. Lesley J., Hyman R., Schulte R.//Cell. Immunol. 1985. Vol. 91. P. 397—403.
1183. Letvin N. L., Nepom J. T., Greene M. I. et al.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 2550—2554.
1184. Letvin N. L., Kaufman R. S., Finberg R.//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 2334—2338.
1185. Leung K.-H., Ashman R. B., Ertl H. C. J., Ada G. L.//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 803—810.
1186. Leung K.-N., Ada G. L.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1029—1043.

1187. *Levey R. H., Burleson R.*//Cell. Immunol. 1972. Vol. 4. P. 316—332.
1188. *Levy R. B., Shearer G. M., Hansen T. H.*//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 2263—2269.
1189. *Levy R. B., Gilheany P. E., Shearer G. M.*//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 405—418.
1190. *Levy R. B., Richardson J. C., Gudkowitz E. M. et al.*//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 2218—2223.
1191. *Levy R. B., Shearer G. M.*//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 1525—1529.
1192. *Levy R. B., Shearer G. M.*//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 1506—1511.
1193. *Levy R. B., Ozato K., Richardson J. C., Bluestone J. A.*//Ibid. 1985. Vol. 134. P. 677—683.
1194. *Lewis G. K., Goodman J. W.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 915—924.
1195. *Liew F. Y.*//Europ. J. Immunol. 1977. Vol. 7. P. 714—718.
1196. *Liew F. Y., Chan-Liew W. L.*//Ibid. 1978. Vol. 8. P. 168—171.
1197. *Liew F. Y., Russell S. M.*//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 799—814.
1198. *Liew F. Y.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 883—888.
1199. *Lightbody J. J., Bach F. H.*//Transplant. Proc. 1972. Vol. 4. P. 307—310.
1200. *Lin C. S., Rosenthal A. S., Passmore H. C., Hansen T. H.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 6406—6410.
1201. *Lin Y.-L., Askonas B. A.*//Nature. 1980. Vol. 288. P. 164—166.
1202. *Lin Y.-L., Askonas B. A.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 225—234.
1203. *Lin Y., Collins J. L., Patek P. Q., Cohn M.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 1154—1159.
1204. *Lipinski M., Fridman W. H., Tursz T. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1310—1322.
1205. *Lipkowitz S., Greene W. C., Rubin A. L. et al.*//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 31—37.
1206. *Lipscomb M. F., Ben-Sasson S. J., Uhr J. W.*//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 1748—1754.
1207. *Lipsick J. C., Serunian L., Sato V. L., Kaplan N. O.*//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 40—45.
1208. *Lisowska-Bernstein B., Rinuy A., Vassalli P.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1973. Vol. 70. P. 2879—2883.
- 1208a. *Ljunggren H.-G., Kärre K.*//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 1745—1759.
1209. *Lochmann-Mattes M.-L., Domzig W., Roder J.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1883—1886.
1210. *Loh D., Ross A. H., Hale A. H. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1067—1074.
1211. *Lomedico P. T., Gubber U., Hellman C. P. et al.*//Nature. 1984. Vol. 312. P. 458—462.
1212. *Lonai P., Ben-Neriah Y., Steinman L., Givol D.*//Europ. J. Immunol. 1978. Vol. 8. P. 827—832.
1213. *Lonai P., Puri J., Bitton S. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 942—951.
1214. *Lonai P., Puri J., Hämmerling G.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 549—553.
1215. *Lonai P., Steinman L., Friedman V. et al.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 382—387.
1216. *Lonai P., Rechavi G., Arman E., Givol D.*//EMBO Journal. 1983. Vol. 2. P. 781—786.
1217. *London J., Berrich S., Bach J.-F.*//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 438—443.
1218. *London J., Horton M. A.*//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1803—1807.
1219. *Longo D. L., Schwartz R. H.*//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 1452—1467.
1220. *Longo D. L., Schwartz R. H.*//Nature. 1980. Vol. 287. P. 44—47.
1221. *Longo D. L., Schwartz R. H.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 514—518.
1222. *Longo D. L., Davis M. L.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2525—2527.

1223. *Loor F., Kindred B.*//J. Exp. Med. (US). 1973. Vol. 138. P. 1044—1055.
1224. *López-Bolet M., Fontañ G., García Rodríguez M. C., de Landazuri M. O.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 679—683.
1225. *Lopez de Castro J. A., Strominger J. L., Strong D. M., Orr H. T.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 3813—3817.
1226. *Lorber M. I., Loken M. R., Stall A. M., Fitch F. W.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2798—2803.
1227. *Lowry P. A., Murphy D. B.*//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 189—201.
1228. *Lowy A., Tominaga A., Drebin J. A. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 147. P. 353—358.
1229. *Lu C. Y., Beller D. I., Unanue E. R.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 1597—1601.
1230. *Lu C. Y., Unanue E. R.*//Clin. Immunol. and Immunopathol. 1982. Vol. 25. P. 213—222.
1231. *Lu C. Y., Changelian P. S., Unanue E. R.*//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1722—1727.
1232. *Lukacher A. E., Braciale V. L., Braciale T. J.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 814—826.
1233. *Lukacher A. E., Morrison L. A., Braciale V. L. et al.*//Ibid. 1985. Vol. 162. P. 171—187.
1234. *Lutz C. T., Glasebrook A. L., Fitch F. W.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 726—734.
1235. *Lyons C. R., Tucker T. F., Uhr J. W.*//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 1598—1600.
1236. *Lyons C. R., Lipscomb M. F.*//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 1113—1119.
1237. *Ma D. D. F., Sylwesfrowicz T., Janossy G., Haffbrand A. V.*//Immunol. Today. 1983. Vol. 4. P. 65—68.
1238. *Ma D. I., Wilde D. B., Cajewski T. et al.*//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 1101—1110.
1239. *Maca R. D., Bonnard G. D., Herberman R. D.*//Ibid. 1979. Vol. 123. P. 246—251.
1240. *MacDonald H. R., Phillips R. A., Miller R. G.*//Ibid. 1973. Vol. 111. P. 565—574.
1241. *MacDonald H. R., Cerottini J.-C., Brunner K. T.*//J. Exp. Med. (US). 1974. Vol. 140. P. 1511—1521.
1242. *MacDonald H. R., Cerottini J.-C.*//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 1067—1072.
1243. *MacDonald H. R., Lees R. K.*//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1308—1313.
1244. *MacDonald H. R., Lees R. K., Sordat B. et al.*//Ibid. 1981. Vol. 126. P. 865—870.
1245. *MacDonald H. R., Thiernes N., Cerottini J.-C.*//Ibid. P. 1671—1675.
1246. *MacDonald H. R., Glasebrook A. L., Bron C. et al.*//Immunol. Rev. 1982. Vol. 68. P. 89—116.
1247. *MacDonald H. R., Glasebrook A. L., Cerottini J.-C.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1711—1722.
1248. *MacDonald H. R., Lees R. K., Glasebrook A. L., Sordat B.*//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 521—525.
1249. *MacDonald H. R., Lees R. K.*//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 605—610.
1250. *MacDonald T. T.*//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 767—773.
1251. *MacDonald T. T.*//Ibid. 1983. Vol. 13. P. 138—142.
1252. *Machida A., Kumazawa Y., Mizunoe K.*//Immunology. 1977. Vol. 33. P. 199—207.
1253. *Mackel A. M., Craddock G. R., Warr G. W. et al.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 582—590.
1254. *Mackel-Vandersteenhoven A., Moseley J. M., Marchalonis J. J.*//Cell. Immunol. 1984. Vol. 88. P. 147—161.
1255. *MacLennan I. C. M., Golstein P.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1551—1567.
1256. *Mage M., Mathieson B., Sharrow S. et al.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 228—235.

1257. Maier T., Levy J. G., Kilburn D. G.//Cell. Immunol. 1980. Vol. 56. P. 392—399.
1258. Maizel A. L., Mehta S. R., Hauf S. et al.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 1058—1064.
1259. Maizels R. M., Clarke J. A., Harvey M. A. et al.//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 509—515.
1260. Mak T. W., Yanagi Y.//Immunol. Rev. 1984. Vol. 81. P. 221—233.
1261. Malek T. R., Shevach E. M.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 825—831.
1262. Malek T. R., Clement L. T., Shevach E. M.//Ibid. 1983. Vol. 13. P. 810—814.
1263. Malek T. R., Robb R. J., Shevach E. M.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 747—755.
1264. Malek T. R., Robb R. J., Shevach E. M.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 5694—5698.
1265. Malissen B., Peele Price M., Goverman J. M. et al.//Cell. 1984. Vol. 36. P. 319—327.
1266. Malissen M., Minard K., Mjolsness S. et al.//Ibid. Vol. 37. P. 1101—1110.
- 1266a. Malissen M., McCoy C., Blanc D. et al.//Nature. 1986. Vol. 319. P. 28—33.
1267. Malkovsky M., Edwards A. J., Hunt R. et al.//Ibid. 1983. Vol. 302. P. 338—340.
1268. Maloy W. L., Hammerling G., Nathenson S. G., Coligan J. E.//J. Immunol. Meth. 1980. Vol. 37. P. 287—299.
1269. Maloy W. L., Coligan J. E.//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 11—22.
1270. Maloy W. L., Coligan J. C., Barra Y., Jay G.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 1216—1220.
1271. Malynn B. A., Wortis H. H.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 2253—2258.
1272. Manca F., Clarke J. A., Miller A. et al.//Ibid. Vol. 133. P. 2075—2078.
- 1272a. March C. J., Mosley B., Larsen A. et al.//Nature. 1985. Vol. 315. P. 641—647.
1273. Marchalonis J. J., Hunt J. C., Maxwell J., Wang An.-Ch.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 4733—4736.
1274. Marchalonis J. J., Vasta G. R., Hunt J. C. et al.//Cell. Immunol. 1983. Vol. 77. P. 161—175.
1275. Marchalonis J. J.//Scand. J. Immunol. 1985. Vol. 21. P. 99—107.
1276. Margulies D. H., Evans G. A., Flaherty L. F., Seidman J. G.//Nature. 1982. Vol. 295. P. 168—170.
1277. Margulies D. H., Evans C. A., Ozato K. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 463—470.
1278. Marker O., Andersen G. T.//Immunology. 1979. Vol. 38. P. 235—244.
1279. Marrack P., Kappler J. W.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 780—785.
1280. Marrack P., Kappler J. W.//Ibid. 1980. Vol. 152. P. 1274—1288.
1281. Marrack P., Hannum C., Harris M. et al.//Immunol. Rev. 1983. Vol. 76. P. 131—145.
1282. Marrack P., Kappler J.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 404—418.
1283. Marrack P., Skidmore B., Kappler J. W.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2088—2092.
1284. Marrack P.//Nature. 1984. Vol. 309. P. 310—311.
1285. Marshall G. D., Thurman G. B., Rossio J. L., Goldstein A. L.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 741—744.
1286. Martin A. F., Ford W. L.//J. Immunol. Meth. 1980. Vol. 33. P. 117—126.
1287. Martinez C., Pereira P., Bernabe R. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 4520—4523.
1288. Martz E.//J. Immunol. 1975. Vol. 115. P. 261—267.
1289. Martz E.//Transplantation. 1976. Vol. 21. P. 5—11.
1290. Martz E.//Contemp. Top. Immunobiol. 1977. Vol. 7. P. 301—361.
1291. Martz E., Davignon D., Kürzinger K., Springer T. A.//Adv. Exp. Med. Biol. 1982. Vol. 146. P. 447—466.
1292. Martz E., Parker W. L., Gately M. K., Tsoukas C. D.//Ibid. P. 121—144.
1293. Martz E.//Immunol. Today. 1984. Vol. 5. P. 254—255.

1294. Marx J. L.//Science. 1982. Vol. 216. P. 400—402.
1295. Maryanski J. L., MacDonald H. R., Sordal B., Cerottini J.-C.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 968—972.
1296. Mason D. W., Arthur R. P., Dallman M. J.//Immunol. Rev. 1983. Vol. 74. P. 57—82.
1297. Masucci M. G., Torsteinsdottir S., Pear W. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 1755—1762.
1298. Matis L. A., Hedrick S. M., Hannum C. et al.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 2439—2446.
1299. Matis L. A., Jones P. P., Murphy D. B. et al.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 508—523.
1300. Matis L. A., Glimcher L. H., Paul W. E., Schwartz R. H.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6019—6023.
1301. Matis L. A., Longo D. L., Hedrick S. M. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1527—1535.
1302. Mathieson B. J., Campbell P. S., Potler M., Asofsky R.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1267—1279.
1303. Mathieson B. J., Sharrow S. O., Rosenberg Y., Hämmerling U.//Nature. 1981. Vol. 289. P. 179—181.
1304. Mathis D. J., Benoist C., Williams H. V. E. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 273—277.
1305. Matoussian-Rogers A., Ledbetter J. A., Herzenberg L. A.//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 591—599.
1306. Mattingly J. A., Waksman B. H.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1878—1883.
1307. Mattingly J. A., Eardley D. D., Kemp J. D., Gershon R. K.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 787—790.
1308. Matzinger P., Mirkwood G.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 84—92.
1309. Mayer L., Fu S. M., Kunkel H. G.//Ibid. 1982. Vol. 156. P. 1860—1865.
1310. Mayrhofer G., Pugh C. W., Barclay A. N.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 112—122.
1311. McCombs C. C., Michalski J. P.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 936—941.
1312. McConnell I., Lachmann P. J., Givol D.//Immunology. 1976. Vol. 30. P. 841—850.
1313. McDevitt H. O.//J. Immunogenet. 1984. Vol. 8. P. 287—295.
1314. McDougal J. S., Shen F. W., Elster P.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 437—442.
1315. McDougal J. S., Shen F. W., Cort S., Bard P.//Ibid. 1980. Vol. 125. P. 1157—1160.
1316. McGhee J. R., Kiyono H., Michalek S. M. et al.//Ibid. Vol. 124. P. 1603—1611.
1317. McIntyre B. W., Allison J. P.//Cell. 1983. Vol. 34. P. 739—746.
1318. McIntyre B. W., Allison J. P.//Ibid. 1984. Vol. 38. P. 659—665.
1319. McIntyre K. R., Seidman J. G.//Nature. 1984. Vol. 308. P. 551—553.
1320. McKean D. J., Melvold R. W., David C.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 41—51.
1321. McKean J., Nilson A., Infante A. J., Kazim L.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2726—2734.
1322. McKenzie I. F. C., Parish C. R.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 847—851.
1323. McKenzie I. F. C., Morgan G. M., Melvold R. W., Kohn H. I.//Immunogenetics. 1977. Vol. 4. P. 333—347.
1324. McKenzie I. F. C.//Transplant. Proc. 1979. Vol. 11. P. 628—632.
1325. McLoughlin G. A., Wu A. W.//Ann. Surg. 1979. Vol. 190. P. 297—304.
1326. McLaghlin-Taylor E., Woodward J. C., McMillan M., Frelinger J. A.//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 969—974.
1327. McMichael A.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1458—1467.
1328. McMichael A. J., Parham P., Brodsky F. M., Pilch J. R.//Ibid. 1980. Vol. 152. P. 195—203.

1329. *McMichael A. J., Gotch F. M., Noble G. R., Beare P. A. S.*//New England J. Med. 1983. Vol. 309. P. 13—17.
1330. *McMillan M., Lewis K. D., Rovner D. M.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 5485—5489.
1331. *McNamara M., Köhler H.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 623—628.
1332. *McNicholas J. M., Murphy D. B., Matis L. A. et al.*//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 490—507.
1333. *McNicholas J. M., King D. P., Jones P. P.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 449—456.
1334. *Melief C. J. M., de Waal L. P., van der Meulen M. Y. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 993—1013.
1335. *Melino M. R., Nichols E. A., Strausser H. R., Hanson T. H.*//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 222—226.
1336. *Mellor A. L., Golden L., Weiss E. et al.*//Nature. 1982. Vol. 298. P. 529—534.
1337. *Meltzer M. S., Benjamin W. R., Farrar J. J.*//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2802—2805.
1338. *Meruelo D., Flieger N., Smith D., McDevitt H. O.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 2178—2182.
1339. *Meruelo D., Offer M., Rossomando A.*//Ibid. 1982. Vol. 79. P. 7460—7464.
1340. *Meruelo D., Offer M., Flieger N.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 946—950.
1341. *Mescher M., Sherman L., Lemonnier F., Burakoff S.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 946—951.
1342. *Mescher M. F., Balk S. P., Burakoff S. J., Herrman S. H.*//Adv. Exp. Med. Biol. 1982. Vol. 146. P. 41—56.
1343. *Metzger D. W., Miller A., Sercarz E. E.*//Nature. 1980. Vol. 287. P. 540—542.
1344. *Metzger Z., Hoffeld J. T., Oppenheim J. J.*//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 983—988.
1345. *Meuer S. C., Hussey R. E., Penta A. C. et al.*//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 1076—1079.
1346. *Meuer S. C., Acuto O., Hussey R. E. et al.*//Nature. 1983. Vol. 303. P. 808—810.
1347. *Meuer S. C., Cooper D. A., Hodgdon J. C. et al.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 1167—1172.
1348. *Meuer S. C., Cooper D. A., Hodgdon J. C. et al.*//Science. 1983. Vol. 222. P. 1239—1242.
1349. *Meuer S. C., Fitzgerald K. A., Hussey R. E. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 705—719.
1350. *Meuer S. C., Hodgdon J. C., Hussey R. E. et al.*//Ibid. Vol. 158. P. 988—993.
1351. *Meuer S. C., Acuto O., Herund T. et al.*//Annu. Rev. Immunol. 1984. Vol. 2. P. 23—50.
1352. *Meuer S. C., Hussey R. E., Cantrell D. A. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 1509—1513.
1353. *Michaelidis M., Sandrin M., Morgan G. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 464—469.
1354. *Michaelson J., Flaherty L., Bushkin Y., Yudkowitz H.*//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 129—140.
1355. *Michaelson J., Tung J. S., Flaherty L. et al.*//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 257—261.
1356. *Mier J. W., Gallo R. C.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1122—1127.
1357. *Miller C. L., Claudy B. J.*//Cell. Immunol. 1979. Vol. 44. P. 201—208.
1358. *Miller J. F. A. P.*//Adv. Cancer Res. 1979. Vol. 29. P. 1—45.
1359. *Miller J. F. A. P., Gamble J., Mottram P., Smith F. I.*//Scand. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 29—38.
1360. *Miller R. G.*//Nature. 1980. Vol. 287. P. 544—546.
1361. *Miller R. A., Stutman O.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 751—756.
1362. *Miller R. A., Stutman O.*//Behring Inst. Mitt. 1982. Bd. 70. S. 101—105.

1363. Miller R. A., Stutman O.//Cell. Immunol. 1982. Vol. 68. P. 114—127.
1364. Miller R. A.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2864—2867.
1365. Miller S. D.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 676—692.
1366. Miller S. D., Butler L. D., Claman H. N.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 461—468.
1367. Miller S. D., Butler L. D.//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 77—85.
1368. Miller S. D., Melvold R. W., Waltenbaugh C.//Immunogenetics. 1984. Vol. 19. P. 391—407.
1369. Mills C. D., North R. J., Dye E. S.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 621—630.
1370. Mills C. D., North R. J.//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 1448—1460.
1371. Mills G. B., Carlson G., Paetkau V.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 1904—1909.
1372. Mills G. B., Paetkau V.//Ibid. P. 1897—1903.
1373. Minami M., Schreffler D. C., Cowing C.//Ibid. Vol. 124. P. 1314—1321.
1374. Minami M., Okuda K., Furusawa S. et al.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 1390—1402.
1375. Minami M., Furusawa S., Dorf M. E.//Ibid. 1982. Vol. 156. P. 465—479.
1376. Minami M., Okuda K., Furusawa S., Dorf M. E.//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 1379—1395.
1377. Minato N., Reid L., Cantor H. et al.//Ibid. 1980. Vol. 152. P. 124—137.
1378. Mingari M. C., Moretta L.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 48—100.
1379. Mingari M. C., Moretta A., Maggi E. et al.//Ibid. 1984. Vol. 14. P. 1066—1069.
1380. Misfeld M. L., Hanna E. E.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1813—1817.
1381. Mishell R. I., Lee D. A., Grabstein K. H., Lachman L. B.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1614—1619.
1382. Mitsuoka A., Morikawa S., Baba M. et al.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 1018—1028.
1383. Mitsuya H., Matis L. A., Megson M. et al.//Ibid. 1983. Vol. 158. P. 994—999.
1384. Mittler R. S., Rao P. E., Talle M. A. et al.//Ibid. P. 99—111.
1385. Miyahara S., Yokomuro K., Takahashi H., Kimura Y.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 878—883.
1386. Miyatani S., Hiramatsu K., Nakajima P. B. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6336—6340.
1387. Miyawaki T., Yachie A., Nagaoki T. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 11—15.
1388. Miyawaki T., Yachie A., Uwadaha N. et al.//Ibid. Vol. 129. P. 2474—2478.
1389. Miyawaki T., Yachie A., Ohzeki S. et al.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 2737—2742.
1390. Miyazaki H., Ozawa T.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 984—989.
- 1390a. Miyazaki J.-i., Appella E., Ozato K.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1986. Vol. 83. P. 757—761.
1391. Mizel S. B., Dayer J.-M., Krane S. M., Mergenhagen S. E.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 2474—2478.
1392. Mizel S. B.//Immunol. Rev. 1982. Vol. 63. P. 51—72.
1393. Mizel S. B., Dukovich M., Rothstein J.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 1834—1837.
1394. Mizuochi T., Golding H., Rosenberg A. S. et al.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 427—443.
- 1394a. Mizuochi T., Ono S., Malek T. R., Singer A.//Ibid. 1986. Vol. 163. P. 603—619.
1395. Mochizuki D. Y., Watson J., Gillis S.//J. Immunol. Meth. 1981. Vol. 39. P. 185—201.
1396. Mohagheghpour N., Damle N. K., Moonka D. K. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 133—136.
1397. Monaco J. J., McDevitt H. O.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 3001—3005.
- 1397a. Monroe J. G., Kass M. J.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 1674—1682.

