

УДК 616—006+612.014

М. Е. БАСМАДЖЯН, Ю. Т. АЛЕКСАНЫАН, Н. П. МЕСРОПЯН, Н. Г. БАЛАБАДЖЯН

ИЗУЧЕНИЕ ИЗОАНТИГЕНОВ МЫШИНЫХ НОРМАЛЬНЫХ
И ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЕЙ И КУЛЬТИВИРУЕМЫХ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

В работе проведено изучение изоантигенов клеток селезенки мышей линии СЗНА, гепатомы XXIIa и длительно культивируемых клеток этой гепатомы. У мышей линии BALB/c, C57BL, СЗН и А были получены изоиммунные сыворотки и иммунные лимфоциты к клеткам селезенки мышей линии СЗНА, гепатомы XXIIa и клеткам линии МГХХIIa. С помощью комплекса иммунологических методов было показано наличие изоантигенов в клетках селезенки мышей линии СЗНА и сохранение этих изоантигенов в клетках мышинной гепатомы XXIIa и в длительно культивируемых клетках этой гепатомы (в клетках линии МГХХIIa).

За последнее время большое значение придается изучению антигенов культивируемых клеток, которые рассматриваются как фенотипические маркеры клеток [1, 5]. Использование антигенов как маркеров культивируемых клеток может открыть определенные возможности при разработке вопросов генетики соматических клеток—гибридизации соматических клеток в культуре [6, 8] и т. д. В литературе имеются сведения об изучении изоантигенов в культивируемых соматических клетках человека и млекопитающих [4 и др.], однако следует отметить противоречивость этих данных и недостаточную разработанность вопроса. Данные по изучению изоантигенов мышинных клеток в культуре вообще единичны [11].

Задачей настоящей работы явилось изучение изоантигенов нормальных тканей мышей линии СЗНА, гепатомы XXIIa и длительно культивируемых клеток этой гепатомы.

Методика опытов

В качестве объектов для изучения изоантигенов были использованы ткани селезенки мышей линии СЗНА, гепатомы XXIIa и культивируемые клетки линии МГХХIIa, полученной из этой гепатомы [2]. Для получения изоиммунных сывороток и лимфоцитов иммунизированных животных в качестве реципиентных мышей были использованы мыши линий BALB/c, C57BL, СЗН и А. Мышей иммунизировали клетками селезенки донорской линии СЗНА в дозе 60 млн клеток, гепатомы XXIIa и линии МГХХIIa в дозе 10 млн клеток. Мышам линий BALB/c и C57BL

иммунизирующий материал вводили шестикратно с недельным интервалом между инъекциями (антиген при каждой инъекции вводился в 4 точки). Мышам линий СЗН и А та же доза вводилась однократно в 6 точек. Клетки линии МГХХIIа выращивали в матрасах Ру на питательной среде следующего состава: среда 199—50%; 0,5%-ный раствор гидролизата лактальбумина—30%; сыворотка крупного рогатого скота—20%. Для получения изоиммунных сывороток и лимфоцитов мышей забивали на 6-й день после последней инъекции антигенов. Лимфоциты выделяли из паховых, шейных, подчелюстных и подмышечных лимфоузлов. Для обнаружения изоантител изоиммунные сыворотки были использованы в реакции прямой гемагглютинации с эритроцитами мышей линии СЗНА. Гемолизинпродуцирующие клетки к эритроцитам СЗНА выявляли с помощью модифицированного метода бляшкообразования по Каннингхему [7]. Цитопатогенное действие иммунных лимфоцитов на культивируемые клетки линии МГХХIIа изучали с помощью описанной в литературе методики [3, 10]. Культивирование клеток проводили в пенициллиновых флаконах с заложенными в них покровными стёклами (засев 100000 клеток в 2 мл питательной среды). Через сутки после засева клеток иммунные или нормальные лимфоциты добавляли во флаконы с культурами (по 10 млн лимфоцитов на флакон). Результаты опытов учитывали спустя 48 часов после добавления лимфоцитов. Выводили цитотоксический индекс, подсчитывая среднее количество живых клеток в четырех опытных и контрольных пробирках. Цитотоксический индекс оценивали как положительный, если он превышал 0,15 [9]. Индекс выводили по формуле $\frac{a-b}{a}$, где a —количество живых клеток в контроле, b —количество живых клеток в опыте.

Результаты опытов

Результаты взаимодействия изоиммунных сывороток против нормальных и опухолевых клеток мышей линии СЗНА с эритроцитами тех же мышей в реакции прямой гемагглютинации представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты реакции гемагглютинации изоиммунных сывороток мышей с эритроцитами мышей линии СЗНА

Сыворотки иммунизи- рованных и ин- тактных мышей	Материал для иммунизации			Контроль
	клетки селезенки мышей линии СЗНА	клетки гепато- мы ХХIIа	клетки культуры МГХХIIа	
	максимальный титр агглютинации			
BALB/c	1: 256	1: 256	1: 128	1: 2
C57BL	1: 128	1: 128	1: 64	1: 2
СЗН	1: 16	1: 16	1: 8	0
А	1: 32	1: 32	1: 32	0

Примечание. 0 — отсутствие реакции.