1398. Moore R. N., Oppenheim J. J., Farrar J. J. et al.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 1302—1305.
1399. Moorhead J. W.//Ibid. 1977. Vol. 119. P. 1773—1777.
1400. Moorhead J. W.//Europ. J. Immunol. 1978. Vol. 8. P. 163—167.
1401. Moorhead J. W.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1432—1447.
1402. Moorhead J. W.//Ibid. 1981. Vol. 154. P. 1811—1826.
- 1403—1404. Moorhead J. W.//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 820—830.
1405. Moretta A., Accolla R. S., Cerottini J.-C.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 599—604.
1406. Moretta A., Corte G., Mingari M. C., Moretta L.//J. Immunol. 1983. Vol. 128. P. 20—23.
1407. Moretta A., Pantaleo G., Moretta L. et al.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 571—585.
1408. Moretta A., Pantaleo G., Mingari M. C. et al.//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 121—125.
1409. Moretta A., Pantaleo G., Mingari M. C., Moretta L.//Ibid. 1985. Vol. 15. P. 803—808.
1410. Moretta L., Ferrarini M., Laura M., Mingari M. C.//Ibid. 1975. Vol. 5. P. 565—569.
1411. Moretta L., Ferrarini M., Mingari M. C. et al.//J. Immunol. 1976. Vol. 117. P. 2171—2174.
1412. Morgan E. L., Thoman M. L., Weigle W. O.//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 2526—2530.
1413. Morimoto C., Distaso J. A., Borel Y. et al.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 1645—1650.
1414. Morimoto C., Reinherz E. L., Borel Y., Schlossman S. F.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 157—161.
- 1414a. Morimoto C., Levin N.-L., Distaso J. A. et al.//Europ. J. Immunol. 1986. Vol. 16. P. 198—204.
1415. Morris A. G., Lin Yun-Lu, Askonas B. A.//Nature. 1982. Vol. 295. P. 150—152.
1416. Morrissey P. J., Kruisbeek A. M., Sharrow S. O., Singer A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 2003—2007.
1417. Morrissey P. J., Bradley D., Sharrow S. O., Singer A.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 365—377.
1418. Mosier D. E., Johnson B. M.//Ibid. 1975. Vol. 141. P. 216—226.
1419. Mosier D. E., Mathieson B. J., Campbell P. S.//Ibid. 1977. Vol. 146. P. 59—73.
1420. Moss D. J., Wallace L. E., Rickinson A. B., Epstein M. A.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 686—693.
1421. Moyers C., Dröege W.//Behring Inst. Mitt. 1982. Bd. 70. S. 106—113.
1422. Moyers C., Dröege W.//Cell. Immunol. 1983. Vol. 75. P. 1—12.
1423. Müllbacher A., Blanden R. V.//Ibid. 1979. Vol. 43. P. 70—81.
1424. Müllbacher A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 7689—7691.
1425. Müllbacher A., Blanden R. V., Brenan M.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1324—1338.
1426. Muraguchi A., Butler J. L., Kehrl J. H., Fauci A. S.//Ibid. P. 530—546.
1427. Muraguchi A., Kehrl J. H., Longo D. L. et al.//Ibid. 1985. Vol. 161. P. 181—197.
1428. Murahata R. I., Zighelboim J.//Cell. Immunol. 1979. Vol. 42. P. 289—297.
1429. Muraoka S., Miller R. G.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 54—71.
1430. Murphy D. B., Herzenberg L. A., Okumura K. et al.//Ibid. 1976. Vol. 144. P. 699—712.
1431. Murphy D. B., Jones P. P., Loken M. R., McDevitt H. O.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 5404—5408.
1432. Murphy D. B., Yamauchi K., Habu S. et al.//Immunogenetics. 1981. Vol. 13. P. 205—213.
1433. Murre C., Reiss C. S., Bernabeu C. et al.//Nature. 1984. Vol. 307. P. 432—436.
1434. Murre C., Waldmann R. A., Morton C. C. et al.//Ibid. 1985. Vol. 316. P. 549—552.

1435. Muul L. M., Gately M. K.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1202—1207.
1436. Nabel G., Greenberger J. S., Sakakeeny M. A., Cantor H.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1157—1161.
1437. Nabholz M., Vives J., Young H. M. et al.//Europ. J. Immunol. 1974. Vol. 4. P. 378—388.
1438. Nabholz M., Young H., Meo T. et al.//Immunogenetics. 1975. Vol. 1. P. 457—468.
1439. Nadler P. I., Klingenstein R. J., Hodes R. J.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 914—920.
1440. Nagarkatti P. S., Clark D. A.//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 638—643.
1441. Nagy Z. A., Elliott B. E., Nabholz M. et al.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 143. P. 648—659.
1442. Nagy Z. A., Elliott B. E., Nabholz M.//Ibid. Vol. 144. P. 1545—1553.
1443. Nagy Z. A., Elliott B. E.//Ibid. 1979. Vol. 150. P. 1520—1537.
1444. Nagy Z. A., Baxevanis C. N., Ishii N., Klein J.//Immunol. Rev. 1984. Vol. 60. P. 59—83.
1445. Nagy Z. A., Kusnierczyk P., Klein J.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 167—171.
1446. Nagy Z. A., Elliott B. E., Carlow D. A., Rubin B.//Ibid. 1982. Vol. 12. P. 393—400.
1447. Nairn R., Yamaga K., Nathenson S. G.//Annu. Rev. Genet. 1980. Vol. 14. P. 241—277.
1448. Nairn R., Spengler M. L., Hoffman M. D. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 3225—3234.
- 1448a. Nakajima H., Fujiwara H., Takai Y. et al.//Ibid. 1985. Vol. 135. P. 2199—2205.
1449. Nakajima P. B., Ochi A., Owen F. L., Tada T.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 2110—2120.
1450. Nakamura I.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 2742—2748.
1451. Nakamura M., Manser T., Pearson G. D. N. et al.//Nature. 1984. Vol. 307. P. 381—383.
1452. Nakanishi A., Imai Y., Nakano T., Ozawa T.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2137—2141.
1453. Nakanishi K., Sugimura K., Yaoita Y. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 6984—6988.
1454. Nakanishi K., Howard M., Muraguchi A. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2219—2223.
1455. Nakanishi K., Malek T. R., Smith K. A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 1605—1621.
1456. Nakanishi M., Brian A. A., McConnell H. M.//Mol. Immunol. 1983. Vol. 20. P. 1227—1231.
1457. Nakano T., Imai Y., Naiki M., Osawa T.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 1928—1932.
1458. Nakauchi H., Ohno J., Kim M. et al.//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 88—94.
1459. Nakayama E., Uenaka A.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 345—355.
1460. Naor D.//Cancer Immunol. and Immunother. 1983. Vol. 16. P. 1—10.
1461. Naparstek Y., Holoshitz J., Eisenstein S. et al.//Nature. 1982. Vol. 300. P. 262—264.
1462. Natali P. G., Nicotra M. R., Giacomini P. et al.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 359—365.
1463. Nathenson S. G., Uehara H., Ewenstein B. M. et al.//Annu. Rev. Biochem. 1981. Vol. 50. P. 1025—1052.
- 1463a. Nathenson S. G., Geliebter J., Pfaffenbach G. M., Zeij R. A.//Ann. Rev. Immunol. 1986. Vol. 4. P. 471—502.
- 1463b. Navarro R. F., Jalkanen S. T., Hsu M. et al.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 1075—1080.
1464. Neauport-Sautes C., Lilly F., Silvestre D., Kourilsky F. M.//J. Exp. Med. (US). 1973. Vol. 137. P. 511—526.
1465. Neckers L. M., Cossman J.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 3494—3498.

1466. *Nedrud J., Toulton M., Clark W. R.*//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 142. P. 960—973.
1467. *Needleman B. W., Pierres M., Devaux C. M. et al.*//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 589—596.
1468. *Neeffe J. R., Sachs D. H.*//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 996—1008.
1469. *Neeffe J. R., Sullivan J. E., Hartzman R. J.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 227—232.
1470. *Negase F., Waters S. J., Thorberke G. J., Bona C. A.*//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 652—655.
1471. *Neighbour P. A., Huberman H. S.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1236—1240.
1472. *Nepom J. T., Benacerraf B., Germain R. N.*//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 31.
1473. *Nepom J. T., Benacerraf B., Germain R. N.*//Ibid. P. 888—892.
1474. *Nesterenko V. G., Rubakova E. I., Egorova S. G. et al.*//Folia biol. (CSSR). 1984. Roč. 30. S. 307—316.
1475. *Ngan J., Kind L. S.*//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 861—865.
1476. *Nichols E. A., Krakauer T., Hansen T. H.*//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 2440.
1477. *Niedekorn J. Y., Streilein J. W.*//Ibid. P. 2670—2674.
1478. *Niederhuber J. E., Allen P.*//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 1103—1113.
1479. *Nikaido T., Shimizu A., Ishida N. et al.*//Nature. 1984. Vol. 311. P. 631—635.
1480. *Nishimura Y., Sasazuki T.*//Ibid. 1983. Vol. 302. P. 67—69.
- 1480a. *Noma Y., Sideras P., Naito T. et al.*//Ibid. 1986. Vol. 319. P. 640—646.
1481. *Noonan F. P., Kripke M. L., Pederson G. M., Greene M. I.*//Immunology. 1981. Vol. 43. P. 527—533.
1482. *Norcross M. A.*//Ann. Immunol. (Inst. Pasteur). D. 1984. Vol. 135. P. 115—144.
1483. *Norcross M. A., Bentley D. W., Margulies D. H., Germain R. N.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 1316—1337.
1484. *North R. J., Bursuker I.*//Ibid. 1984. Vol. 159. P. 1295—1311.
1485. *Northoff H., Carter C., Oppenheim J. J.*//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 1823—1828.
1486. *Nossal G. J. V., Pike B. L.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 3844—3847.
1487. *Novogrodsky A., Patya M., Rubin A. L., Stenzel K. H.*//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1983. Vol. 114. P. 93—98.
1488. *Nunez G., Ball E. J., Stastny P.*//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 666—673.
1489. *Nussenzweig M. C., Steinman R. M.*//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 1196—1212.
1490. *Nussenzweig M. C., Steinman R. M., Unkeless J. C. et al.*//Ibid. 1981. Vol. 154. P. 168—187.
1491. *Nussenzweig M. C., Steinman R. M., Witmer M. D., Gutchinov B.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 161—165.
1492. *O'Connor S., Eardley D., Shen F. W. et al.*//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 913—924.
1493. *Oehler J. R., Herberman R. B.*//Intern. J. Cancer. 1978. Vol. 21. P. 221—224.
1494. *Oeltgen H. C., Terhorst C., Cantley L. C., Rosoff P. M.*//Cell. 1985. Vol. 40. P. 583—590.
- 1494a. *Oeltgen H. C., Pettey C. L., Maloy W. L., Terhorst C.*//Nature. 1986. Vol. 320. P. 272—274.
1495. *Ohara J., Lahet S., Paul W. E., Inman J.*//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 2518—2523.
1496. *Okada J., Stastny P.*//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 59—70.
1497. *Okada M., Klimpel G. R., Ruppers R. C., Henney C. S.*//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 2527—2533.
1498. *Okada M., Hanney C. S.*//Ibid. 1980. Vol. 125. P. 300—307.

1499. Okada M., Stanton T. H., Kuppers R. C., Henney C. S.//*Ibid.* 1981. Vol. 126. P. 1635—1639.
1500. Okada M., Yoshimura N., Kaieda T. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1982. Vol. 79. P. 7417—7421.
1501. Okada M., Sakaguchi N., Yoshimura N. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 157. P. 583—590.
1502. Okada S., Strober S.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 1892—1897.
1503. Oki A., Sercarz E.//*J. Exp. Med. (US).* 1985. Vol. 161. P. 897—911.
1504. Okuda K., David C. S., Shreffler D. C.//*Ibid.* 1977. Vol. 146. P. 1561—1573.
1505. Okuda K., David C. S.//*Ibid.* 1978. Vol. 147. P. 1028—1036.
1506. Okuda K., Tani K., Ishigatsubo Y. et al.//*Transplantation.* 1980. Vol. 30. P. 368—372.
1507. Okuda K., Minami M., Furusawa S., Dorf M. E.//*Ibid.* 1981. Vol. 154. P. 1838—1851.
1508. Okuda K., Minami M., Sherr D. H., Dorf M. E.//*Ibid.* P. 468—479.
1509. Okuda K., Minami M., Yu S.-T., Dorf M. E.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1981. Vol. 78. P. 4537—4561.
1510. Okumura K., Takemori T., Tokuhisa K., Tada T.//*J. Exp. Med. (US).* 1977. Vol. 146. P. 1234—1245.
1511. Okumura K., Nonaka M., Hayakawa K., Tada T.//*T and B Lymphocytes: Recognition and Function*/Ed. F. H. Bach, B. Bonavida, E. S. Vitetta, C. F. Fox. N. Y.: Acad. press, 1979. P. 383—389.
1512. Oliver K., Noell R. J., Uhr J. W. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1985. Vol. 82. P. 2465—2467.
1513. O'Neill H. C., Blanden R. V.//*J. Exp. Med. (US).* 1979. Vol. 149. P. 724—731.
1514. O'Neill H. C., McKenzie I. F. C.//*Immunogenetics.* 1980. Vol. 11. P. 225—239.
1515. Oppenheim J. J., Stadler B. M., Stragorian R. P. et al.//*Fed. Proc.* 1982. Vol. 41. P. 257—262.
1516. Order S. E., Waksman B. H.//*Transplantation.* 1969. Vol. 8. P. 783—787.
1517. Orn A., Goodenow R. S., Hood L. et al.//*Nature.* 1982. Vol. 297. P. 415—417.
1518. Orosz C. G., Finke J. H.//*Cell. Immunol.* 1978. Vol. 37. P. 86—95.
1519. Orosz C. G., Fidelus R. K., Roopenian D. C. et al.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 1865—1868.
1520. Orr H. T., Lopez de Castro J. A., Parham P. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1979. Vol. 76. P. 4395—4399.
1521. Ortaldo J. R., Herberman R. B.//*Annu. Rev. Immunol.* 1984. Vol. 2. P. 359—394.
1522. Ortega G., Robb R. J., Shevach E. M., Malek T. R.//*J. Immunol.* 1984. Vol. 133. P. 1970—1975.
1523. Osband M., Parkman R.//*Ibid.* 1978. Vol. 121. P. 179—185.
1524. Osborne B. A., Rudikoff S.//*Ibid.* 1983. Vol. 131. P. 1386—1390.
1525. Oseroff A., Okada S., Strober S.//*Ibid.* 1984. Vol. 132. P. 101—105.
1526. Owen F. L., Ju S.-T., Nisonoff A.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1977. Vol. 74. P. 2084—2088.
1527. Owen F. L., Riblet R.//*J. Exp. Med. (US).* 1984. Vol. 159. P. 313—317.
1528. Owen J. A., Allouche M., Doherty P. C.//*Cell. Immunol.* 1982. Vol. 67. P. 49—59.
1529. Owen M. J., Kissonerghis A.-M., Lodish H. F.//*J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 9678—9684.
1530. Ozato K., Ebert J. D., Adler W. H.//*Cell. Immunol.* 1976. Vol. 22. P. 323—333.
1531. Ozato K., Henkart P., Jensen C., Sachs D. H.//*J. Immunol.* 1981. Vol. 126. P. 1780—1785.
1532. Ozato K., Sachs D. H.//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 807—810.
1533. Ozato K., Evans G. A., Shykind B. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 2040—2043.
1534. Ozawa H., Diamenstein T.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 51—55.
1535. Ozawa H., Diamenstein T.//*Ibid.* 1984. Vol. 132. P. 2445—2450.

- 1535a. *Ozawa H., Josimovic-Alasevic O., Diamenstein T.*//*Europ. J. Immunol.* 1986. Vol. 16. P. 467—469.
1536. *Paavonen T., Andersson L. C., Adlercreutz H.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1981. Vol. 154. P. 1935—1945.
1537. *Pacifico A., Capra J. D.*//*Ibid.* 1980. Vol. 152. P. 1289—1301.
1538. *Paciucci P. A., Macphail S., Zarling J. M., Bach F. H.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 370—375.
1539. *Paetkau V., Shaw J., Mills G., Caplan B.*//*Immunol. Rev.* 1980. Vol. 51. P. 157—175.
1540. *Pahwa R. N., Modak M. J., McMorrow T. et al.*//*Cell. Immunol.* 1981. Vol. 58. P. 39—48.
1541. *Paige C. J., Schreier M. H., Sidman C. L.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1982. Vol. 79. P. 4756—4760.
1542. *Palacios R., Alarcon-Segovia D., Llorente L. et al.*//*Immunology*. 1981. Vol. 42. P. 127—135.
1543. *Palacios R., Möller G.*//*Nature*. 1981. Vol. 290. P. 792—794.
1544. *Palacios R.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 337—342.
1545. *Palacios R.*//*Ibid.* Vol. 129. P. 2586—2593.
1546. *Palacios R., Andersson U.*//*Cell. Immunol.* 1982. Vol. 66. P. 88—98.
1547. *Palacios R., Claesson L., Möller G. et al.*//*Immunogenetics*. 1982. Vol. 15. P. 341—356.
1548. *Palacios R., Fernandez C., Sideras P.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 777—782.
1549. *Palacios R., Martinez-Maza O., Guy K.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1983. Vol. 80. P. 3456—3460.
1550. *Palacios R., Henson G., Steinmetz M., McKearn J. P.*//*Nature*. 1984. Vol. 309. P. 126—131.
1551. *Palaszynski E. W., Ihle J. N.*//*J. Immunol.* 1984. Vol. 132. P. 1872—1878.
1552. *Pan S., Wettstein P. J., Knowles B. B.*//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 243—246.
1553. *Papiernick M., Laroche L.*//*Cell. Immunol.* 1982. Vol. 66. P. 233—239.
1554. *Parish C. R., McKenzie I. F. C.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1977. Vol. 146. P. 332—343.
1555. *Parker W. L., Martz E.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 25—35.
1556. *Parmiani G., Ballinari D., Sensi M. L.*//*Ibid.* P. 662—668.
1557. *Pasternack M. S., Sitkovsky M. V., Eisen H. N.*//*Ibid.* 1983. Vol. 131. P. 2477—2483.
1558. *Pasternack M. S., Eisen H. N.*//*Nature*. 1985. Vol. 314. P. 743—744.
1559. *Patek P. Q., Collins J. I., Cohn M.*//*Europ. J. Immunol.* 1983. Vol. 13. P. 433—436.
1560. *Patten P., Vokota T., Rothbard J. et al.*//*Nature*. 1984. Vol. 312. P. 40—44.
1561. *Pawelec G., Borowitz A., Krammer P. H., Wernet P.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 387—392.
1562. *Pawelec G. P., Hadam M. R., Ziegler A. et al.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 1892—1896.
1563. *Pease L. R., Schulze D. H., Pfaffenbach G. M., Nathenson S. G.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1983. Vol. 80. P. 242—246.
1564. *Peavy D. L., Pierce C. W.*//*J. Immunol.* 1975. Vol. 115. P. 1521—1524.
1565. *Peck A. B., Klein J., Wigzell H.*//*Ibid.* 1980. Vol. 125. P. 1078—1086.
1566. *Peck A. B., Murgita R. A., Wigzell H.*//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 1134—1140.
1567. *Pelet J., Brunner K. T., Nordin A. A., Cerottini J.-C.*//*Europ. J. Immunol.* 1971. Vol. 1. P. 238—242.
- 1567a. *Pelicci P.-G., Knowles D. M. II, Favera R. D.*//*J. Exp. Med. (US)*. 1985. Vol. 162. P. 1015—1024.
1568. *Pellegrino M. A., Ferrone S., Brantbar C., Hayflick L.*//*Exp. Cell. Res.* 1976. Vol. 97. P. 340—345.
1569. *Penfold P. L., Jones B.*//*Immunology*. 1979. Vol. 36. P. 509—518.
- 1569a. *Penit C., Papiernik M.*//*Europ. J. Immunol.* 1986. Vol. 16. P. 257—263.
- 1569b. *Pereira P., Larsson E.-L., Forni L. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1985. Vol. 82. P. 7691—7695.
1570. *Perera M. A. C., Asherson G. L.*//*Immunology*. 1981. Vol. 43. P. 613—618.

1571. Pernis B., Miller J. F. A. P., Forni L., Sprent J.//Cell. Immunol. 1974. Vol. 10. P. 476—482.
1572. Perry L. L., Benacerraf B., Greene M. I.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 2144—2147.
1573. Perry L. L., Greene M. I.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 480—491.
1574. Perry L. L., Williams I. R., Dirusso S.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 16—23.
1575. Perussia B., Fanning V., Trinchieri G.//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 223—231.
1576. Peterson L. B., Wilner G. D., Thomas D. W.//Ibid. Vol. 130. P. 2542—2545.
1577. Petterson S., Pobor G., Bandeira A., Coutinho A.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 249—253.
1578. Pettinelli C. B., Schmitt-Verhulst A.-M., Shearer G. M.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 847—854.
1579. Pettinelli C. B., Ahmann G. B., Shearer G. M.//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1911—1916.
1580. Pjizenmaier K., Delzeit R., Rölinghoff M., Wagner H.//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 577—588.
1581. Pjizenmaier K., Scheurich P., Däubener W. et al.//Ibid. 1984. Vol. 14. P. 33—39.
1582. Phillips J. H., Le A. M., Lanier L. L.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 159. P. 993—1008.
1583. Phillips W. H., Ortaldo J. R., Herberman R. B.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 2322—2327.
1584. Pickel K., Hoffman M. K.//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 653—656.
- 1584a. Pidgeon C., Schreiber R. D., Schultz R. M.//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 311—314.
1585. Pierce C. W., Germain R. N., Kapp J. A., Benacerraf B.//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 146. P. 1827—1832.
1586. Pierce C. W., Kapp J. A.//Ibid. 1978. Vol. 148. P. 1271—1281.
1587. Pierce C. W., Kapp J. A., Sorensen C. M., Trial J.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 2874—2881.
1588. Pierres A., Bromberg J. S., Sy M.-S. et al.//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 343—348.
1589. Pierres A., Pierres M.//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 399—412.
1590. Pierres A., Pierres M.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1262—1267.
1591. Pierres M., Germain R. N., Dorf M. E., Benacerraf B.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 3975—3979.
1592. Pierres M., Germain R. N., Dorf M. E., Benacerraf B.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 656—666.
1593. Pierres M., Benacerraf B., Germain R. N.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 2756—2762.
1594. Pierres M., Devaux C., Dosseto M., Marchetto S.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 481—495.
1595. Pierres M., Goridis C., Golstein P.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 60—69.
1596. Piessens W., Churchill W. H., David J. R.//J. Immunol. 1975. Vol. 114. P. 293—299.
1597. Piguet P.-F., Irle C., Kallatte E., Vassalli P.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 581—593.
1598. Pike B., Vaux D., Clark-Lewis I. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 6350—6354.
1599. Pilarski L. M.//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 145. P. 709—725.
1600. Pilarski L. M., Al-Adra A. R., McKenzie I. F. C.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 365—369.
1601. Pillemer E., Weissman J. L.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1068—1079.
1602. Pimsler M., Forman J.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1302—1305.
1603. Pincus M. R., Gerewitz F., Schwartz R. H., Scheraga H. A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 3297—3300.

- 1604 *Pircher H., Hämmerling G., Hengartner H.*//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 114—152.
- 1605 *Plata F., MacDonald H. R., Shain B.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. p. 852—860.
- 1606 *Plata F.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 1050—1062.
- 1607 *Plate J. M. D.*//Cell. Immunol. 1977. Vol. 32. P. 183—192.
- 1608 *Plaut M.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 692—701.
- 1609 *Plaut M., Lichtenstein L. M., Henney C. S.*//Ibid. 1973. Vol. 110. p. 771—780.
- 1610 *Ploegh H. L., Orz H. T., Strominger J. L.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 6081—6085.
- 1611 *Ploegh H. L., Orr H. T., Strominger J. L.*//Cell. 1981. Vol. 24. P. 287—299.
- 1612 *Ploegh H. L., Orr H. T., Strominger J. L.*//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 270—275.
- 1613 *Plunkett M. L., Coligan J. E., David C. S., Freed J. M.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 937—942.
- 1614 *Pober J. S., Collins T., Gimbrone M. A. et al.*//Nature. 1983. Vol. 305. P. 726—728.
- 1615 *Podack E. R., Konigsberg P. J.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 695—710.
- 1615a *Polke C. R., Lowenthal J. W., Roth S. A. et al.*//Europ. J. Immunol. 1986. Vol. 16. P. 146—150.
- 1616 *Pollack S. B., Emmons S. L.*//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2277—2281.
- 1617 *Postlethwaite A. E., Lachman L. B., Mainardi C. L., Kang A. H.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 801—806.
- 1618 *Potter T. A., Morgan G. M., McKenzie I. F. C.*//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 546—550.
- 1619 *Potter T. A., Hogarth P. M., McKenzie I. F. C.*//Transplantation. 1981. Vol. 31. P. 339—343.
- 1620 *Prange C. A., Fiedler J., Nitecki D. E., Bellone C. J.*//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 146. P. 766—778.
- 1621 *Press O. W., Rosse C., Clagett J.*//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 146. P. 735—746.
- 1622 *Primi D., Hammarström L., Möller E., Smith C. I. E.*//Cell. Immunol. 1979. Vol. 47. P. 143—152.
- 1623 *Primi D., Lewis G. K., Goodman J. W.*//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 1286—1292.
- 1624 *Principato M. A., Thompson G. S., Friedman S. M.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1444—1458.
- 1624a *Procopio A. D. G., Allavena P., Ortaldo J. R.*//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 3264—3271.
- 1625 *Prystowsky M. B., Ely J. M., Beller D. I. et al.*//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2337—2344.
- 1626 *Plak W., Pewicka M., Kollat M.*//Nature. 1980. Vol. 283. P. 199—200.
- 1627 *Plak W., Zembala M., Asherson G. L., Marcinkiewicz J.*//Intern. Arch. Allergy and Appl. Immunol. 1981. Vol. 65. P. 121—128.
- 1628 *Plak W., Askenase P. W., Rosenstein R. W., Gershon R. K.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 1969—1973.
- 1629 *Plak W., Gershon R. K., Flood P. M.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1822—1835.
- 1630 *Plak W., Plak M., Gryglewski A.*//Scand. J. Immunol. 1986. Vol. 23. P. 555—560.
- 1631 *Puré E., Isakson P. C., Takatsu K. et al.*//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 1953—1958.
- 1632 *Puré E., Isakson P. C., Kappler J. W. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 600—612.
- 1633 *Puri J., Ben-Neriah Y., Givol D., Lonai P.*//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 281—283.
- 1634 *Puri J., Lonai P.*//Ibid. P. 273—281.

1635. Puri J., Abramson-Leeman S., Cantor H.//Ibid. 1985. Vol. 15. P. 362—368.
1636. Quan P.-L., Ishizaka T., Bloom B. R.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1786—1791.
1637. Quintans J., Quan Z. S., Arias M. A.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 1245—1250.
1638. Rabin E. M., Ohara J., Paul W. E.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 2935—2939.
1639. Rabinowich H., Umiel T., Reisner Y. et al.//Cell. Immunol. 1979. Vol. 47. P. 347—355.
1640. Rabourdin-Combe C., Mach B.//Nature. 1983. Vol. 303. P. 670—674.
1641. Raff M. C., Cantor H.//Progr. Immunol. 1971. Vol. 1. P. 83—129.
1642. Ramila G., Erb P.//Nature. 1983. Vol. 304. P. 442—445.
1643. Ramila G., Sklenar I., Kennedy M. et al.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 189—192.
1644. Rammensee H.-G., Nagy Z. A., Klein J.//Ibid. 1982. Vol. 12. P. 930—934.
1645. Rammensee H.-G., Fink P. J., Bevan M. J.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 2390—2396.
1646. Ramshaw I. A., Woodsworth M., Wright K., McKenzie I. F. C.//Ibid. 1980. Vol. 125. P. 197—201.
1647. Ranges G. E., Goldstein G., Boyse E. A., Schield M.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1057—1064.
- 1647a. Ranges G. E., Sriram S., Cooper S. M.//Ibid. 1985. Vol. 162. P. 1105—1110.
1648. Rao A., Faas S. J., Miller L. J. et al.//Ibid. 1983. Vol. 158. P. 1243—1258.
1649. Rapaport S. S., Dodge G. R.//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 943—948.
1650. Raulet D. H., Bevan M. J.//Ibid. P. 1766—1784.
1651. Raulet D. H., Bevan M. J.//Nature. 1982. Vol. 296. P. 754—757.
1652. Raulet D. H., Garman R. D., Saito H., Tonegawa S.//Ibid. 1985. Vol. 314. P. 103—107.
1653. Real F. X., Mattes M. J., Houghton A. N. et al.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 1219—1233.
1654. Reddehase M., Suessmuth W., Moyers C. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 61—68.
1655. Reddehase M. J., Keil G. M., Koszinowski U. H.//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 56—61.
1656. Redelman D., Hudig D.//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 870—878.
- 1656a. Reem G. H., Yeh N.-H., Urdal D. L. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 8663—8666.
1657. Rehn T. G., Inman J. K., Shearer G. M.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 1134—1140.
1658. Reimann J., Miller R. G.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2128—2134.
1659. Reimann J., Miller R. G.//Cell. 1985. Vol. 40. P. 571—581.
1660. Reinherz E. L., Kung P. C., Pesando J. M. et al.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1472—1482.
1661. Reinherz E. L., Kung P. C., Goldstein G. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 1588—1592.
1662. Reinherz E. L., Hussey R. E., Fitzgerald K. et al.//Nature. 1981. Vol. 294. P. 168—170.
1663. Reinherz E. L., Rosen F. S.//Amer. J. Med. 1981. Vol. 71. P. 511—513.
1664. Reinherz E. L., Meuer S., Fitzgerald K. A. et al.//Cell. 1982. Vol. 30. P. 735—743.
1665. Reinherz E. L., Morimoto C., Fitzgerald K. A. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 463—468.
1666. Reinherz E. L., Meuer S. C., Schlossman S. F.//Immunol. Today. 1983. Vol. 4. P. 5—8.
1667. Reinherz E. L.//Ibid. 1985. Vol. 6. P. 75—79.
1668. Reinisch C. L., Andrew S. L., Schlossman S. F.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 2989—2992.
1669. Reinisch C. L., Kurnitz S. E.//Cell. Immunol. 1981. Vol. 58. P. 165—174.

1670. *Reisner Y., linker-Israeli M., Sharon N.*//*Ibid.* 1976. Vol. 25. P. 129—134.
1671. *Reiss C. S., Hemler M. E., Engelhard V. H. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1980. Vol. 77. P. 5432—5436.
1672. *Reiss C. S., Burakoff S. J.*//*J. Exp. Med. (US).* 1981. Vol. 154. P. 541—546.
1673. *Reiss C. S., Evans G. A., Margulies D. H. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 2709—2712.
1674. *Reske-Künz A. B., Iskandar I., Gattner H.-G. et al.*//*Immunogenetics.* 1982. Vol. 16. P. 219—227.
1675. *Reske-Künz A. B., Rüde E.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 1252—1255.
1676. *Reyes A. A., Johnson M. J., Schöld M. et al.*//*Immunogenetics.* 1981. Vol. 14. P. 383—392.
1677. *Reyes A. A., Schöld M., Wallace R. B.*//*Ibid.* 1982. Vol. 16. P. 1—9.
1678. *Reynolds C. W., Holden H. T.*//*NK Cells and Other Natural Effector Cells.* N. Y.: Acad. press. 1982. P. 319—324.
1679. *Reynolds C. W., Bonyhadi M., Herberman R. B. et al.*//*J. Exp. Med. (US).* 1985. Vol. 161. P. 1249—1254.
1680. *Rich R. R., Pierce C. W.*//*Ibid.* 1973. Vol. 137. P. 649—659.
1681. *Rich S. S., Rich R. R.*//*Ibid.* 1976. Vol. 143. P. 672—677.
1682. *Rich S. S., David C. S.*//*Ibid.* 1979. Vol. 150. P. 1108—1121.
1683. *Rich S. S., David C. S., Rich R. R.*//*Ibid.* Vol. 149. P. 114—126.
1684. *Rich S. S.*//*Ibid.* 1983. Vol. 158. P. 738—751.
1685. *Rich S., Carpino M. R., Arhelger C.*//*Ibid.* 1984. Vol. 159. P. 1473—1490.
1686. *Richman L. R., Strober W., Berzofsky J. A.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 619—625.
1687. *Richman L. K., Graeff A. S., Yarchoan R., Strober W.*//*Ibid.* 1981. Vol. 126. P. 2079—2083.
1688. *Ritter M. A.*//*Immunology.* 1978. Vol. 34. P. 69—75.
1689. *Robb R. J., Munck A., Smith K. A.* // *J. Exp. Med. (US).* 1981. Vol. 154. P. 1455—1474.
1690. *Robb R. J., Greene W. C.*//*Ibid.* 1983. Vol. 158. P. 1332—1337.
1691. *Robb R. J., Kutny P. M., Chowdhry V.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 5990—5994.
1692. *Robb R. J.*//*Immunol. Today.* 1984. Vol. 5. P. 203—209.
1693. *Roberts L. K., Spellman C. W., Warner N. L.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 514—519.
1694. *Robinson J. H., Owen J. J. T.*//*Clin. and Exp. Immunol.* 1977. Vol. 27. P. 322—327.
1695. *Robinson P. J.*//*Immunogenetics.* 1982. Vol. 15. P. 333—340.
1696. *Rochlin R. E.*//*J. Immunol.* 1977. Vol. 118. P. 1734—1738.
1697. *Rochlin R. E., Haberek-Davidson A.*//*J. Clin. Immunol.* 1981. Vol. 1. P. 73—79.
1698. *Rock K. L.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 1360—1366.
1699. *Rock K. L., Benacerraf B.*//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 157. P. 359—364.
1700. *Rock K. L., Benacerraf B.*//*Ibid.* P. 1618—1634.
1701. *Rock K. L., Barnes M. C., Germain R. N., Benacerraf B.*//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 457—462.
1702. *Rock K. L., Benacerraf B.*//*J. Exp. Med. (US).* 1984. Vol. 159. P. 1238—1252.
1703. *Rock K. L., Benacerraf B., Abbas A. K.*//*Ibid.* Vol. 160. P. 1102—1113.
1704. *Rock K. L., Benacerraf B.*//*J. Immunol.* 1984. Vol. 132. P. 1654—1662.
1705. *Rock K. L., Benacerraf B.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1984. Vol. 81. P. 1221—1224.
1706. *Rode H. N., Uotila M., Gordon J.*//*Europ. J. Immunol.* 1978. Vol. 8. P. 213—216.
1707. *Rodriguez G., Andersson G., Wigzell H., Peck A. B.*//*Ibid.* 1979. Vol. 9. P. 737—746.
1708. *Roehm N. W., Aller B. J., Bach F. H.*//*J. Immunol.* 1981. Vol. 126. P. 353—358.

1709. Roehm N., Herron L., Cambier J. et al.//Cell. 1984. Vol. 38. P. 577—584.
1710. Roelants G. E., Mayor-Witley K. S.//Cell. Immunol. 1977. Vol. 34. P. 420—423.
1711. Rogers M. J., Gooding L. R., Margulies D. H., Evans C. A.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2418—2423.
1712. Rogers M. J., Galetto G., Hearing Y. J. et al.//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 3211—3217.
1713. Rogers T. J., Campbell L., Calhoun K. et al.//Cell. Immunol. 1982. Vol. 66. P. 269—276.
1714. Rolinck A. G., Radaszkiewicz T., Pals S. T. et al.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 1501—1522.
1715. Röllinghoff M., Starzinski-Powitz A., Pfizenmaier K., Wagner H.//Ibid. 1977. Vol. 145. P. 455—459.
1716. Röllinghoff M., Pfizenmaier K., Wagner H.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 337—342.
1717. Rollwagen F. M., Stutman O.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1359—1366.
1718. Ron Y., De Baetselier P., Tzehoval E. et al.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 167—171.
1719. Roopenian D. C., Widmer M. B., Orosz C. G., Bach F. H.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 2135—2140.
1720. Rosenbaum J. T., Adelman N. E., McDevitt H. O.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 1694—1702.
1721. Rosenberg S. A., Spiess P. J., Schwartz S.//Cell. Immunol. 1980. Vol. 54. P. 293—306.
1722. Rosenberg S. A.//J. Nat. Cancer. Inst. 1985. Vol. 75. P. 595—603.
1723. Rosenberg Y. J., Asofsky R.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 705—710.
1724. Rosenstein R. W., Murray J. H., Cone R. E. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 5821—5825.
1725. Rosenthal A. S.//Immunol. Rev. 1978. Vol. 40. P. 136—152.
1726. Rosenthal K. L., Oldstone M. B. A., Hengartner H., Zinkernagel R. M.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 475—479.
1727. Rosenwasser L. J., Huber B. T.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1113—1123.
1728. Roska A. K., Johnson A. R., Lipsky P. E.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 136—145.
1729. Rothbard J. B., Hopp T. P., Edelman G. M., Cunningham B. A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 4239—4243.
1730. Rothenberg E., Triglia D.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 455—468.
1731. Rothenberg E.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 140—154.
1732. Rothenberg E., Triglia D.//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 365—370.
1733. Rothstein T. L., Mage M., Jones G., McHugh L. L.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1652—1656.
1734. Rotter V., Trainin N.//Cell. Immunol. 1974. Vol. 13. P. 76—86.
1735. Rouse B. T., Miller L. S., Turtinen L., Moore R. N.//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 926—930.
1736. Royer H. D., Bensussan A., Acuto O., Reinherz E. L.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 947—952.
1737. Royer H. D., Ramarli D., Acuto O. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 5510—5514.
1738. Rubens R. P., Henney C. S.//J. Immunol. 1977. Vol. 118. P. 180—186.
1739. Rubin B., Jørgensen P. N., Guttler F., Hoier-Madsen M.//Scand. J. Immunol. 1976. Vol. 5. P. 345—359.
1740. Rubinstein L. J., Yeh M., Bona C. A.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 506—521.
1741. Russell J. H., Masakowski V. R., Dobos C. B.//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 1100—1106.
1742. Russell J. H.//Immunol. Rev. 1983. Vol. 72. P. 97—118.
1743. Russo C., Flomenberg N., Dupont B., Ferrone S.//Cell. Immunol. 1984. Vol. 88. P. 228—232.