Как видно из табл. 1, максимальный титр (1:256) изогемагглютининов наблюдается при иммунизации мышей линии BALB/c клетками селезенки мышей линии СЗНА и гепатомы XXIIa. Иммунный ответ у мышей BALB/c на культивируемые клетки гепатомы также выражен достаточно четко (титр агглютининов—1:128). Мыши линии С57BL также ответили выраженной изоиммунной реакцией на введение нормальных и опухолевых клеток аллогенных мышей СЗНА. В то же время иммунный ответ мышей линий СЗН и А на аллогенные клетки мышей линии СЗНА был значительно слабее (титр изогемагглютининов от 1:8 до 1:32). Сыворотки интактных мышей BALB/c, С57BL, СЗН и А агглютинировали эритроциты мышей СЗНА в титре 1:2, или отмечалась отрицательная реакция.

Результаты изучения гемолизинпродуцирующих клеток у аллогенных мышей линий BALB/c, С57BL, СЗН и А, иммунизированных нормальными и опухолевыми клетками мышей линии СЗНА, представлены в табл. 2. Интактные селезеночные клетки аллогенных мышей образо-

Таблица 2

Результаты изучения изоиммунного ответа у аллогенных мышей с регистрацией эффекта по методу Каннингхама

Селезеночные клетки иммуни- зированных и интактных мышей	№ опытов	Материал для иммунизации			Контроль
		клетки селезен- ки мышей ли- нии СЗНА	клетки гепато- мы XXIIa	клетки культу- ры МГХХIIa	
		количество бляшек ($M \pm m$)			
C57BL	1	1202 $\pm$ 31,6	1012 $\pm$ 63,2	885,5 $\pm$ 18,9	221,4 $\pm$ 94,8
BALB/c	2	1486 $\pm$ 94,7	885,5 $\pm$ 126,5	1012 $\pm$ 126,5	253 $\pm$ 31,6
СЗН	3	664,1 $\pm$ 126,5	727,2 $\pm$ 126,5	632,5 $\pm$ 189,7	284,6 $\pm$ 63,2
	4	885,5 $\pm$ 126,5	948,7 $\pm$ 253	917,1 $\pm$ 95,1	189,7 $\pm$ 63,2
	5	632,5 $\pm$ 126,5	1138,3 $\pm$ 221	1012 $\pm$ 63,2	187,2 $\pm$ 63,2
	6	790,6 $\pm$ 126,5	885,3 $\pm$ 284,7	948,7 $\pm$ 253	189,7 $\pm$ 63,2
А	7	1201,7 $\pm$ 126,5	1232 $\pm$ 94,8	1012 $\pm$ 158,1	221,3 $\pm$ 94,8
	8	853,7 $\pm$ 126,5	1328,2 $\pm$ 253	1043,6 $\pm$ 63,2	126,2 $\pm$ 31,6

Примечание. Количество бляшек пересчитано на 1 млн. селезеночных клеток. Данные опыта статистически достоверно отличаются от контроля.

вывали с эритроцитами мышей линии СЗНА единичные бляшки гемолиза. Иногда наблюдалось отсутствие бляшек. При использовании селезеночных клеток мышей линий BALB/c, С57BL, СЗН и А, иммунизированных нормальными и опухолевыми клетками мышей линии СЗНА, в реакции с эритроцитами мышей СЗНА отмечалось выраженное бляшкообразование.

При использовании эритроцитов мышей линии СЗНА в реакции прямой гемагглютинации и реакции бляшкообразования по Каннингхаму с целью обнаружения изогемагглютининов и гемолизинпродуцирующих клеток мы исходили из того, что изоантигены представлены как в

тканях, так и в эритроцитах. Поэтому положительные результаты реакций гемагглютинации и бляшкообразования свидетельствуют о наличии изоантигенов в клетках селезенки мышей СЗНА и сохранении их в клетках гепатомы XXIIa и в длительно культивируемых клетках этой гепатомы.

Результаты количественного изучения цитопатогенного действия лимфоцитов аллогенных мышей, иммунизированных нормальными и опухолевыми клетками мышей линии СЗНА, на культивируемые клетки гепатомы XXIIa представлены в табл. 3, откуда видно, что, лимфоци-

Таблица 3

Результаты изучения цитопатогенного действия иммунных аллогенных лимфоцитов на культивируемые клетки гепатомы XXIIa

Лимфоциты иммунизированных и интактных мышей	№ опытов	Данные цитотоксического индекса в опытах по сравнению с контролем	
		клетки селезенки мышей линии СЗНА	клетки гепатомы XXIIa
BALB/c	1	0,57	0,59
C57BL	2	0,44	0,40
	3	0,43	0,27
СЗН	4	0,43	0,41
	5	0,41	0,33
	6	0,56	0,54
А	7	0,60	0,53
	8	0,46	0,49

ты мышей линий BALB/c, C57BL, СЗН и А, иммунизированных клетками селезенки мышей линии СЗНА и мышинной гепатомы XXIIa, проявляли во всех опытах выраженное цитотоксическое действие на культивируемые клетки гепатомы XXIIa, использованные в качестве клеток-мишеней (цитотоксический индекс превышал 0,15). Приведенные данные свидетельствуют не только о наличии изоантигенов в клетках селезенки мышей линии СЗНА и гепатомы XXIIa, но и о сохранении их при длительном культивировании клеток гепатомы XXIIa.