1744. Ryser J.-E., Sordat B., Cerottini J.-C., Brunner K. T.//*Europ. J. Immunol.* 1977. Vol. 7. P. 110—117.
1745. Ryser J.-E., MacDonald H. R.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 128—132.
1746. Ryser J.-E., Vassalli P.//*Adv. Exp. Med. Biol.* 1982. Vol. 146. P. 23—34.
1747. Sabbadini E.//*Cell. Immunol.* 1975. Vol. 18. P. 76—87.
1748. Sachs D. H., Cone J. L.//*J. Exp. Med. (US).* 1973. Vol. 138. P. 1289—1304.
1749. Sachs D. H., El-Gamil M., Arn J. S., Ozato K.//*Transplantation.* 1981. Vol. 31. P. 308—310.
1750. Saito H., Kranz D. M., Takagaki Y. et al.//*Nature.* 1984. Vol. 309. P. 757—762.
1751. Saito H., Kranz D. M., Takagaki Y. et al.//*Ibid.* Vol. 312. P. 36—40.
1752. Sakane T., Greene I.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 584—589.
1753. Sakane T., Honda M., Taniguchi Y., Kotani H.//*J. Clin. Invest.* 1981. Vol. 68. P. 447—453.
1754. Sakane T., Kotani H., Takada S. et al.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. p. 753—761.
1755. Salomon D. R., Cohen D. J., Carpenter C. G., Milford E. L.//*Ibid.* p. 1065—1072.
1756. Salomon D. R., Cohen D. J., Williams J. M., Carpenter C. B.//*Transplant. Proc.* 1983. Vol. 15. P. 774—775.
1757. Samelson L. E., Germain R. N., Schwartz R. H.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 6972—6976.
1758. Samelson L. E., Schwartz R. H.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 2645—2650.
1759. Sanderson C. J., Hall P. J., Thomas J. A.//*Proc. Roy. Soc. London B.* 1977. Vol. 196. P. 73—84.
1760. Sanderson C. J., Glauert A. M.//*Immunology.* 1979. Vol. 36. P. 119—129.
1761. Sanderson C. J.//*Ibid.* 1981. Vol. 42. P. 201—206.
1762. Sanderson C. J.//*Adv. Exp. Med. Biol.* 1982. Vol. 146. P. 3—22.
1763. Sandrin M. S., McKenzie I. F. C.//*Immunogenetics.* 1981. Vol. 14. P. 345—350.
1764. Sandrin M. S., Tobias G. H., McKenzie I. F. C., Hammerling G. J.//*Ibid.* P. 507—516.
1765. Sandrin M. S., Hogarth P. M., McKenzie I. F. C.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 546—547.
1766. Santana V., Wedderburn N., Abney E. R., Parkhouse R. M. E.//*Europ. J. Immunol.* 1976. Vol. 6. P. 217—222.
1767. Sarmiento M., Loken M. R., Trowbridge I. S. et al.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 1676—1684.
1768. Sasaki R., Bollum F. J., Goldschneider I.//*Ibid.* 1980. Vol. 125. P. 2500—2503.
1769. Sato V. L., Waksal S. D., Harzenberg L. A.//*Cell. Immunol.* 1976. Vol. 24. P. 173—185.
1770. Saunders D., Edidin M.//*J. Immunol.* 1974. Vol. 112. P. 2210—2218.
1771. Savino W., Dardenne M., Papiernik M., Bach J.-F.//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 156. P. 628—633.
1772. Scala G., Oppenheim J. J.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 1160—1166.
1773. Scala G., Allavena P., Djeu J. V. et al.//*Nature.* 1984. Vol. 309. P. 56—59
- 1773a. Scala G., Allavena P. A., Ortaldo J. R. et al.//*J. Immunol.* 1985. Vol. 134. P. 3049—3055.
1774. Scavulli J., Dutton R. W.//*J. Exp. Med. (US).* 1975. Vol. 141. P. 524—529.
1775. Schatten S., Drebin J. A., Perry L. L. et al.//*J. Immunol.* 1984. Vol. 133. P. 1064—1069.
1776. Schechter B., Segar S., Feldman M.//*Ibid.* 1978. Vol. 120. P. 1268—1273.
1777. Scheid M. P., Goldstein G., Hammerling U., Boyse E. A.//*Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1975. Vol. 249. P. 531—540.
1778. Scheid M. P., Goldstein G., Boyse E. A.//*J. Exp. Med. (US).* 1978. Vol. 147. P. 1727—1743.

1779. Schendell D. J., Bach F. H.//Ibid. 1974. Vol. 140. P. 1534—1546.
1780. Schendell D. J., Wank R., Bonnard G. D.//Scand. J. Immunol. 1980. Vol. 11. P. 99—107.
1781. Scher M. G., Unanue E. R., Beller D. L.//J. Immunol. 1980. Vol. 128. P. 447—450.
1782. Scheynius A., Grönvik K.-O., Andersson J.//Scand. J. Immunol. 1983. Vol. 17. P. 283—290.
1783. Schick B., Jakobovits A., Sharon N., Berke G.//Transplantation. 1983. Vol. 36. P. 84—90.
1784. Shimizu S., Konaka Y., Smith R. T.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 1436—1441.
1785. Schirmacher V., Wigzell H.//Ibid. 1972. Vol. 136. P. 1616—1630.
1786. Schirmacher V., Hübsch D., Garrido F.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 5409—5413.
1787. Schleimer R. P., Jacques A., Shin H. S. et al.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 266—271.
1788. Schlesinger M., Gottesfeld S., Kozach Z.//Cell. Immunol. 1973. Vol. 6. P. 49—58.
1789. Schlossman S. F., Yaron A.//Ann. N. Y. Acad. Sci. 1970. Vol. 169. P. 108—115.
1790. Schmidt J. A., Mizel S. B., Cohen D., Green I.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2177—2182.
- 1790a. Schmidt R. E., MacDermott R. P., Bartley G. et al.//Nature. 1985. Vol. 318. P. 289—291.
1791. Schmidt W., Festenstein H.//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 257—264.
1792. Schmitt-Verhulst A.-M., Shearer G. M.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 1701—1706.
1793. Schmitt-Verhulst A.-M., Pettinelli C. B., Henkart P. A. et al.//Ibid. 1978. Vol. 147. P. 352—368.
1794. Schmitt-Verhulst A.-M., Albert F., Guimezanes A., Buferne M.//J. Supramol. Struct. 1981. Vol. 16. P. 359—370.
1795. Schnagl H. Y., Boyle W.//Nature. 1981. Vol. 292. P. 459—461.
1796. Schrader J. W., Cunningham B. A., Edelman G. M.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1975. Vol. 72. P. 5066—5070.
1797. Schrader J. W., Edelman G. M.//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 145. P. 523—539.
1798. Schrader J. W., Goldschneider I., Bollum F. J., Schrader S.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 2337—2339.
1799. Schrader J. W., Chen W.-E., Scollay R.//Ibid. 1982. Vol. 129. P. 545—549.
1800. Schreiber R. D., Altman A., Katz D. H.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 677—689.
1801. Schreier M. H., Iscove N. N., Tees R. et al.//Immunol. Rev. 1980. Vol. 51. P. 315—336.
1802. Schrier R. D., Skidmore B. J., Kurnick J. T. et al.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 2525—2531.
1803. Schuler G., Steinman R. M.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 526—546.
1804. Schuurman H. J., van Laarhoven J. P. R. M., Brockhuizen R. et al.//Scand. J. Immunol. 1983. Vol. 18. P. 539—549.
1805. Schwadron R. B., Gandoor D. M., Strober S.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 297—310.
1806. Schwartz A., Sutton S. L., Gershon R. K.//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 783—796.
1807. Schwartz B. D., Vitetta E. S., Cullen S. E.//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 671—675.
1808. Schwartz M., Walstenbaugh C., Dorf M.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1976. Vol. 73. P. 2862—2866.
1809. Schwartz R. H., Fathman C. G., Sachs D. H.//J. Immunol. 1976. Vol. 116. P. 929—935.
1810. Schwartz R. H.//Scand. J. Immunol. 1978. Vol. 7. P. 3—10.
1811. Schwartz R. H., Merryman C. F., Maurer P. H.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 272—278.

1812. Schwartz R. H., Chen C., Paul W. E.//*Europ. J. Immunol.* 1980. Vol. 10. P. 708—714.
1813. Scollay R., Kochen M., Butcher E., Weissman I.//*Nature.* 1978. Vol. 276. P. 79—80.
1814. Scollay R.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 1566—1570.
1815. Scollay R., Chen W.-F., Shortman K.//*Ibid.* 1984. Vol. 132. P. 25—30.
1816. Scollay R., Wilson A., Shortman K.//*Ibid.* P. 1089—1094.
1817. Scott D. W., Long C. A.//*J. Exp. Med. (US).* 1976. Vol. 144. P. 1369—1374.
1818. Scott J. W., Ponzio W. M., Orosz C. G., Finke J. H.//*J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 2378—2383.
1819. Seaman W. E., Talal N., Herzenberg L. A. et al.//*Ibid.* 1981. Vol. 127. P. 982—986.
- 1820—1821. Sekaly R. P., MacDonald H. R., Zaech P., Nabholz M.//*Ibid.* 1982. Vol. 129. P. 1407—1415.
1822. Seman M., Zilberfarb V., Gougeon M.-L., These J.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 124. P. 217—221.
1823. Senik A., Neauport-Sautes C.//*Ibid.* 1979. Vol. 122. P. 1461—1467.
1824. Sercarz E. E., Araneo B., Benjamin C. D. et al.//*Immune Networks/Ed. C. A. Bona, H. Kohler. N. Y., 1983. P. 198—205. (Ann. N. Y. Acad. Sci.; Vol. 418).*
1825. Sethi K. K., Brandis H.//*Europ. J. Immunol.* 1980. Vol. 10. P. 268—272.
- 1825a. Sette A., Colizzi V., Appella E. et al.//*Ibid.* 1986. Vol. 16. P. 1—6.
1826. Shain B., Holt C. A., Lilly F.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 722—729.
1827. Shand E. L., Orme I. M., Ivanyi J.//*Scand. J. Immunol.* 1980. Vol. 12. P. 223—231.
1828. Shapiro D. N., Bender T. P., Claffin J. L., Niederhuber J. E.//*J. Immunol.* 1984. Vol. 133. P. 1740—1747.
1829. Sharma B. S.//*J. Nat. Cancer. Inst.* 1976. Vol. 57. P. 743—748.
1830. Sharpe A. H., Gaulton G. N., McDade K. K. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1984. Vol. 160. P. 1195—1205.
1831. Sharrow S. O., Ozato K., Sachs D. H.//*J. Immunol.* 1980. Vol. 125. P. 2263—2268.
1832. Shaw J., Mouticone V., Mills G., Paetkau V.//*Ibid.* 1978. Vol. 120. P. 1974—1978.
1833. Shaw J., Caplan B., Petkau V. et al.//*Ibid.* 1980. Vol. 124. P. 2231—2239.
1834. Shaw S., Shearer G. M., Biddison W. E.//*J. Exp. Med. (US).* 1980. Vol. 151. P. 235—245.
1835. Shearer G. M.//*Europ. J. Immunol.* 1974. Vol. 4. P. 527—533.
1836. Shearer G. M., Simpson E., Weinstein Y., Melmon K. L.//*J. Immunol.* 1977. Vol. 118. P. 756—761.
1837. Shearer G. M., Levy R. B.//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 157. P. 936—946.
1838. Sheehy M. J., Mawas C., Charmet D.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 122. P. 2198—2203.
1839. Shek P. N., Waltenbaugh C., Coons A. H.//*J. Exp. Med. (US).* 1978. Vol. 147. P. 1228—1238.
1840. Shen F. W., McDougal J. S., Bard J., Cort J. P.//*Ibid.* 1980. Vol. 151. P. 566—572.
1841. Shen H. H., Talle M. A., Goldstein G., Chess L.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 698—705.
1842. Sherman L. A., Burakoff S. J., Benacerraf B.//*Ibid.* 1978. Vol. 121. P. 1432—1436.
1843. Sherman L. A., Randolph C. P.//*Immunogenetics.* 1981. Vol. 12. P. 183—186.
1844. Sherman L. A.//*Nature.* 1982. Vol. 297. P. 511—513.
1845. Sherr D. H., Ju S.-T., Dorf M. E.//*J. Exp. Med. (US).* 1981. Vol. 154. P. 1382—1389.
1846. Sherr D. H., Minami M., Okuda K., Dorf M. E.//*Ibid.* 1983. Vol. 157. P. 515—529.

1847. Shevach E. M., Rosenthal A. S.//*Ibid.* 1973. Vol. 138. P. 1213—1229.
1848. Shevach E. M., Chan C., Clement L. T.//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 819—824.
1849. Shick B., Berke G.//*Transplantation.* 1978. Vol. 26. P. 14—18.
1850. Shigeta M., Fathman C. G.//*Immunogenetics.* 1981. Vol. 14. P. 415—422.
1851. Shiku H., Takahashi T., Bean M. A. et al.//*J. Exp. Med. (US).* 1976. Vol. 144. P. 1116—1120.
1852. Shimizu M., Kimura T., Kakinuma M., Ohara T.//*J. Immunol. Meth.* 1979. Vol. 31. P. 41—50.
1853. Shimizu S., Smith R. T., Norcross M. A., Maino V. C.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 296—301.
1854. Shimonkevitz R., Kappler J., Marrack P., Grey H.//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 158. P. 303—316.
- 1854a. Shimonkevitz R., Luescher B., Cerottini J.-C., MacDonald H. R.//*J. Immunol.* 1985. Vol. 135. P. 892—899.
1855. Shinohara N., Taniguchi M., Kojima M.//*Ibid.* 1981. Vol. 127. P. 1575—1578.
1856. Shirai T., Hayakawa K., Okumura K., Tada T.//*Ibid.* 1978. Vol. 120. P. 1924—1929.
1857. Shiroishi T., Evans G. A., Appella E., Ozato K.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1984. Vol. 81. P. 7544—7548.
1858. Shook L. B., Bingham E. L., Gulmann D. H., Niederhuber J. E.//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 991—997.
1859. Shortman K., Jackson H.//*Cell. Immunol.* 1974. Vol. 12. P. 230—246.
1860. Shortman K., Golstein P.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 833—839.
1861. Show E. C., Fedbuch T. L., Oaks J. A.//*Ibid.* 1981. Vol. 126. P. 161—164.
1862. Show J., Pilarski L. M., Al-Adra A. R. et al.//*Transplantation.* 1981. Vol. 31. P. 56—60.
1863. Siden E., Alt F. W., Shinefeld L. et al.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1981. Vol. 78. P. 1823—1827.
1864. Sidman C. L., Forni L., Köhler G. et al.//*Europ. J. Immunol.* 1983. Vol. 13. P. 481—488.
1865. Sidman C. L., Paige C. J., Schreier M. H.//*J. Immunol.* 1984. Vol. 132. P. 209—222.
1866. Sieckmann D. G., Chiller J. M., Weigle W. O.//*Cell. Immunol.* 1979. Vol. 42. P. 258—269.
1867. Siegel P. L., Yunis E. J., Geha R. S.//*Human Immunol.* 1982. Vol. 4. P. 287—299.
1868. Signas C., Katze M. G., Persson H., Philipson L.//*Nature.* 1982. Vol. 299. P. 175—177.
1869. Sihvola M., Hurme M.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 1077—1083.
1870. Siliciano R. F., Henney C. S.//*Ibid.* 1978. Vol. 121. P. 186—190.
1871. Siliciano R. F., Brookmeyer R., Shin H. S.//*Ibid.* 1983. Vol. 130. P. 1512—1520.
- 1871a. Siliciano R. F., Keegan A. D., Dintzis R. Z. et al.//*Ibid.* 1985. Vol. 135. P. 906—914.
1872. Silva A., de Landazuri M. O., Alvarerz J., Kreisler J. M.//*J. Immunol. Meth.* 1978. Vol. 23. P. 303—313.
1873. Silver J., Benacerraf B.//*J. Immunol.* 1974. Vol. 113. P. 1872—1875.
1874. Silver J., Swain S. L., Hubert J. J.//*Nature.* 1980. Vol. 286. P. 272—274.
1875. Silverman G. A., Peri B. A., Fitch F. W., Rothberg R. M.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 2656—2661.
1876. Silverstone A. E., Cantor H., Goldstein G., Baltimore D.//*J. Exp. Med. (US).* 1976. Vol. 144. P. 543—548.
1877. Silverstone A. E., Sun L., Witte O. N., Baltimore D.//*J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 791—796.
1878. Simon M. M., Abenhardt B.//*Europ. J. Immunol.* 1980. Vol. 10. P. 334—341.
1879. Simon M. M., Edwards A. J., Hämmerling U. et al.//*Ibid.* 1981. Vol. 11. P. 246—250.

1880. Simon M. M., Weltzein H. U., Bühring H. J., Eichmann K.//Nature. 1984. Vol. 308. P. 367—370.
1881. Simon P. L., Farrar J. J., Kind P. D.//J. Immunol. 1977. Vol. 118. P. 1129—1131.
1882. Simonsen M.//Proc. 8th Inter. Congr. Allergol. Amsterdam, 1974. Ser. N 323. P. 146—154.
1883. Simonsen M.//Immunol. Today. 1984. Vol. 5. P. 314—315.
1884. Simpson E., Mobraaten L., Chandler P. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 1478—1487.
1885. Sims J. E., Tunnacliffe A., Smith W. J., Rabbits T. H.//Nature. 1984. Vol. 312. P. 541—545.
1886. Sinclair N. R. St C., Law F. Y.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1439—1444.
1887. Singh S. K., Wakeland E. K., Vućak I. et al.//Immunogenetics. 1981. Vol. 14. P. 273—281.
1888. Singer A., Cowing C., Hathcock K. S. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1611—1620.
1889. Singer A., Hathcock K. S., Hodes R. J.//Ibid. 1981. Vol. 153. P. 1286—1301.
1890. Singer A., Hathcock K. S., Hodes R. J.//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 339—344.
1891. Singer K. H., Johnston C., Amos D. B., Scott D. W.//Cell. Immunol. 1978. Vol. 36. P. 75—85.
1892. Singhai R., Weaver M., Sikora L., Levy J. G.//Immunology. 1984. Vol. 151. P. 743—754.
1893. Sinigaglia F., Gotti C., Castagnoli P. R., Clementi F.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 7569—7573.
1894. Siu G., Clark S. P., Yoshikai Y. et al.//Cell. 1984. Vol. 37. P. 393—401.
1895. Skelly R. R., Pappas F., Koprak S. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 2094—2097.
1896. Skoglund A.-C., Larsson E.-L., Andersson B.//Scand. J. Immunol. 1983. Vol. 17. P. 355—363.
1897. Skowron-Cendrzak A., Rybczynska Z., Gershon R. K., Plak W.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 5052—5055.
1898. Small M., Lasser-Weiss M., Daniel V.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 259—262.
1899. Smeraldi R. S., Fabio G., Bonara P. et al.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 1394—1398.
1900. Smith H. R., Green D. R., Smathers P. A. et al.//Clin. and Exp. Immunol. 1983. Vol. 51. P. 579—586.
1901. Smith H. R., Steinberg A. D.//Annu. Rev. Immunol. 1983. Vol. 1. P. 175—210.
1902. Smith J. B., Pasternak R. D.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 1889—1892.
1903. Smith J. B., Talal N.//Scand. J. Immunol. 1982. Vol. 16. P. 269—278.
1904. Smith K. A., Lachman L. B., Oppenheim J. J., Favata M. F.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 1551—1556.
1905. Smith K. A., Cantrell D. A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 864—868.
1906. Snell G. D., Cherry M., Démant P.//Transplant. Rev. 1973. Vol. 15. P. 3—25.
1907. Snodgrass H. R., Kisielow P., Kiefer M. et al.//Nature. 1985. Vol. 313. P. 592—595.
1908. Snodgrass H. R., Dembić Z., Steinmetz M., von Boehmer H.//Ibid. Vol. 315. P. 232—233.
1909. Snyder D. S., Beller D. I., Unanue E. R.//Ibid. 1982. Vol. 299. P. 163—165.
1910. Snyder D. S., Lu C. Y., Unanue E. R.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1458—1465.
1911. Solinger A. M., Ultee M. E., Margoliash E., Schwartz R. H.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 830—848.
1912. Soloski M. J., McIntyre K. R., Uhr J. W., Vitetta E. S.//Mol. Immunol. 1982. Vol. 19. P. 1193—1197.

- 1912a. Someya A.//Immunology. 1986. Vol. 57. P. 605—610.
1913. Sondel P. M., Jacobson M. W., Bach F. H.//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 142. P. 1606—1611.
1914. Sondel P. M., Jacobson M. W., Bach F. H.//Europ. J. Immunol. 1977. Vol. 7. P. 38—40.
1915. Sood A. K., Pereira D., Weissman S. M.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 616—620.
1916. Sorensen C. M., Pierce C. W.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 35—47.
1917. Sorensen C. M., Pierce C. W.//Ibid. 1982. Vol. 156. P. 1691—1710.
1918. Sorensen C. M., Pierce C. W., Webb D. R.//Ibid. 1983. Vol. 158. P. 1034—1047.
- 1918a. Sorensen C. M., Hayashi R. J., Pierce C. W.//Ibid. 1985. Vol. 162. P. 1044—1059.
- 1918b. Spaeth E., Rude E.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 1177—1183.
1919. Spalding D. M., Koopman W. J., Eldridge J. H. et al.//J. Exp. Med. 1983. Vol. 157. P. 1646—1659.
1920. Spellman C., Anderson R. E.//Ibid. 1982. Vol. 155. P. 1858—1863.
1921. Spickett G. P., Mason D. W.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 785—788.
1922. Spielman R., Lee J., Bodmer W. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 3461—3465.
1923. Spits H., Borst J., Terhorst C., de Vries J. E.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 1563—1569.
1924. Spits H., Breuning M., Ivanyi P. et al.//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 503—512.
1925. Spits H., Yssel H., Leeuwenberg J., De Vries J. E.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 88—91.
- 1925a. Spits H., Borst J., Tax W. et al.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 1922—1928.
1926. Sprent J.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1838—1842.
1927. Sprent J., Bruce J.//Ibid. 1979. Vol. 150. P. 715—720.
1928. Sprent J., von Boehmer H. //Ibid. Vol. 149. P. 387—397.
1929. Sprent J., Lerner E. A., Bruce J., Symington F. W.//Ibid. 1981. Vol. 154. P. 188—192.
- 1929a. Sprent J., Schaefer M.//Ibid. 1985. Vol. 162. P. 2068—2088.
1930. Springer T., Galfré G., Secher D. S., Milstein C.//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 301—306.
1931. Springer T. A., Davignon D., Ho M.-K. et al.//Immunol. Rev. 1982. Vol. 68. P. 172—195.
1932. Springer T. A., Thompson W. S., Miller L. J. et al.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 1901—1918.
1933. Sproviero J. F., Imperiale M. J., Zauderer M.//Ibid. 1980. Vol. 152. P. 920—930.
1934. Sredni B., Tse H. Y., Schwartz R. H.//Nature. 1980. Vol. 283. P. 581—583.
1935. Sredni B., Matis L. A., Lerner E. A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 677—693.
1936. Stadecker M. J., Wyler D. J., Wright J. A.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2739—2744.
1937. Stadler B. M., Dougherty S. F., Farrar J. J., Oppenheim J. J.//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 1936—1940.
1938. Staerz U. D., Pasternack M. S., Klein J. R. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 1794—1803.
1939. Staerz U. D., Bevan M. J.//Europ. J. Immunol. 1986. Vol. 16. P. 263—270.
1940. Stalleup K. C., Springer T. A., Mescher M. F.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 923—930.
1941. Staudt L. M., Gerhard W.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 687—704.
1942. Stavy L., Cohen I. R., Feldman M.//Cell. Immunol. 1973. Vol. 7. P. 302—312.

1943. Steinman L., Rosenbaum J. T., Sriram S., McDevitt H. O.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 7111—7114.
1944. Steinman L., Sriram S., Adelman N. E. et al.//Nature. 1982. Vol. 299. P. 738—740.
1945. Steinman R. M.//Transplantation. 1981. Vol. 31. P. 151—155.
1946. Steinman R. M., Gutchinov B., Witmer M. D., Nussenzweig M. C.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 613—627.
1947. Steinmetz M., Moore K. W., Frelinger J. G. et al.//Cell. 1981. Vol. 24. P. 125—134.
1948. Steinmetz M., Moore K. W., Frelinger J. G. et al.//Ibid. Vol. 25. P. 683—692.
1949. Steinmetz M., Minard K., Horvath S. et al.//Nature. 1982. Vol. 300. P. 35—42.
1950. Steinmetz M., Winoto A., Minard K., Hood L.//Cell. 1982. Vol. 28. P. 489—498.
1951. Sterkers G., Hannoun C., Levy J. P.//Immunogenetics, 1983. Vol. 17. P. 271—281.
1952. Stern A.-S., Pan Y.-C. E., Urdal D. L. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 871—875.
1953. Stern P., Gidlund M., Orn A., Wigzell H.//Nature. 1980. Vol. 285. P. 341—342.
1954. Stern P., Gidlund M., Kimura A. et al.//Intern. J. Cancer. 1981. Vol. 27. P. 679—688.
1955. Stingl L. A., Sauder D. N., Iijima M. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1586—1591.
1956. Stockinger B., Darjes H., Krammer P. H.//Europ. J. Immunol. 1986. Vol. 16. P. 301—305.
1957. Stockinger H., Pfizenmaier K., Hardt C. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 7390—7394.
1958. Stockinger H., Bartlett R., Pfizenmaier K. et al.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1629—1639.
1959. Storb U., Near R., Putnam D., Clagett J.//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 947—957.
1960. Stötter H., Imm A., Meyer-Delius M., Rude E.//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 892-900.
1961. Stötter H., Rude E., Wagner H.//Ibid. 1980. Vol. 10. P. 719—722.
1962. Stout R. D., Waksal S. D., Herzenberg L. A.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 54—68.
1963. Strassmann G., Eshhar Z., Mozes E.//Ibid. 1980. Vol. 151. P. 265—274.
1964. Strassmann G., Bach F. H., Zarling J. M.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1556—1560.
1965. Streicher H. Z., Berkower I. J., Busch M. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 6831—6835.
1966. Streilein J. W., Bergstresser P. R. /Transplantation. 1980. Vol. 30. P. 319—323.
1967. Streilein J. W., Gruchalla R. S.//Immunogenetics. 1981. Vol. 12. P. 161—173.
1968. Streilein J. W., Bergstresser P. R.//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 157. P. 1354—1359.
1969. Ström T. B., Deisseroth A., Morganroth J. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1972. Vol. 69. P. 2995—2999.
1970. Ström T. B., Garovoy M. R., Bear R. A. et al.//Cell. Immunol. 1975. Vol. 20. P. 247—256.
1971. Stukart M. J., Vos A., Boes J. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1360—1364.
1972. Stukart M. J., Boes J., Melief C. J. M.//Immunogenetics. 1983. Vol. 17. P. 427—436.
1973. Stukart M. J., Boes J., Melief C. J. M.//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 28—32.
1974. Stull D., Gillis J.//Ibid. 1981. Vol. 126. P. 1680—1683.
1975. Stutting R. D., Berke G.//J. Exp. Med. (US). 1973. Vol. 137. P. 932—942.

1976. *Stulting R. D., Berke G., Hiemstra K.*//Transplantation. 1973. Vol. 16. P. 684—686.
1977. *Stulting R. D., Todd R. F., Amos D. B.*//Cell. Immunol. 1975. Vol. 20. P. 54—63.
1978. *Stulting R. D., Todd R. F., Gooding L. R.*//Transplantation. 1976. Vol. 21. P. 71—73.
1979. *Stutman O., Shen F.-W., Boyse E. A.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 5667—5671.
1980. *Stutman O.*//Immunol. Rev. 1978. Vol. 42. P. 138—184.
1981. *Stutman O., Shen F. W.*//Transplant. Proc. 1979. Vol. 11. P. 907—909.
1982. *Stutman O., Ishizaka S. T.*//Clin. Immunol. and Immunopathol. 1982. Vol. 23. P. 202—214.
1983. *Suciu-Foca N., Rohowsky C., Kung P., King D. W.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 283—288.
1984. *Sugimura K., Kishimoto T., Maeda K., Yamamura Y.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 455—461.
1985. *Sugimura K., Nakanishi K., Maeda K. et al.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1637—1644.
1986. *Sugimura K., Yamasaki N., Matsuura M., Watanabe T.*//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 873—880.
1987. *Sukhatme V. P., Vollmer A. C., Erikson J. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 429—434.
1988. *Sumida T., Takei I., Taniguchi M.*//J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 1131—1136.
1989. *Sun D., Lohmann-Matthes M. L.*//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 134—140.
1990. *Sunday M. E., Benacerraf B., Dorf M. E.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 811—822.
1991. *Sunday M. E., Dorf M. E.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1604—1609.
1992. *Sunshine G., Basch R. S., Coffey R. G. et al.*//Ibid. 1978. Vol. 120. P. 1594—1599.
1993. *Sunshine G. H., Katz D. R., Czitrom A. A.*//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 9—15.
1994. *Sunshine G. H., Gold D. P., Wortis H. H. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1745—1750.
1995. *Sussking B. M., Faanes B. B.*//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 1485—1489.
1996. *Sutherland R., Delia D., Schneider C. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 4515—4519.
1997. *Suzan M., Elliott B. E., Rubin B.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1426—1431.
1998. *Suzuki G., Cramer M., Hayakouva K. et al.*//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 711—719.
1999. *Suzuki R., Suzuki S., Ebina N., Kumagai K.*//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 2139—2148.
- 1999a. *Suzuki T., Cooper M. D.*//Ibid. 1985. Vol. 134. P. 3111—3114.
- 1999b. *Suzuki I., Kiyono H., Kitamura K. et al.*//Nature. 1986. Vol. 320. P. 451—454.
2000. *Swain S. L., Bakke A., English M., Dutton R. W.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 2716—2724.
2001. *Swain S. L., Panfili P. R.*//Ibid. Vol. 122. P. 383—391.
2002. *Swain S. L.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 7101—7105.
2003. *Swain S. L., Dennert G., Worsmley S., Dutton R. W.*//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 175—180.
2004. *Swain S. L., Dennert G., Warner J. F., Dutton R. W.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 2517—2521.
2005. *Swain S. L., Dutton R. W.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1821—1834.
2006. *Swain S. L., Dutton R. W., Schwab R., Yamamoto J.*//Ibid. 1983. Vol. 157. P. 720—729.
2007. *Swain S. L., Dialynas D. P., Fitch F. W., English M.*//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1118—1123.

2008. *Swaminathan S., Gooding L. R.*//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 331—335.
2009. *Swanborg R. H.*//J. Supramol. Struct. Suppl. 1979. Vol. 3. P. 315 (abstr.).
2010. *Swierkosz J. E., Marrack P., Kappler J. W.*//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1293—1309.
2011. *Swierkosz J. E., Marrack P., Kappler J. W.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 654—659.
2012. *Sy M.-S., Miller S. D., Claman H. N.*//Ibid. 1977. Vol. 119. P. 240—244.
2013. *Sy M.-S., Bach B. A., Brown A. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1229—1240.
2014. *Sy M.-S., Miller S. D., Moorhead J. W., Claman H. N.*//Ibid. Vol. 149. P. 1197—1207.
2015. *Sy M.-S., Moorhead J. W., Claman H. N.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 2593—2598.
2016. *Sy M.-S., Dietz M. H., Germain R. N. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 1183—1195.
2017. *Sy M.-S., Dietz M. H., Nisonoff A. et al.*//Ibid. Vol. 152. P. 1226—1235.
2018. *Sy M.-S., Brown A., Bach B. A. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1143—1147.
2019. *Sy M.-S., Nisonoff A., Germain R. N. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1415—1425.
2020. *Sy S.-M., Lee S.-H., Tsurufuji M. et al.*//Ibid. 1982. Vol. 156. P. 918—923.
2021. *Sy M.-S., Lowy A., Hay-Glass K. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 3846—3850.
2022. *Tada T., Takemori T., Okumura K. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 446—458.
2023. *Tada T., Hayakawa K., Okumura K., Taniguchi M.*//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 867—875.
2024. *Tadakuma T., Kühner A. L., Rich R. R. et al.*//J. Immunol. 1976. Vol. 177. P. 323—330.
2025. *Takai Y., Misuochi T., Fujiwara H., Hamada T.*//Ibid. 1984. Vol. 132. P. 57—61.
2026. *Takaoki M., Sy M.-S., Tominaga A. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 156. P. 1325—1334.
2027. *Takatsu K., Ishizaka K.*//J. Immunol. 1976. Vol. 117. P. 1211—1218.
2028. *Takatsu K., Sano Y., Tomita S. et al.*//Nature. 1981. Vol. 292. P. 360—362.
2029. *Takatsu K., Sano Y., Hashimoto N. et al.*//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2575—2580.
2030. *Takei F., Horton M. A.*//Immunogenetics. 1981. Vol. 13. P. 435—441.
2031. *Takei F., Secher D. S., Milstein C., Springer T.*//Immunology. 1981. Vol. 42. P. 371—378.
2032. *Takei I., Sumida T., Taniguchi M.*//J. Exp. Med. (US). 1983. Vol. 158. P. 1912—1923.
2033. *Takemori T., Tada T.*//Ibid. 1974. Vol. 140. P. 253—266.
2034. *Takemori T., Tada T.*//Ibid. 1975. Vol. 142. P. 1241—1253.
2035. *Tamaki K., Stingl G., Gullino M. et al.*//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 784—787.
2036. *Tamerius J. D., Garrigues H. J., Hellström I., Hellström K. E.*//J. Immunol. Meth. 1978. Vol. 22. P. 1—22.
2037. *Tamura S., Kojima A., Egashira Y.*//Cell. Immunol. 1980. Vol. 51. P. 250—261.
2038. *Taniguchi K., Nomoto K., Sato M. et al.*//Ibid. 1976. Vol. 25. P. 228—236.
2039. *Taniguchi M., Hayakawa K., Tada T.*//J. Immunol. 1976. Vol. 116. P. 542—548.
2040. *Taniguchi M., Tada T., Tokuhisa T.*//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 20—31.
2041. *Taniguchi M., Miller J. F. A. P.*//Ibid. 1977. Vol. 146. P. 1450—1454.
2042. *Taniguchi M., Miller J. F. A. P.*//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 21—26.

2043. Taniguchi M., Takei I., Tada T.//*Nature*. 1980. Vol. 283. P. 227—228.
2044. Taniguchi M., Tokuhisa T.//*J. Exp. Med. (US)*. 1980. Vol. 151. P. 517—527.
2045. Taniguchi M., Saito T., Takei I., Tokuhisa T.//*Ibid.* 1981. Vol. 153. P. 1672—1677.
2046. Taniguchi M., Tokuhisa T., Kanno M. et al.//*Nature*. 1982. Vol. 298. P. 172—174.
2047. Taniguchi M., Usui M., Okuda K., Matuhasi T.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 1816—1822.
2048. Taniguchi T., Matsui H., Fujita T. et al.//*Nature*. 1983. Vol. 302. P. 305—310.
2049. Taniyama T., Holden H. T.//*J. Exp. Med. (US)*. 1979. Vol. 150. P. 1367—1382.
2050. Taniyama T., Holden H. T.//*J. Immunol.* 1979. Vol. 123. P. 43—49.
2051. Taniyama T., Tokunaga T.//*Ibid.* 1983. Vol. 131. P. 1032—1035.
2052. Tarcic N., Klein B. Y., Naor D.//*Scand. J. Immunol.* 1984. Vol. 20. P. 403—411.
2053. Tarcic N., Sharon R., Rosenmann E., Naor D.//*Ibid.* Vol. 19. P. 111—121.
2054. Tardieu M., Fradet Y., Daguiard F.//*Cell. Immunol.* 1975. Vol. 17. P. 123—130.
2055. Taswell C., MacDonald H. R., Cerottini J.-C.//*J. Exp. Med. (US)*. 1980. Vol. 151. P. 1372—1385.
2056. Taylor C. E., Amsbaugh D. F., Stashak P. W. et al.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 19—23.
2057. Taylor P. M., Askonas B. A.//*Europ. J. Immunol.* 1983. Vol. 13. P. 707—711.
2058. Teh H.-S., Paetkau V.//*Cell. Immunol.* 1976. Vol. 24. P. 220—229.
2059. Teh H.-S., Phillips R. A., Miller R. G.//*J. Immunol.* 1978. Vol. 120. P. 425—428.
2060. Teh H.-S., Teh S. J.//*Ibid.* 1980. Vol. 125. P. 1977—1986.
2061. Terhorst C., van Agthoven A., Le Claic K. et al.//*Cell*. 1981. Vol. 23. P. 771—780.
2062. Thoman M. L., Weigle W. O.//*J. Immunol.* 1981. Vol. 127. P. 2102—2105.
2063. Thoman M. L., Weigle W. O.//*Ibid.* 1982. Vol. 128. P. 590—594.
2064. Thoman M. L., Weigle W. O.//*Ibid.* 1983. Vol. 130. P. 233—236.
2065. Thoman M. L., Weigle W. O.//*Ibid.* 1985. Vol. 134. P. 949—952.
2066. Thomas D. B., Calderon R. A.//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 16—23.
2067. Thomas D. W., Shevach E. M.//*Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1977. Vol. 74. P. 2104—2108.
2068. Thomas D. W.//*J. Immunol.* 1978. Vol. 121. P. 1760—1766.
2069. Thomas D. W., Shevach E. M.//*Ibid.* P. 1145—1151.
2070. Thomas D. W., Meltz S. K., Wilner G. D.//*Ibid.* 1979. Vol. 123. P. 1299—1302.
2071. Thomas D. W., Hsieh K.-H., Schauster J. L. et al.//*J. Exp. Med. (US)*. 1980. Vol. 152. P. 620—632.
2072. Thomas D. W., Schauster J. L., Meltz S. K., Wilner G. D.//*Cell. Immunol.* 1980. Vol. 55. P. 476—484.
2073. Thomas D. W., Hsieh K.-H., Schauster J. L., Wilner G. D.//*J. Exp. Med. (US)*. 1981. Vol. 153. P. 583—594.
2074. Thomas D. W., Hoffman M. D.//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 780—783.
2075. Thomas D. W., Hoffman M. D.//*Ibid.* Vol. 129. P. 1416—1420.
2076. Thomas D. W., Hoffman M. D., Wilner G. D.//*J. Exp. Med. (US)*. 1982. Vol. 156. P. 284—293.
- 2076a. Thomas I. K., Erickson K. L.//*Immunology*. 1986. Vol. 57. P. 201—206.
2077. Thomas J. W., Danho D., Bullesbach E. et al.//*J. Immunol.* 1981. Vol. 126. P. 1095—1100.
2078. Thomas K., Engers H. D., Cerottini J.-C., Brunner K. T.//*Europ. J. Immunol.* 1976. Vol. 6. P. 257—262.
2079. Thomas W. R., Morahan G., Miller J. F. A. P.//*J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 2079—2082.
2080. Thorn R. M., Henney C. S.//*Ibid.* 1976. Vol. 116. P. 146—149.

2081. *Ting C. C., Rodrigues D.*//*Ibid.* 1980. Vol. 124. P. 1039—1044.
2082. *Ting J. P. Y., Shigekawa B. L., Linthicum D. S. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1981. Vol. 78. P. 3170—3174.
- 2082a. *Tiku M. L., Liu S., Weaver C. W., et al.*//*J. Immunol.* 1985. Vol. 135. P. 2923—2928.
- 2082b. *Tite J. P., Powell M. B., Ruddle N. H.*//*Ibid.* P. 25—33.
2083. *Todd R. F., Stulting R. D., Berke G.*//*Cancer Res.* 1973. Vol. 33. P. 3203—3208.
2084. *Todd R. F.*//*Cell. Immunol.* 1975. Vol. 20. P. 257—268.
2085. *Todd R. F., Reinherz E. L., Schlossman S. F.*//*Ibid.* 1980. Vol. 55. P. 114—123.
2086. *Tokuhisa T., Taniguchi M., Okumura K., Tada T.*//*J. Immunol.* 1978. Vol. 20. P. 414—421.
2087. *Tokuhisa T., Taniguchi M.*//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 155. P. 126—139.
2088. *Tokuhisa T., Komatsu Y., Uchida Y., Taniguchi M.*//*Ibid.* Vol. 156. P. 888—897.
2089. *Tominaga A., Takatsu K., Hamaoka T.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 2581—2585.
2090. *Towes G. B., Vial W. C., Dunn M. M. et al.*//*Ibid.* 1983. Vol. 132. P. 184—186.
2091. *Townsend A. R. M., Taylor P. M., Mellor A. L., Askonas B. A.*//*Immunogenetics.* 1983. Vol. 17. P. 283—294.
2092. *Townsend A. R. M., Skehel J. J., Taylor P. M., Palese P.*//*Virology.* 1984. Vol. 133. P. 456—459.
- 2092a. *Townsend A. R. M., Gotch F. M., Davey J.*//*Cell.* 1985. Vol. 42. P. 457—467.
2093. *Toyonaga B., Yanagi Y., Suciu-Foca N. et al.*//*Nature.* 1984. Vol. 311. P. 385—386.
2094. *Trägårdh L., Rask L., Wiman K. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1980. Vol. 77. P. 1129—1133.
2095. *Traill K. N., Chandler P., Krammer P. H.*//*J. Immunol. Meth.* 1981. Vol. 40. P. 17—26.
2096. *Trainin N., Pecht M., Haudzel Z. T.*//*Immunol. Today.* 1983. Vol. 4. P. 16—21.
2097. *Treves A. J., Schechter B., Cohen J. R., Feldman M.*//*J. Immunol.* 1976. Vol. 116. P. 1059—1064.
2098. *Triebel F., Robinson W. A., Hayward A. R., Goube de Laforest P.*//*Blood.* 1981. Vol. 58. P. 911—915.
- 2098a. *Triebel F., Aufran B., De Rouquefeuil S. et al.*//*Europ. J. Immunol.* 1986. Vol. 16. P. 47—53.
2099. *Trinchieri G., Granato D., Perussia B.*//*J. Immunol.* 1981. Vol. 126. P. 335—340.
2100. *Trowbridge I. S., Lesley J., Trotter J., Hyman R.*//*Nature.* 1985. Vol. 315. P. 666—669.
2101. *Tryphonas M., King D. P., Jones P. P.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 1445—1448.
2102. *Tse H. Y., Dutton R. W.*//*J. Exp. Med. (US).* 1977. Vol. 146. P. 747—758.
2103. *Tse H. Y., Mond J. J., Paul W. E.*//*Ibid.* 1981. Vol. 153. P. 871—882.
2104. *Tse H. Y., Mond J. J., Longo D. L.*//*Ibid.* 1982. Vol. 155. P. 1239—1244.
2105. *Tsoukas C. D., Martz E.*//*Cell. Immunol.* 1978. Vol. 40. P. 103—116.
2106. *Tsoukas C. D., Carson D. A., Fong S., Vaghan J. H.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 1421—1425.
2107. *Tsoukas C. D., Valentine M., Lotz M. et al.*//*Immunol. Today.* 1984. Vol. 5. P. 311—313.
2108. *Tsuchida T., Iijima M., Fujiwara H. et al.*//*J. Immunol.* 1984. Vol. 132. P. 1163—1168.
2109. *Tsuda M., Uchiyama T., Takatsuki K. et al.*//*Ibid.* 1982. Vol. 129. P. 592—596.
2110. *Tsurufuji M., Benacerraf B., Sy M.-S.*//*J. Exp. Med. (US).* 1983. Vol. 158. P. 932—945.