Изучали также прививаемость клеток гепатомы XXIIa и культивируемых клеток линии МГХХIIa аллогенным мышам линий BALB/c, C57BL, СЗН и А. При прививке клеток гепатомы и культивируемых клеток мышам линий BALB/c и C57BL образовывались узелки величиной с горошину, которые впоследствии у всех мышей рассасывались. В то же время при прививке опухолевых клеток гепатомы XXIIa и культуры этой гепатомы мышам линий СЗН и А вырастали опухоли, приводящие животных к гибели в 100% случаев. Из приведенных данных следует, что, хотя изоантигенное отличие нормальных и опухолевых клеток мышей линии СЗНА от мышей линий BALB/c, C57BL, СЗН и А четко обнаруживается, мыши линий BALB/c и C57BL в антигенном отношении значительно дальше отстоят от мышей линии СЗНА, чем мыши линий

СЗН и А, и поэтому у мышей СЗН и А (в отличие от мышей BALB/c и C57BL) при прививке опухолевых клеток барьеры гистосовместимости преодолеваются.

На основании проведенных экспериментов можно сделать заключение о том, что с помощью комплекса иммунологических методов в клетках селезенки мышей линии СЗНА и мышинной гепатомы XXIIa обнаруживаются изоантигены, сохраняющиеся при длительном культивировании клеток этой гепатомы.

Лаборатория молекулярной иммунологии
Института экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступила 12/1 1973 г.

Մ. Ե. ԲԱՍՄԱԶՅԱՆ, Յ. Թ. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Ն. Պ. ՄԵՍՐՈՊՅԱՆ, Ն. Գ. ԲԱԼԱՐԱԶՅԱՆ

ՄԿՆԵՐԻ ՆՈՐՄԱԼ ԵՎ ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ՈՒ ԿՈՒՆՏԻՎԱՑՎՈՂ ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ԲԶԻԶՆԵՐԻ ԻԶՈԱՆՏԻԳԵՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա Մ Փ Ն Փ Ո Ւ Մ

Կատարվել է СЗНА գծային մկների փայծաղային բջիջների, XXIIa հեպատոմայի և այդ հեպատոմայի երկարատև կուլտիվացվող բջիջների իզոանտիգենների ուսումնասիրություն: BALB/c, C57BL, СЗН և А գծային մկների մոտ СЗНА գծային մկների փայծաղային բջիջների, XXIIa հեպատոմայի ու МГХХIIa գծի բջիջների հանդեպ ստացվել են իզոմոն շիճուկներ և իմուն լիմֆոցիտներ: Տարբեր իմունոլոգիական մեթոդների օգնությամբ ցույց է տրվել իզոանտիգենների առկայությունը СЗНА գծային մկների փայծաղային բջիջներում և այդ իզոանտիգենների պահպանումը XXIIa մկան հեպատոմայի բջիջներում ինչպես նաև այդ հեպատոմայի երկարատև կուլտիվացվող բջիջներում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексанян Ю. Т. Биологич. журнал Армении, 1968, 11, стр. 92.
2. Алексанян Ю. Т., Басмаджян М. Е., Мовсисян К. С. Бюл. exper. биол., 1972, 5, стр. 94.
3. Брондз Б. Д. Вopr. онкологии, 1964, 3, стр. 9.
4. Тимофеев В. Т., Трибулев Г. П., Подоплелов И. И., Алексанян Ю. Т. Бюл. exper. биол., 1967, 7, стр. 80.
5. Трибулев Г. П., Подоплелов И. И. В сб.: Матер. конфер. по exper. мед. генетике. М., 1964, стр. 38.
6. Barski G., Sorleul S. a. Cornefert Fr. C. R. Acad. Sci., 251, 17, 1825, 1960.
7. Canningham A. J. J. Exptl. Med., 124, 70, 1966.
8. Ephrussi B., Weiss M. Proc. Nat. Acad. Sci., 53, 5, 1040, 1965.
9. Hellstrom J., Hellstrom K. Nature, 204, 4959, 661, 1964.
10. Rosenau N., Moon H. D. J. Natl. Cancer Inst., 27, 1961.
11. Klein E., Klein G. In: Biological problems of grafting simp Lige, 1380, 1959.