2111. *Tucker M. J., Bretscher P. A.*//*Ibid.* 1982. Vol. 155. P. 1037—1049.
2112. *Tunnacliffe A., Kefford R., Milstein C. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1985. Vol. 82. P. 5068—5072.
- 2112a. *Turck C. W., Kapp J. A., Webb D. R.*//*J. Immunol.* 1985. Vol. 135. P. 3232—3237.
2113. *Turkin D., Sercarz E. E.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1977. Vol. 74. P. 3984—3987.
2114. *Tutschka P. J., Hess A. D., Bescherner W. E., Santos G. W.*//*Transplantation.* 1981. Vol. 32. P. 203—209.
2115. *Tzeboval E., De Baetselier P., Feldman M., Segal S.*//*Europ. J. Immunol.* 1981. Vol. 11. P. 323—328.
2116. *Udey M. C., Jendrisak M. D., Parker C. W.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 1870—1875.
- 2116a. *Uede T., Kohda H., Ibayashi Y., Kikuchi K.*//*Ibid.* 1985. Vol. 135. P. 3252—3257.
2117. *Uhr J. W., Capra J. D., Viletta E. S., Cook R. G.*//*Science.* 1979. Vol. 206. P. 292—297.
2118. *Umiel T., Daley J. F., Bhan A. K. et al.*//*J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 1054—1060.
2119. *Uotila M., Rode H. N., Gordon J.*//*Europ. J. Immunol.* 1978. Vol. 8. P. 133—138.
2120. *Urdal D. L., March C. J., Gillis S. et al.*//*Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1984. Vol. 81. P. 6481—6485.
2121. *Usui M., Aoki I., Sunshine G. H., Dorf M. E.*//*J. Immunol.* 1984. Vol. 132. P. 1728—1734.
2122. *Vakharia D. D., Mitchison N. A.*//*Immunology.* 1984. Vol. 51. P. 269—273.
2123. *Van Agthoven A., Terhorst C., Reinherz E., Schlossman S.*//*Europ. J. Immunol.* 1981. Vol. 11. P. 18—21.
2124. *Van Bekkum D. W., Knaan-Shanzer S.*//*Ibid.* 1983. Vol. 13. P. 403—409.
2125. *Van den Elsen P., Shepley B.-A., Borst J. et al.*//*Nature.* 1984. Vol. 312. P. 413—418.
2126. *Van den Elsen P., Shepley B.-A., Cho M., Terhorst C.*//*Ibid.* 1985. Vol. 314. P. 542—544.
2127. *Van der Kwast T. H., Bianchi A. T. J., Bril H., Benner R.*//*Transplantation.* 1981. Vol. 31. P. 79—85.
2128. *Van Ewijk W., van Soest P. L., van den Eig G. J.*//*J. Immunol.* 1981. Vol. 127. P. 2594—2604.
2129. *Van Ewijk W., Jenkinson E. J., Owen J. J. T.*//*Europ. J. Immunol.* 1982. Vol. 12. P. 262—271.
2130. *Vánky F., Gorsky T., Gorsky Y. et al.*//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 155. P. 83—95.
2131. *Van Loveren H., Kato K., Meade R. et al.*//*J. Immunol.* 1984. Vol. 133. P. 2402—2411.
2132. *Van Voorhis W. C., Hair L. S., Steinman R. M., Kaplan G.*//*J. Exp. Med. (US).* 1982. Vol. 155. P. 1172—1187.
2133. *Van Voorhis W. C., Steinman R. M., Hair L. S. et al.*//*Ibid.* 1983. Vol. 158. P. 126—145.
- 2133a. *Varey A.-M., Champion B. R., Cooke A.*//*Immunology.* 1986. Vol. 57. P. 111—114.
2134. *Varho M., Lehmann-Grube F., Simon M. M.*//*J. Exp. Med.* 1981. Vol. 153. P. 992—997.
2135. *Vasta G. R., Marchalonis J. J., Köhler H.*//*Ibid.* 1984. Vol. 159. P. 1270.
2136. *Vazquez A., Senik A., Neauport-Sautes C.*//*J. Immunol.* 1980. Vol. 125. P. 74—77.
2137. *Végh P., Eddös E., Janossy T., Petri G.*//*Cell. Immunol.* 1980. Vol. 55. P. 265—271.
2138. *Venuta S., Mertelsmann R., Welle K. et al.*//*Blood.* 1983. Vol. 61. P. 781—789.
2139. *Vidovič D., Juretič A., Nagy Z. A., Klein J.*//*Europ. J. Immunol.* 1981. Vol. 11. P. 499—504.
2140. *Vidovič D., Simon M. M., Nagy Z. A., Klein J.*//*Scand. J. Immunol.* 1983. Vol. 17. P. 583—586.

2141. *Vidović D., Klein J., Nagy Z. A.*//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1113—1117.
2142. *Vincent C., Revillard J.-P.*//Mol. Immunol. 1980. Vol. 17. P. 723—728.
2143. *Vitetta E. S., Klein J., Uhr J. W.*//Immunogenetics. 1974. Vol. 1. P. 82—90.
- 2143a. *Vitetta E. S., Ohara J., Myers C. D. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 162. P. 1726—1731.
2144. *Vučak J., Jurelić A., Nagy Z. A., Klein J.*//Immunogenetics. 1982. Vol. 15. P. 519—527.
2145. *Vodinelich L., Sutherland R., Schneider C. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 835—839.
2146. *Vohr H. W., Holtkamp B., Rajewsky K.*//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 846—851.
2147. *Vohr H.-W., Hünig T.*//Ibid. 1985. Vol. 15. P. 332—337.
2148. *Voitenok N. N., Varivotskaya N. V.*//Scand. J. Immunol. 1984. Vol. 19. P. 353—358.
2149. *Von Boehmer H., Haas W., Jerne N. K.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1978. Vol. 75. P. 2439—2442.
2150. *Von Boehmer H., Hengartner H., Nabholz M. et al.*//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 592—597.
2151. *Von Boehmer H., Haas W.*//Immunol. Rev. 1981. Vol. 54. P. 27—56.
2152. *Von Boehmer H., Turton K.*//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 176—179.
2153. *Wadee A. A., Rabson A. R.*//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2271—2276.
2154. *Wagner H.*//Ibid. 1972. Vol. 109. P. 630—637.
2155. *Wagner H., Röllinghoff M.*//Nature. 1973. Vol. 241. P. 53—54.
2156. *Wagner H., Röllinghoff M.*//Europ. J. Immunol. 1974. Vol. 4. P. 745—750.
2157. *Wagner H., Gotze D., Ptschelinzen L., Röllinghoff M.*//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 142. P. 1477—1487.
2158. *Wagner H., Starzinski-Powitz A., Pfizenmaier K., Röllinghoff M.*//Europ. J. Immunol. 1976. Vol. 6. P. 873—878.
2159. *Wagner H., Starzinski-Powitz A., Pfizenmaier K., Röllinghoff M.*//Nature. 1976. Vol. 263. P. 235—237.
2160. *Wagner H., Hardt C., Bartlett R. et al.*//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 2532—2538.
2161. *Wagner H., Hardt C., Heeg K. et al.*//Nature. 1980. Vol. 284. P. 278—279.
2162. *Wagner H., Röllinghoff M., Pfizenmaier K. et al.*//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 1058—1067.
2163. *Wagner H., Röllinghoff M., Rodt H., Thierfelder S.*//Europ. J. Immunol. 1980. Vol. 10. P. 521—525.
2164. *Wagner H., Hardt C., Bartlett R. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1517—1532.
2165. *Wagner H., Hardt C., Stockinger H. et al.*//Immunol. Rev. 1981. Vol. 58. P. 95—129.
2166. *Wagner H., Hardt C., Rouse B. T. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 1876—1881.
2167. *Wagner H.*//Transplant. Proc. 1983. Vol. 15. P. 523—526.
2168. *Wakasugi H., Harel A., Dokhelar M.-C. et al.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6028—6031.
- 2168a. *Wake C., Flavell R. A.*//Cell. 1985. Vol. 42. P. 623—628.
2169. *Waksman B. H.*//Immunol. Today. 1981. Vol. 2. P. 87—93.
2170. *Walden P., Nagy Z. A., Klein J.*//Nature. 1985. Vol. 315. P. 327—329.
2171. *Waldmann H., Pope H., Bettles C., Davies A. J. S.*//Ibid. 1979. Vol. 277. P. 137—138.
2172. *Waldmann T. A., Goldmann C. K., Robb R. J. et al.*//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 1450—1466.
2173. *Waldor M. K., Sriram S., McDevitt H. O., Steinman L.*//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 2713—2717.
2174. *Walford R. L.*//Amer. J. Clin. Pathol. 1980. Vol. 74. P. 247—253.
2175. *Walker E. B., Lanier L. L., Warner N. L.*//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 629—634.
2176. *Walker I. D., Harris A. W.*//Nature. 1980. Vol. 288. P. 290—292.

2177. Walker L. E., Kettler T. A., Houghten R. A. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 539—542.
2178. Wallace L. E., Houghton M. A., Rickinson A. B., et al.//Immunogenetics. 1985. Vol. 21. P. 201—214.
2179. Waltenbaugh C., Theze J., Rapp J. A., Benacerraf B.//J. Exp. Med. (US). 1977. Vol. 146. P. 970—985.
2180. Waltenbaugh C.//Ibid. 1981. Vol. 154. P. 1570—1583.
2181. Wang B. S., Heacock E. H., Zheng C.-X. et al.//Transplantation. 1982. Vol. 33. P. 454—455.
2182. Wang K.-M.//Mol. Immunol. 1984. Vol. 21. P. 985—991.
2183. Ware C. F., Chauvenet P. H., Duffey P. S., Granger G. A.//Cell. Immunol. 1981. Vol. 59. P. 289—300.
2184. Ware C. F., Krangel M. S., Pious D. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 1312—1317.
2185. Warnatz H., Kraff F.//Ibid. 1976. Vol. 117. P. 981—985.
2186. Warren R. W., Murphy S., Davie J. M.//Ibid. Vol. 116. P. 1385—1390.
2187. Watanabe N., Kojima S., Shen F. W., Ovary Z.//Ibid. 1977. Vol. 118. P. 485—488.
2188. Waters C. R., Pilarski L. M., Wegmann T. G., Diener E.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 149. P. 1134—1151.
2189. Waters S. J., Luzzatti P. R., Bona C. A.//Ibid. 1984. Vol. 160. P. 1300—1315.
2190. Waters S. J., Winchester R. J., Nagase F. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 7559—7563.
2191. Watson J. D.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 293—297.
2192. Watt T. S., Gooding L. R.//Nature. 1980. Vol. 283. P. 74—76.
2193. Watts T. H., Brian A. A., Kappler J. W.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 7564—7568.
2194. Watts T. H., Gariépy J., Schoolnik G. K., McConnell H. M.//Ibid. 1985. Vol. 82. P. 5480—5484.
2195. Webb C., Teitelbaum D., Rauch H. et al.//J. Immunol. 1975. Vol. 114. P. 1469—1472.
2196. Webb D. R., Jamieson A. T.//Cell. Immunol. 1976. Vol. 24. P. 45—57.
2197. Webb D. R., Nowowiejski J.//Ibid. 1978. Vol. 41. P. 72—85.
- 2197a. Webb D. R., Mason K., Semenuk G. et al.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 3238—3242.
2198. Webb D. R., Molnar-Kimber K., Bruce J. et al.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 1970—1974.
2199. Weber G., Kölsch E.//Europ. J. Immunol. 1973. Vol. 3. P. 767—772.
2200. Wei W.-Z., Lindquist R. R.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 513—516.
2201. Wei W.-Z., Lindquist R. R.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 1458—1463.
2202. Weinberger J. Z., Germain R. W., Ju S.-T. et al.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 761—776.
2203. Weinberger J. Z., Germain R. N., Benacerraf B., Dorf M. E.//J. Immunol. 1980. Vol. 125. P. 161—169.
2204. Weinberger O., Herrmann S., Mescher M. A. et al.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 405—411.
2205. Weinberger O., Herrmann S., Mescher M. F. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 1796—1799.
2206. Weinberger O., Germain R. N., Burakoff S. J.//Nature. 1983. Vol. 302. P. 429—431.
2207. Weis J. H., Murre C.//J. Exp. Med. (US). 1985. Vol. 161. P. 356—365.
2208. Weiss A., Brunner K. T., MacDonald H. R., Cerottini J.-C.//Ibid. 1980. Vol. 152. P. 1210—1225.
2209. Weiss A., Stobo J. D.//Ibid. 1984. Vol. 160. P. 1284—1299.
2210. Weiss E. H., Mellor A., Golden L. et al.//Nature. 1983. Vol. 301. P. 671—674.
2211. Weiss M. J., Daley J. F., Hodgdon J. C., Reinherz E. L.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1984. Vol. 81. P. 6836—6840.

2212. Weissman I. L.//J. Exp. Med. (US). 1973. Vol. 137. P. 504—510.
2213. Wekerle H., Eshhar Z., Lonai P., Feldman M.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1975. Vol. 72. P. 1147—1151.
2214. Wekerle H., Ketelsen U.-P., Ernst M.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 925—944.
2215. Werdelin O., Brandstrup O., Shevach E. M.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1755—1762.
2216. Werdelin O.//Scand. J. Immunol. 1981. Vol. 13. P. 623—629.
- 2216a. Werkmeister J. A., Triglia T., Andrews P., Burns G. F.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 689—695.
2217. Wettstein P. J., Bailey D. W., Mobraaten L. E. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 147. P. 1395—1405.
2218. Wettstein P. J.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 2629—2633.
2219. Wetzig R. P., Foster C. S., Greene M. I.//Ibid. P. 1753—1757.
2220. Weyand C., Goronzy J., Hämmerling G. J.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 1717—1731.
2221. Weyand C., Hämmerling G. J., Goronzy J.//Nature. 1981. Vol. 292. P. 627—629.
2222. Whisler R. L., Stobo J. D.//J. Exp. Med. (US). 1976. Vol. 144. P. 398—413.
2223. Whisler R. L., Stobo J. D.//J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 539—542.
2224. Whitaker R. B., Ruddle N. H.//Cell. Immunol. 1980. Vol. 55. P. 56—65.
2225. White J., Haskins K. M., Marrack P., Kappler J.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1033—1037.
2226. Wicker L. S., Benjamin C. D., Miller A., Sercarz E. E.//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 447—453.
2227. Wicker L. S., Katz M., Sercarz E. E., Miller A.//Ibid. P. 442—446.
2228. Widera G., Fravell R. A.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 5500—5504.
2229. Widmer M. B., Cooper E. L.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 291—295.
2230. Widmer M., MacDonald H. R.//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 48—51.
2231. Widmer M. B., Bach F. H.//Nature. 1981. Vol. 294. P. 750—752.
2232. Widmer M. B., Roopinian D. C., Bach F. H.//Transplant. Proc. 1983. Vol. 15. P. 393—395.
2233. Wieder K. J., Araneo B. A., Kapp J. A., Webb D. R.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 3599—3603.
2234. Wigzell H. O.//Contemp. Top. Immunobiol. 1974. Vol. 3. P. 77—117.
2235. Wiktor T. J., Doherty P. C., Koprowski H.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 334—338.
2236. Wilder R. L., Yuen C. C., Scher J., Mage R. G.//Europ. J. Immunol. 1979. Vol. 9. P. 777—783.
2237. Williams A. F., Cagnon J.//Science. 1982. Vol. 216. P. 696—703.
- 2237a. Williams J. R., Perry L. L.//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 2942—2947.
2238. Wilson B. S., Glassy M. C., Quaranta V. et al.//Scand. J. Immunol. 1981. Vol. 14. P. 201—205.
2239. Winchester G., Sunshine G. H., Nardi N., Mitchison N. A.//Immunogenetics. 1984. Vol. 19. P. 487—491.
2240. Winchester R. J., Meyers P. A., Broxmeyer H. E. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 148. P. 613—618.
2241. Windle J. J., Shin H. S., Marrow J. F.//J. Immunol. 1984. Vol. 132. P. 1317—1322.
2242. Winoto A., Steinmetz M., Hood L.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 3425—3429.
2243. Winoto A., Mjolsness S., Hood L.//Nature. 1985. Vol. 316. P. 832—836.
2244. Wofsy D., Murphy E. D., Roths J. B. et al.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 154. P. 1671—1680.
- 2244a. Wofsy D., Mayes D. C., Woodcock J., Seaman W. E.//J. Immunol. 1985. Vol. 135. P. 1698—1706.
2245. Wolos J. A., Davey F. R.//Cell. Immunol. 1979. Vol. 48. P. 415—419.

2246. Wolos J. A., Smith S. B.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 711—715.
2247. Wood D. D.//Ibid. 1979. Vol. 123. P. 2400—2407.
2248. Wood M. L., Monaco A. P.//Transplantation. 1979. Vol. 27. P. 186—189.
2249. Wood P. J., Streilein J. W.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 188—194.
2250. Wood P. J., Streilein S. W.//Transplantation. 1984. Vol. 37. P. 223—225.
2251. Woodward J. G., Fernandez P. A., Dayne R. A.//J. Immunol. 1979. Vol. 122. P. 1196—1202.
2252. Woodward J. G., Orn A., Harmon R. C. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 3613—3617.
2253. Wraith D. C., Holtkamp B., Askonas B. A.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 762—766.
2254. Wrede J., Rude E., Thumb R., Meyer-Delius M.//Ibid. 1973. Vol. 3. P. 798—804.
2255. Wright S. C., Bonavida B.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 433—439.
2256. Wright K., Ramshaw I. A.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 1596—1599.
2257. Wright S. C., Bonavida B.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 2960—2964.
2258. Wright S. C., Bonavida B.//Ibid. P. 2965—2969.
2259. Wright S. C., Bonavida B.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 1688—1691.
2260. Wu S., Bach F. H., Auerbach R.//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 142. P. 1301—1305.
2261. Wu S., Bach F. H., Sopori M.//J. Immunol. 1980. Vol. 124. P. 2464—2467.
2262. Wu S., Thomas D. W.//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 2110—2116.
2263. Yachie A., Miyawaki T., Nagaoki T. et al.//Ibid. 1981. Vol. 127. P. 1314—1317.
2264. Yachie A., Miyawaki T., Uwadana N. et al.//Ibid. 1983. Vol. 131. P. 731—735.
- 2264a. Yagüe J., White J., Coleclough C. et al.//Cell. 1985. Vol. 42. P. 81—87.
- 2264b. Yamada H., Martin P. J., Bean M. H. et al.//Europ. J. Immunol. 1985. Vol. 15. P. 1164—1168.
2265. Yamaga K. M., Pfaffenbach G. M., Pease L. K. et al.//Immunogenetics. 1983. Vol. 17. P. 19—29.
2266. Yamaguchi M., Yamasaki K., Beauchamp G. K. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 5817—5820.
2267. Yamamoto H., Nonaka M., Katz D. H.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 818—829.
2268. Yamamoto H., Bitch J., Toru M., Fujimoto S.//J. Immunol. 1983. Vol. 130. P. 1038—1042.
- 2268a. Yamamoto K., Koch N., Steinmetz M., Hämmerling G. J.//J. Immunol. 1985. Vol. 134. P. 3461—3467.
- 2268b. Yamamura K.-I., Kikutani H., Folsom V. et al.//Nature. 1985. Vol. 316. P. 67—69.
2269. Yamashita U., Shevach E. M.//J. Immunol. 1977. Vol. 119. P. 1575—1583.
2270. Yamashita U., Hamaoka T.//Ibid. 1979. Vol. 123. P. 2637—2643.
2271. Yamashita U., Shevach E. M.//Ibid. 1980. Vol. 124. P. 1773—1778.
2272. Yamashita U., Ono S., Nakamura H.//Ibid. 1982. Vol. 128. P. 1003—1009.
2273. Yamashita U., Ono S., Nakamura H.//Ibid. P. 1010—1017.
2274. Yamauchi K., Green D. R., Eardley D. D. et al.//J. Exp. Med. (US). 1981. Vol. 153. P. 1547—1561.
2275. Yamauchi K., Murphy D., Cantor H., Gershon R. K.//Europ. J. Immunol. 1981. Vol. 11. P. 905—912.
2276. Yamauchi K., Murphy D., Cantor H., Gershon R. K.//Ibid. P. 913—918.
2277. Yamauchi K., Chao N., Murphy D. B., Gershon R. K.//J. Exp. Med. (US). 1982. Vol. 155. P. 655—665.
2278. Yamauchi K., Taniguchi M., Green D., Gershon R. K.//Immunogenetics. 1982. Vol. 16. P. 551—558.
2279. Yamauchi K., Flood P. M., Singer A., Gershon R. K.//Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 285—291.

2280. Yamazaki K., Beauchamp G. K., Bard J. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1982. Vol. 79. P. 7828—7831.
2281. Yanagi Y., Yoshikai Y., Leggett L. et al.//Nature. 1984. Vol. 308. P. 145—149.
2282. Yanagi Y., Caccia N., Kronenberg M. et al.//Ibid. 1985. Vol. 314. P. 631—633.
2283. Yanagi Y., Chan A., Chin B. et al.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 3430—3434.
2284. Yap K. L., Ada G. L., McKenzie I. F. C.//Nature. 1978. Vol. 273. P. 238—239.
2285. Yeh E. T., H., Benacerraf B., Rock K. L.//J. Exp. Med. (US). 1984. Vol. 160. P. 799—813.
2286. Yem A. M., Parmely M. J.//J. Immunol. 1981. Vol. 27. P. 2245—2251.
2287. Yewdell J. W., Bennink J. R., Smith G. L., Moss B.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 1785—1789.
2288. Yodoi J., Takabayashi A., Masuda T.//Cell. Immunol. 1978. Vol. 39. P. 225—237.
2289. Yokota S., Lafuse W. P., McCormick J. F., David C. S.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 371—374.
2290. Yokoyama K., Nathenson S. G.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 1419—1425.
2291. Yoshikai Y., Anatoniou D., Clark S. P. et al.//Nature. 1984. Vol. 312. P. 521—524.
2292. Yoshikai Y., Yanagi Y., Suciu-Foca N., Mak T. W.//Ibid. Vol. 310. P. 506—508.
2293. Yoshikai Y., Clark S. P., Taylor S. et al.//Ibid. 1985. Vol. 316. P. 837—840.
2294. Yoshizaki K., Nakagawa T., Kaieda T. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 128. P. 1296—1301.
2295. Yoshizaki K., Nakagawa T., Fukunaga K. et al.//Ibid. 1983. Vol. 130. P. 1241—1246.
2296. Yron J., Wood T. A., Spiess P. J., Rosenberg S. A.//Ibid. 1980. Vol. 125. P. 238—245.
2297. Yu D. T. Y., McCune J. M., Fu S. F. et al.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 152. P. 589—598.
- 2297a. Yurin V. L., Rudensky A. Yu., Rabinovich O. R. et al.//Fed. Proc. 1986. Vol. 45. P. 499.
2298. Zaguri D., Bernard J., Jeannesson P. et al.//J. Immunol. 1979. Vol. 123. P. 1604—1609.
2299. Zaguri D.//Adv. Exp. Med. Biol. 1982. Vol. 146. P. 149—164.
2300. Zahn G., Hammerling G. J., Eichmann K., Simon M. M.//Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 43—50.
- 2300a. Zamvil S., Nelson P., Trotter J. et al.//Nature. 1985. Vol. 317. P. 355—357.
2301. Zan-Bar I., Murphy D. B., Strober S.//J. Immunol. 1978. Vol. 120. P. 497—506.
2302. Zanders E. D., Feldmann M., Green N., Lamb J. R.//Europ. J. Immunol. 1984. Vol. 14. P. 1101—1105.
2303. Zanovello P., Collavo D., Ronchese F.//Immunogenetics. 1984. Vol. 51. P. 9—16.
2304. Zarling J. M., Raich P. C., McKeough M., Bach F. H.//Nature. 1976. Vol. 262. P. 691—693.
2305. Zarling J. M., Bach F. H., Kung P. C.//J. Immunol. 1981. Vol. 126. P. 375—378.
- 2306—2307. Zarling J. M., Clouse K. A., Biddison W. E., Kung P. C.//Ibid. Vol. 127. P. 2575—2580.
2308. Zembala M. A., Asherson G. L., James B. M. B. et al.//J. Immunol. 1982. Vol. 129. P. 1823—1829.
2309. Zhang Y.-H., Nelson P. L., Biddison W. E.//Mechanisms of Lymphocyte Activation Proc. Amsterdam, 1981. P. 388—391.
2310. Ziegler K., Unanue E. R.//J. Exp. Med. (US). 1979. Vol. 150. P. 1143—1160.

2311. Ziegler K., Unanue E. R.//J. Immunol. 1981. Vol. 127. P. 1869—1875.
2312. Zimmerman T. P., Wolberg G., Duncan G. S.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1978. Vol. 75. P. 6220—6224.
2313. Zinkernagel R. M., Doherty P. C.//J. Exp. Med. (US). 1975. Vol. 141. P. 1427—1436.
2314. Zinkernagel R. M.//Ibid. 1976. Vol. 144. P. 776—787.
2315. Zinkernagel R. M., Althage A.//Ibid. 1977. Vol. 145. P. 644—651.
2316. Zinkernagel R. M., Althage A., Holland J. //J. Immunol. 1978. Vol. 121. P. 744—755.
2317. Zinkernagel R. M., Callahan G. N., Althage A. et al.//J. Exp. Med. (US). 1978. Vol. 120. P. 882—896.
2318. Zinkernagel R. M., Callahan G. N., Klein J., Dennert G.//Nature. 1978. Vol. 271. P. 251—253.
2319. Zinkernagel R. M., Althage A., Waterfield E. et al.//J. Exp. Med. (US). 1980. Vol. 151. P. 376—399.
2320. Zlotnik A., Roleerts W. K., Vasil A. et al.//J. Immunol. 1983. Vol. 131. P. 794—800.
2321. Zucker-Franklin D., Grusky G., Yang J.-S.//Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 6977—6981.
- 2321a. Zupko K., Waltenbaugh C., Diamond B.//Ibid. 1985. Vol. 82. P. 7399—7403.
2322. Zweerink M. J., Askonas B. A., Millican D. et al.//Europ. J. Immunol. 1977. Vol. 7. P. 630—635.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Аллели районов (субрайонов) главного комплекса гистосовместимости (МНС)
— мыши (H-2) 7, 8, 13, 14, 16, 18—22, 25—31, 34, 37, 40—46, 49, 50, 53—74, 114—117, 119, 135, 136, 149, 155, 156, 163, 197, 198, 221, 245, 251, 254, 255, 272, 305, 315, 321, 325, 326, 337—340, 343, 344—363, 374
— человека (HLA) 27, 345, 346
Аллоантигены 7, 64, 106, 111, 112, 120, 121, 126, 128, 137, 140, 142, 145, 146—149, 160, 177, 178—191, 225, 226—229, 239, 241, 246, 247, 258, 284, 314, 317, 318, 342, 346, 360
Аминокислоты 7, 8, 23—30, 37, 38, 41—45, 49, 52, 55, 56, 59, 89, 90, 175, 180, 203, 204, 228, 234, 329—342, 344—346, 349, 370, 381
Антисыворотки
— антилимфоцитарная (АЛС) 80, 81, 88, 129, 130, 224, 231
— антитимоцитарная (АТС) 82, 137, 144, 226
— антисупрессорная (АСС) 247, 248
Антитела моноклональные (МкАТ) 18, 22, 26, 28—30, 34, 42, 50, 53, 54, 58, 62—64, 68, 77—79, 94, 98, 99, 101—104, 112—116, 131, 151, 166, 168, 171, 175, 177—179, 182—185, 194, 198, 203, 207—211, 214, 216—220, 224, 237, 240, 247, 248, 257, 269, 272, 281, 292, 297, 300—303, 307, 314, 326, 330, 337, 342—346, 360, 364—374, 378—381, 384, 387
Антителообразующие клетки (АОК) 100, 115, 154, 167—172, 176, 183, 184, 194, 326, 340
Антигены (белки)
— авидин 203, 338
— альбумин бычий сывороточный 204, 227, 228, 284, 285, 338
— альбумин метилированный 69, 70, 204
— α -фетопротенин (АФП) 227, 232
— β -галактозидаза 256, 340
— гамма-глобулин человека 154, 229
— гемоцианин 57, 58, 115, 136, 154, 197, 210, 216, 218, 261—263, 271—273, 338
— гликофорин 314
— инсулин (быка, овцы, свиньи) 53, 55, 212, 229, 235, 314, 329, 331, 334, 336, 339, 340
— лактат-дегидрогеназа-В (LDH_B) 72, 73, 253, 257, 271, 273
— лизоцим 55, 200, 203, 229, 256, 314, 330—333, 340—342
— миоглобин 55, 56, 203, 330—335, 366
— овальбумин 136, 142, 200, 203, 303, 324, 329, 332, 334, 338, 341, 366, 367
— секс-антиген (H-Y) 10, 61, 115, 121, 136, 143, 195, 210, 344—347
— стрептококк 154, 216
— туберкулин (PPD) 145, 200, 324
— цитохром с 55, 58, 59, 145, 203, 204, 228, 329—336, 366
Аутоиммунные процессы 9, 176, 233
— гломерулонефрит 198
— красная волчанка 9, 198, 222, 230
— мнестения гравис 9
— MRL-lpr (линия мышей) 144, 153, 197
— рассеянный склероз 9
— ревматоидный артрит 9, 222
— энцефаломиелит экспериментальный аутоиммунный (ЭАЭ) 197, 198, 212, 230, 341
— энцефалопатия 9
Аффинитет рецепторов 136, 176, 178, 350—355, 375
Базальный белок миелина 324, 341
Бласты 86, 88, 99, 106, 167, 177, 178, 182, 183, 285, 291, 295, 297, 299, 310, 317
Белки цитоскелета (актин, виментин, талин) 98, 295
Вирусы
— аденовирус 359—361
— везикулярного стоматита 31, 359, 360
— герпеса 347, 359
— гриппа 9, 31, 138, 142, 146, 190, 197, 203, 217, 243, 303, 305—308, 343, 347, 359, 360
— кори 212
— лейкемии Гросса 307
— — Молони 136, 305, 307, 313, 347, 349, 361
— — Френд 305, 307, 323, 360
— лимфоцитарного хориоменингита 31, 138, 305, 343

- осповакцины 121, 305, 360
- Рарова/SV40 138, 307, 361
- реовирусы 308
- Сендай 16, 121, 135, 138, 305, 308, 347, 359
- эктромелин 16, 138, 305, 356
- Эпштейна—Барр 9, 138, 155, 172, 213, 222, 346

Гаплотип МНС 6, 11, 13, 16, 22, 26, 39—55, 64, 70, 71, 115—123, 155, 321—324, 340

Гаптены

- азобензоларсенат (АБА) 260—263, 267, 269, 271, 273, 310, 315, 317, 324
- ацетил-этилен-диамин (АЕД) 330, 344, 361
- 4-гидрокси-3-нитрофенил-ацетил (NP) 260—263, 267, 271, 273, 274
- динитрофенол 267, 331
- оксазолон 361
- никрилхлорид 267, 274
- тринитрофенол 16, 115, 122, 123—126, 155, 188, 192—195, 211, 259, 267, 269, 274, 310, 349, 361, 362
- три- и динитробензолсульфоновая кислота 246, 273, 310
- флуоресценин 136, 361, 362, 374
- фосфорилхолин 269, 311, 314

Гемагглютинин вируса гриппа 63, 135, 145, 203, 258, 307, 324, 329, 330—334, 360

Гены

- МНС класса I 6, 11, 12, 14, 30—32
- МНС класса II 11, 12, 14, 15, 17, 39, 41, 42, 49—68, 74, 221
- иммуноглобулинов 219, 223, 263—265, 268, 273, 274, 311—314, 337, 371, 373, 374
- иммунореактивности (Ig) 12, 17, 49, 52—68, 113
- иммуносупрессии (Is) 12, 17, 68—74
- интерлейкина-2 180
- Т-рецепторов 371—383
- — T_α сегменты 373
- — T_β сегменты 371
- — T_γ сегменты 374
- — в тимусе 375—378
- xid X-хромосомы 62, 64, 67, 183

Гепарин (ингибитор летального удара Т-киллеров) 287

Гибридомы В 212, 213, 227, 324, 366, 367

Гибридомы Т 50, 111, 112, 169, 172, 176, 199, 210, 218, 219, 260, 264, 269, 272, 273, 311, 313, 325, 327, 330, 338, 368, 374—378

Гистамин (активатор функции Т-супрессоров) 276

Гомология последовательности

- аминокислот 25—27
- нуклеотидов 51, 318, 371

Гормоны тимуса (тимозины, тимопоэтины, тимусный гуморальный и сывороточный факторы, тимостимулин) 83, 85, 88—92, 235, 258

Гормоны роста 283

Гиперчувствительность замедленного типа 52, 66—68, 196, 216, 217, 221, 225, 230, 231, 235—237, 239, 256, 263, 264, 267—269, 275, 276, 281

Дезоксинуклеотиды (GTP), дезоксцитидин 108

Декстран, декстран-сульфат 170, 275, 287

Детерминанты

- серологически определяемые 12, 19—21, 47—49, 59, 62, 63, 328—330, 342—351, 355, 358, 375
- цитотоксических Т-лимфоцитов 12, 28, 342—359
- общие (public) 20, 21, 47
- частные (private) 20, 21, 339
- комбинаторные 43—48, 57—63

Диабет 198, 226

Дифференцировка клеток 75—132, 169—174, 181—185, 216—223, 282—286, 375—378, 388

Домены белков

- переменные (V, D, J) и константные (C) α- и β-цепей 368—378
- внеклеточные 23, 37, 38
- трансмембранные 8, 23, 38
- трансмембранные 23, 38
- Т-рецептора 343, 344, 369, 370
- цитоплазматические 23, 38

Идиотип/антиидиотип 213, 221, 227, 258, 261—264, 267—271, 278, 341

- идиотоп 268, 269, 311, 315—318
- перекрестно реагирующий (CRI) 261—264, 272, 315

— Т-субклассов 313—318

Изотиоцианат флуоресценна (ФИТЦ) 79, 126, 127, 327, 366, 369

Иммуноглобулины (Ig). Н- и L-цепи 8, 23, 27, 32, 36, 37, 51, 80, 98, 103, 109, 134, 167, 170—172, 176, 183, 212, 214, 218—223, 261, 263, 269, 270, 273, 281, 303, 309—318, 327, 371

— Fab-, F(ab')₂-, Fc-фрагменты 170, 184, 186, 229, 311—313, 316, 345, 364, 380, 381

Ингибиторы

- внутриклеточного транспорта (модуляции) 199, 302
- клеточного метаболизма (азид

натрия, дезокси глюкоза, динитрофенол, диметилсульфоксид, цианид, ацетат, бензиловый спирт) 171, 185, 199, 213, 280, 287, 288, 291, 297, 299, 327

— лизосомального протеолиза (хлорохин, хлорид аммония, лидокаин, трипанблау) 287, 291

— пролиферации (бромдезоксинуридин) 64, 138

— синтеза белка (пактамин, пуромин, циклогексимид) 290

— синтеза ДНК (митомин С, цитозинарабинозид, оксимочевина) 137, 138, 185, 188, 241

— синтеза простагландина Е (индометацин, тромбосан) 35, 186

— связывания кальмодулина с Ca^{+2} (стелазин) 298

— транслокации мембранных липидов 286

— ферментов

— — ДНК-полимеразы 274

— — сериновых протеаз (ТЛСК) 290, 291, 297, 299

— — химотрипсиноподобных протеаз (ТРСК) 303

— — метилтрансферазы (3-дезаадеозин) 297

— — фосфодиэстеразы (метилизобутилксантин) 186

— — фосфолипазы А (лецитин, фосфатидилхолин) 287, 297

— функций цитоскелета и/или латеральных движений мембраны

— — винбластин 239, 287, 290, 291

— — колхицин 239, 287, 291

— — цитохалазин А, В (ЦА, ЦВ) 177, 239, 287, 288, 291, 298, 327

Интерлейкины (ИЛ)

— ИЛ-1 111, 145, 159—166, 171, 173—177, 187, 190, 204, 205, 210, 211, 213, 327, 367

— ИЛ-2 86, 87, 90, 106, 114, 123, 127, 135, 143—154, 157—169, 173, 176—196, 201, 210, 214, 216, 226, 232, 275, 284, 312, 324, 325, 338, 366, 367, 380—382, 386—388

— ИЛ-3 91, 92

— ИЛ-4 171, 213

Интерферон- γ 167, 169, 173, 181, 182, 188, 204, 222, 297, 303, 343

Инфекции

— лепроматоз, трипаносомоз, болезнь Чагаса 144, 145, 226

— шистозомиаз 237, 246

— туберкулез 226, 237

Ионофор А-23187 295, 296

Клетки

— кроветворные 33, 35, 75—79, 99, 107

— мишени (КМ) 10, 17, 31, 49, 135, 137, 143, 165, 223, 230, 240, 244, 246, 251, 256, 259, 264, 269, 285—304, 318, 319, 330, 342—363, 374, 382

— «няньки» 109

— памяти 154—156, 173, 225, 321—323, 328, 355, 359

— плазматические 172, 176

— презентирующие антиген (КПА) или вспомогательные (А-клетки) 4, 8, 31, 36, 64—68, 73, 109, 111, 115—119, 123, 125, 160—167, 174, 186, 191, 197—213, 260, 265—267, 325, 327, 338, 359, 383

— — астроциты мозга 205

— — дендритические (ДК) 33—35, 109, 110, 112, 118, 197, 205, 206, 209—212, 252

— — кератиноциты 211

— — лагергансовы (ЛК) 205, 210—212, 225

— — фибробласты 30, 31, 209, 212

— — хондроциты 212

— — эндотелиальные 33, 109, 163, 167, 205, 212

— — эпителиальные 33—35, 88, 89, 92, 106, 205, 212

— презентирующие фактор (КПФ) 265, 266

— стволовые 35, 75—79, 87, 94, 98, 99, 300

Киллеры (см. субклассы Т-лимфоцитов)

— активированные лимфокином (ЛАК) 304

— антителозависимые (ADCC) 165, 289, 293, 304

— атипичные (старые) (АК) 304

— лектинзависимые (LDCC) 289, 292, 293

— натуральные (НК) 209, 228, 298—305, 378

Комплекс Гольджи 32, 295

Комплемент 248, 316

Комплементарная ДНК (кДНК) 30, 51, 175, 178, 180, 376, 381, 384

Коплементация генов (цис-, транс-) 43—47, 57, 59, 68, 71

Кортикостерониды (глюкокортикоиды) 10, 84, 88, 102, 129, 145, 157, 176, 189, 209, 236, 238, 241, 244, 287, 291, 297

Кроссинговер 41

Кэппинг (совместное перемещение на мембране антигенного комплекса) 18 103, 177, 293, 296, 360

Лектины

- агглютинины зародыша пшеницы, сои 289, 293
- агглютинины земляного ореха (PNA) 76, 102, 106, 107, 112, 140, 176, 181, 227, 233
- конканавалин А 34—35, 86, 90—92, 94, 107, 129, 130, 160, 162, 165—167, 175—177, 179, 187, 196, 211, 235—239, 246, 247, 274, 277, 283—285, 289, 295
- липополисахарид 36, 78, 163, 164, 170, 175, 212
- Лобстер-агглютини (LAgI) 107
- фитогемагглютини 81, 91, 94, 106, 129, 130, 160, 165, 176, 177, 179, 180, 189
- Лизис клеток-мишеней 31, 46, 147, 165, 289—308, 330, 344—359, 374
- Лизосомы 149, 161, 202, 295
- Лимфоциты
- В 3, 33—37, 42, 52, 62, 63, 65, 75—79, 81, 85, 91, 104, 114, 115, 120, 127, 130, 156, 167—175, 179, 183, 205, 212, 213, 216, 227, 228, 231, 233, 264, 268, 280, 293, 303, 316—318, 325, 328, 329, 341, 362, 383
- большие агранулярные (LAL) 302
- большие гранулярные (LGL) 209, 300
- периферические Т 77, 95
- пре-В 32, 81, 83, 172, 176
- Линии (клоны) Т-лимфоцитов 34, 46, 56, 57, 63, 121, 151, 170, 177, 182, 197, 212, 214, 225, 306, 311, 313, 316, 324—326, 339, 341, 346, 347, 353, 359, 362, 363, 366—374, 378, 380
- Липосомы 135, 149, 296, 360
- Макрофаги/моноциты 33—35, 42, 55, 59, 64—70, 73, 92, 109, 110, 112—119, 134, 161—167, 175, 182, 186, 187, 190, 195—212, 226, 228, 233, 240, 241, 266, 267, 275—277, 294, 300, 312, 316, 318—325, 329, 330, 337—339, 350, 353, 356—358, 378, 380, 382, 386
- Маркеры мембраны
- зрелых Т-лимфоцитов крысы 95, 98, 103, 154, 168, 188, 192, 246
- зрелых Т-лимфоцитов мыши 34, 57, 73, 79, 82, 83, 85—92, 95—111, 113, 125—130, 133, 134, 137—161, 166—169, 182, 186—195, 197, 198, 216—219, 228, 236, 239, 246, 248, 259, 270, 281, 284, 285, 292, 296, 297, 300, 302, 306, 338, 369, 376, 379, 385
- зрелых Т-лимфоцитов человека 95, 97—99, 103—107, 111, 122, 130, 150, 151, 188, 222, 223, 246, 249,

- 258, 292, 296, 300, 338, 369, 370, 376, 379—383, 385
- предшественников Т-лимфоцитов 76—84, 87, 97—101
- макрофагов мыши и человека 206—208
- тимоцитов крысы (RBMLA, RMTA) 78, 80, 95, 100
- тимоцитов мыши (TL) 76, 79, 90, 91, 95, 99—104, 107, 238
- тимоцитов человека (T6) 95, 101
- Микробы/микобактерии 187, 199, 200, 216, 221, 226
- β_2 -Микроглобулин 23—25, 27, 32, 51, 100—102, 104, 313, 379
- Минорный H-антиген/локус 16, 121, 125, 142—145, 153, 240, 347, 358, 362
- Молекула МНС 4, 7—10
- класса I мыши 7, 15, 16—33, 47, 51, 101, 106, 109, 113, 120—128, 133, 135, 141, 142, 146—151, 158—161, 166, 173, 195, 245, 249, 254, 255, 284, 285, 288, 292, 319, 327, 342—345, 374, 377, 379, 384, 385
- класса I человека 14, 22, 25, 27, 31, 32, 51, 133, 146, 151, 344—364
- класса II мыши 17, 33—51, 53, 91, 109—123, 133, 135, 136, 146—152, 154, 158—166, 173, 174, 184, 190, 197—200, 206, 207, 212, 217—221, 234, 237, 245, 249—259, 261, 264—268, 270—274, 292, 303, 315, 316, 325, 327, 338, 362, 363, 377, 384, 385
- класса II человека 51, 133, 151, 152, 163, 165, 184, 208, 209, 212, 232, 241
- класса III и IV мыши 17, 18
- мутантная 7, 18, 21, 22, 25—29, 49, 59—63, 156, 221, 246, 346
- хемосенсорная 10
- Мыши
- инбредные 11, 13, 14, 18, 20—22, 25, 28, 33, 41, 43—48, 51, 53—73, 114—124, 130, 140, 141, 156, 172, 183, 195, 198, 220, 230, 249—251, 271, 281, 282, 320—324, 335, 345, 351—358
- бестимусные (nude) 85, 86, 89, 91, 96, 110, 117, 121, 123—125, 128, 143, 157, 191, 192, 221, 224, 229
- мутантные 28, 29, 49, 53, 59—63, 121, 153, 221, 240, 246, 302, 337, 340, 345—351, 354—358
- рекомбинантные 13, 14, 41, 51, 53—73, 115—119, 123, 219, 249—251, 254, 255, 321, 326, 335, 336, 354—357
- Нуклеопротеид вируса гриппа 307, 330

Опухоли злокачественные 145, 165, 237, 241, 274, 276, 361
 — астроцитома 205, 212
 — лейкомия 138, 150, 163, 172, 189, 192, 194, 205, 347, 371, 377—381
 — лимфома Баркитта 32
 — макрофагальная (P388D1) 163, 167, 175, 205, 213
 — меланома 213, 270
 — миелома 213, 270
 — миеломоноцитарная (WENI-3) 35, 36, 175, 205, 213
 — плазмацитома/мастоцитома 31, 77, 138, 192, 248, 307, 321
 — саркома 138, 150, 160, 197, 259
 — Т-лимфома 165, 172, 176, 180, 181, 205, 216, 247, 248, 322, 324, 356
 — фибросаркома 259, 270
 L-орнитин (ингибитор дифференцировки ЦТЛ в MLC) 181
 Октапептиды (ангиотензин П и фибринопептид В) 202, 203, 331, 337, 340

Перекись водорода (один из агентов, секретируемых макрофагом) 204, 275

Перекрестная реактивность Т-субклассов 50, 126, 246, 297, 312, 319, 333, 334, 341, 346—357, 363, 364, 382

Периодат натрия (агент, разрушающий углеводы) 274

Перитонеальный экссудат 204—206, 285, 347

Пириламид (инактиватор рецептора к гистамину) 242, 283

Поливинилпирролидон (тимуснезависимый антиген) 224, 340

Полиморфизм молекул МНС 6—9, 41, 42

Полипептиды (кополимеры), вызывающие специфический иммунный ответ Т-хелперов и Т-супрессоров 21, 32, 50, 52—54, 57—73, 113—119, 153, 163, 197, 203, 234, 267, 268, 271, 272, 311, 326, 328, 329, 331, 337—340

Предшественники

— вторичных цитотоксических Т-лимфоцитов (пЦТЛ-2⁰) 135, 355—357

— посттимические (ПТП) 128—131, 233

— Т-клеток (претимоциты, ПТ) 75—132, 227, 230

— Т-супрессоров (пТс) 264—267

— цитотоксических Т-лимфоцитов (пЦТЛ), 7, 85, 86, 94, 109, 111, 121—128, 132, 138—161, 173, 181, 186, 189, 191—196, 226—232, 282—286, 382

Простагландин Е (PGE) 35, 155, 164, 176, 186, 187, 189, 195, 204, 206, 211, 227, 275, 291

Процессинг антигена 196—204, 213, 330

Радиоиммунопреципитация 360

Радiorезистентность 69, 82, 145, 146, 152, 204, 222

Радночувствительность 69, 82, 145, 157, 222, 224, 241, 242, 284

Реактивность и ареактивность 52—74, 114—121, 229, 272

Реакция трансплантата против хозяина (РТПХ) 28, 67, 79, 81, 90, 127, 137, 149, 228, 229, 239, 281, 315, 317, 326

Рестрикция

— интеракционная 249—258, 278, 325

— презентационная 4, 8, 15—19, 50, 53—68, 124, 126, 128, 134, 161, 162, 200—204, 233, 238, 325

— функции Т-супрессоров 218—220, 249—252, 267

Рецептор

— к агглютинирующему земляного ореха (PNA) (D-галактоза) 80, 81, 92, 93, 102, 104, 106, 107, 111, 127, 129, 139, 236, 238

— к ацетилхолину 230

— к гистамину 242, 276, 280, 283

— к инсулину 283, 285, 313

— к интерлейкину-1 171, 176

— к интерлейкину-2 105, 168, 177, 178, 182—186, 189, 282, 284, 367

— к комплементу (C3R) 80, 81, 165, 204—206, 209, 211

— к трансферрину 99, 185, 386

— к факторам роста и дифференцировки В-лимфоцитов 170, 183, 184

— к Fc-фрагменту иммуноглобулина (FcR) 130, 152, 165, 170, 176, 186, 187, 204—206, 209, 211, 230, 236, 238, 240

Рецептор Т-клетки, антигенсвязывающий 309—385

— молекулярная структура рецептора 364—375

Смешанная культура

— лимфоцитов (MLC) 7, 12, 17, 19, 36, 59, 64, 79, 81, 85, 90, 92, 106, 107, 111, 112, 121—130, 137—148, 151—157, 177, 181—189, 216, 217, 221, 222, 228, 230, 232, 236, 239—248, 254, 282—286, 304, 310, 317, 323—327, 346

— лимфоцитов и опухоли (MLTC) 162, 193, 304

Структура

— антигена (агретоп, эпиглоп) 55, 175,

238, 314, 328—336, 342—349
 — Ia-молекулы (дезетоп, гистотоп) 335—340
 — Т-рецептора (паратоп, реститоп) 336—337
 Субклассы Т-лимфоцитов
 — цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) 7, 9, 12, 16, 17, 19, 31, 34, 50, 61, 64, 82, 85, 92, 106, 107, 113, 115, 120—128, 134—162, 167, 173, 174, 178, 181—186, 189—198, 214, 215, 224, 225—232, 235, 236, 238—249, 256—258, 259, 269, 270, 275, 282—308, 317, 318—323, 330, 342—364, 366—369, 373—378, 386, 388
 — амплифайеры (хелперы Т-Т) 3, 64, 86, 94, 110, 115, 134, 141—164, 173—175, 186, 187, 189, 191—196, 214, 215, 222, 231, 322, 366, 386
 — индукторы, активирующие функции Т-субклассов (T_H , T_S , $ЭТ_{ГЗТ}$) 120, 165, 189, 190, 215—223, 325, 386
 — контрсупрессоры ($T_{КС}$) и их индукторы 215, 232, 277—282, 384
 — пролиферирующие Т-клетки 52—73, 120, 140—153, 249, 250, 258, 270, 313, 328, 363
 — супрессоры 12, 14, 17, 34, 64, 68—74, 134, 145, 146, 155, 174, 176, 187—190, 193, 198, 214—219, 222—282, 314—317, 321—325, 328, 340—342, 356—359, 382, 384, 388
 — хелперы Т-В (T_{H1} , T_{H2}) 3, 17, 34, 52, 57, 63—65, 68, 69, 86, 94, 114, 115, 119, 120, 148, 153, 156, 158, 167—174, 202, 215, 222, 224, 233—239, 258, 262, 264, 267, 269, 270, 273, 274, 278, 307, 314—317, 325, 330, 340—342, 359, 363, 366, 373, 386
 — эффекторы ГЗТ 52, 64, 115, 117, 120, 174, 215, 217, 221, 231, 236, 237, 246, 258, 260—264, 268, 270, 273, 274, 313, 316—318, 341, 386
 Сульфгидрильные агенты (дитиотреитол, 2-меркаптоэтанол) 179, 272, 275, 283
 Сцепленное распознавание 133—136
 Тимоциты 76—132, 375—378
 — кортикальные 34, 77, 78, 83, 88, 90, 93, 94—111, 146
 — медуллярные 35, 36, 77, 79, 94—97, 101—111, 127
 Тимэктомия 117, 224, 225, 229, 264
 Толерантность к аллотрансплантату 125, 145, 190, 224—229, 281
 Трансплантат 4—8, 49, 121, 198, 225, 235
 Трансфекция (генов, экзонов) 31, 49—51, 307, 342, 343

Туникамицин (ингибитор синтеза углеводов) 32, 179, 288, 369
 Углеводы 23, 32, 38, 42, 49, 98, 236, 248, 284
 Фактор (медиатор)
 — активации макрофагов (MAF) 165—167, 197, 226
 — активации тимоцитов эпидермального происхождения (ETAf) 211
 — дифференцировки В-лимфоцитов (BCDF, BMF, TRF) 168—172, 179, 219, 313, 326
 — дифференцировки цитотоксических Т-лимфоцитов (CTDF, TCF, KAF) 159, 173, 181—183, 189, 195, 284
 — ингибирования миграции макрофагов (MIF) 215, 221, 248, 276, 328
 — индукторов контрсупрессоров (T_{CSiF}) 281
 — индукторов супрессоров (T_{SiF}) 188
 — натуральных киллеров (ЦФНК) 303, 304
 — роста В-лимфоцитов (BCGF, BRF) 170—172, 174, 179, 210
 — связывающий иммуноглобулин (IBF) 230, 231
 — способствующий экспрессии Ia-молекулы на макрофагах (MIRF) (165—167, 173, 197)
 — стимуляции роста колоний гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF) 165—168, 173, 179, 188, 222
 — супрессорный
 — — T_{SF} 71—73, 188, 192, 252, 253, 257, 259—282, 310, 315
 — — SIRS, SISS (активированные лектином Кон А) 188, 275, 276
 — — PITC (активированный PGE_2) 275
 — Т-киллеров (перфорин) 303
 — усиливающий функцию Т-хелперов (T_{aF}) 219—221
 — хелперный 34, 316, 326
 Фенотип 49, 83, 85, 88, 92, 102, 105, 110, 111, 125, 134, 146—157, 169, 189, 191, 216, 218, 221, 228, 230, 242, 243, 306, 376
 Ферменты, ответственные за жизне-способность и функции тимоцитов и Т-субклассов
 — аденозинтрифосфатаза 295
 — аденозиндезаминаза (АДА) 108
 — аденилатциклаза 275
 — аминопептидаза 340
 — арилсульфатаза 302
 — гидроксистерондегидрогеназа ($20\alpha SDH$) 92
 — каталаза 187, 275
 — кислая фосфатаза 295

— лактопероксидаза 38
— металтрансфераза 299
— нейраминидаза 237, 274
— 5-нуклеотидаза 108
— пероксидаза 204, 209, 275
— проназа/протеаза 193, 271, 287
— пуриннуклеозидфосфорилаза 108, 347
— терминальная дезокси-нуклеотидил-трансфераза (TdT) 76, 80, 83—85, 88, 90, 105, 108
— фосфодиэстераза 186
— фосфолипаза 287, 299
— эндонуклеаза 298
— эстераза 204, 205, 209, 216
Форболовый эфир (РМА) — стимулятор пролиферации Т-субклассов, продукции ими факторов, передачи внутриклеточных сигналов 90, 163, 165—168, 172, 175, 178—181, 186, 189, 216, 237, 381
Хромосомы 6, 11, 31, 32, 41, 49, 50, 62, 64, 103, 104, 220—223, 371—374
— Y-хромосома 195
Хроматография жидкостная высокопродуктивная (для очистки интерлейкинов) 181, 183
Химеры радиационные 46, 109, 114—124, 309

Цианоген-бромид — агент, расщепляющий белок на определенные пептиды 203
Циклический аденозинмонофосфат (сАМР) 91, 187, 275, 278, 287, 290, 297
— гуанозинмонофосфат (сGMP) 91
Циклофосфамид (ингибитор пролиферации клеток и дифференцировки Т-супрессоров) 69, 129, 145, 157, 189, 192, 193, 209, 216, 221, 225, 231, 236, 238, 241, 243, 244, 259, 261, 263, 264
Циклоспорин А (ингибитор синтеза ИЛ-2) 145, 185, 189, 190, 223, 241
Экзоны генов 10, 30, 31, 50, 51
Элюция клеток с монослоя 247, 253, 318—324
Эритроциты барана 57, 81, 149, 197, 210, 216, 217, 271—273, 279, 281
Эстрадиол (ингибитор функции FcR+ Т-супрессоров) 231
Этиленгликольтетраацетат (ЭГТА) 287—291
Этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) 287—289, 319, 320

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
--------------------	---

I

ГЛАВА

ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ И УЧАСТИЕ ЕГО ПРОДУКТОВ В РАСПОЗНАВАНИИ АНТИГЕНОВ

I.1. Основные свойства продуктов МНС и их биологическая роль	5
I.1.1. Особенности кодируемых МНС аллоантигенов	5
I.1.2. Природные функции продуктов МНС: обеспечение индивидуальности, иммунореактивности и сохранения вида	8
I.2. Структура МНС и функции его районов и субрайонов	11
I.2.1. Рекомбинантные линии мышей как инструмент исследования	11
I.2.2. Районы и локусы МНС, молекулы трех классов и их основные функции	14
I.3. Антигенная и химическая структура серологически определяемых продуктов МНС	18
I.3.1. Биологические, серологические свойства и неоднородность белков H-2K/D/L	18
I.3.1.1. Функциональная активность очищенных молекул H-2K/D/L	18
I.3.1.2. Серологически определяемые детерминанты продуктов МНС класса I — молекул H-2K/D/L	19
I.3.2. Структура молекул и генов класса I комплекса H-2	22
I.3.2.1. Аминокислотная последовательность и доменная организация молекул	22
I.3.2.2. Гомология	25
I.3.2.3. Антигенные детерминанты	28
I.3.2.4. Гены и биосинтез молекул класса I	29
I.3.3. Ia-молекулы — продукты МНС класса II	33
I.3.3.1. Клеточное распределение Ia-белков и динамичность их мембранной экспрессии	33
I.3.3.2. Различия структуры, свойств, экспрессии и ассоциации на плазматической мембране α - и β -цепей Ia-молекулы	37
I.3.3.3. Химический и серологический полиморфизм Ia-белков	41
I.3.3.4. Разнообразие комбинаторных детерминант Ia-молекулы	43
I.3.3.5. Источники разнообразия антигенных детерминант Ia-молекулы	47
I.3.3.6. Гены, кодирующие Ia-белки	49
I.4. Роль МНС в иммунологическом распознавании и регуляции иммунного ответа	52
I.4.1. Гены иммунореактивности (Ig-гены)	52
I.4.1.1. Основные свойства и избирательность функции Ig-генов	52
I.4.1.2. Ограниченный участок («иммунодоминантный эпитоп») гетеробелка, распознаваемый Т-лимфоцитами в зависимости от Ig-генов	55
I.4.1.3. Связь функций Ig-генов с возникновением при их комплементации множества комбинаторных Ia-детерминант	57
I.4.1.4. Использование мутантной молекулы I-A и моноклональных анти-I-A антител для изучения связи комбинаторных детерминант с функцией Ig-генов	59
I.4.1.5. Определяющая роль экспрессии Ia-белка на А-клетках (КПА) в реализации функции Ig-генов	64

IV.2.4.4.	Интеракционная рестрикция СТС и необходимость их близкого размораасположения с реагирующими Т-лимфоцитами для реализации супрессорного эффекта	249
IV.2.5.	Клетки-посредники, гуморальные медиаторы, механизмы и регуляция супрессии	258
IV.2.5.1.	Необходимость межклеточной кооперации для развития супрессии	258
IV.2.5.2.	Клеточные компоненты супрессии, этапы и механизмы их взаимодействия	260
IV.2.5.3.	Идиотипы Т-супрессоров при регуляции обратной связи в ходе иммунного ответа	268
IV.2.5.4.	Молекулярная структура медиаторов взаимодействующих компонентов СТС	270
IV.2.5.5.	Неспецифические TsF и механизмы супрессорных эффектов	274
IV.2.5.6.	Регуляция супрессорной функции	277
IV.3.	Цитотоксические Т-лимфоциты	282
IV.3.1.	Фазы и особенности активации пЦТЛ антигеном	282
IV.3.2.	Этапы и механизмы взаимодействия ЦТЛ с КМ	286
IV.3.3.	Запуск, закономерности и возможные механизмы цитолитического процесса, вызванного ЦТЛ	295
IV.3.4.	Разнообразие киллеров и неоднородность механизмов цитолиза	299
IV.3.5.	Протективный эффект ЦТЛ при вирусных инфекциях	305

V

ГЛАВА

АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ Т-ЛИМФОЦИТОВ

V.1.	Т-рецептор, иммуноглобулины и идиотипы	309
V.1.1.	Трудности и артефакты при сравнительном исследовании Т-рецептора и иммуноглобулина	309
V.1.2.	Отличия Т-рецепторов от Ig и его фрагментов	311
V.1.3.	Особенности идиотипов Т-лимфоцитов и их субклассов	313
V.2.	Идентификация антигенсвязывающих рецепторов Т-лимфоцитов и разнообразие условий выявления рецепторов Т-субклассов	318
V.2.1.	Выявление рецепторов аллоиммунных Т-субклассов адсорбцией — элюцией на монослое КМ	318
V.2.2.	Условия связывания с антигеном рецепторов Т-субклассов, иммунных к гетеробелкам и гаптенам	324
V.2.3.	Принципы и закономерности связывания рецепторов Т-клеток с антигеном	326
V.3.	Иммунологическая специфичность рецепторов Т-лимфоцитов хелперной и супрессорной групп	328
V.3.1.	Неидентичность В- и Т-эпитопов: детерминант, связывающих антитела и распознаваемых рецепторами Т-лимфоцитов	328
V.3.2.	Принципы организации и тонкая структура эпитопов белковых молекул, распознаваемых рецепторами Т-клеток Ly1	331
V.3.3.	Тримолекулярное взаимодействие при иммунологическом распознавании	335
V.3.4.	Различия детерминант белковых молекул, распознаваемых Т-хелперами и Т-супрессорами	340
V.4.	Иммунологическая специфичность рецепторов ЦТЛ	342
V.4.1.	Несовпадение СО- и ЦТЛ-детерминант в молекуле МНС класса I	342
V.4.2.	Анализ перекрестной реактивности (ПР) ЦТЛ и их клонов, специфичных к молекуле H-2 или ее мутантным вариантам	346
V.4.3.	Изучение тонкой специфичности рецепторов ЦТЛ методом адсорбции—элюции на монослоях клеток-мишеней	350
V.4.4.	Неидентичность ЦТЛ, пЦТЛ-2 ⁰ и СТС в отношении тонкой специфичности их рецепторов	355
V.4.5.	Природа ассоциации антигена с молекулой МНС класса I	359
V.4.6.	Тройная специфичность рецепторов Т-лимфоцитов	362

V.5. Молекулярная структура предполагаемых Т-рецепторов	364
V.5.1. Выделение и характеристика молекул и их субъединиц с помощью МкАТ к клонотипспецифическим Т-рецепторам	364
V.5.2. Структура перестроенных генов потенциальных Т-рецепторов .	371
V.5.3. Связь особенностей генов Т-рецепторов с дифференцировкой Т-лимфоцитов и биологическими свойствами их субклассов . .	375
V.5.4. Структурная и функциональная ассоциация Т-рецептора с молекулой ТЗ . . :	379
V.5.5. Динамичность экспрессии Т-рецептора на мембране и формирования его активного центра	382
Заключение	384
Литература	391
Предметный указатель	460

4 py 8.