

Изучение антигенных свойств криоконсервированных ЭНК человека в ССК с аллогенными лимфоцитами доноров

Н.И. ЛИСЯНЫЙ, И.А. ГНЕДКОВА

Институт нейрохирургии имени акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г. Киев

Study of Antigen Properties of Cryopreserved Human ENC's in MCC with Allogenic Donor Lymphocytes

N.I. LISYANYI, I.A. GNEDKOVA

A.P. Romodanov Institute of Neurosurgery of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

Актуальным является выявление антигенных структур на эмбриональных нервных клетках (ЭНК), которые используют для трансплантации при травматических и дегенеративных заболеваниях головного мозга. Известно, что нейральные стволовые клетки (НСК) в норме не экспрессируют антигены системы HLA, однако уже при культивировании с ростовыми факторами на мембранах НСК экспрессируются антигены системы HLA. Явление бластообразования лимфоцитов в смешанной культуре клеток (ССК) позволяет оценить экспрессию антигенов HLA на тестируемых ЭНК. В качестве отвечающих клеток были использованы лимфоциты периферической крови доноров. Пролиферативный ответ в ССК аллогенных лимфоцитов колебался в значительном диапазоне от 40 до 75%. При внесении ЭНК в качестве антигенпрезентирующих пролиферативный ответ лимфоцитов был достоверно ниже, чем в ССК лимфоцитов, и составлял $25,0 \pm 7,1\%$, что отражает наличие антигенов HLA на мембранах ЭНК при контакте с периферическими лимфоцитами. Иммунорегуляторное действие ЭНК на периферические лимфоциты изучали в ССК с ФГА-стимулированными лимфоцитами доноров в соотношении 1:1. Была отмечена тенденция усиления пролиферативного ответа на митоген, особенно если в контрольных пробах ответ лимфоцитов на ФГА был невысоким. Так, при значении пролиферативного ответа лимфоцитов, стимулированных ФГА 30% при добавлении ЭНК в соотношении 1:1, последний увеличивался до 71%. В однонаправленной культуре лимфоцитов после обработки ЭНК митомицином С и стимуляции отвечающих лимфоцитов ФГА был отмечен незначительный ко-стимулирующий эффект. Гликоконъюгаты мембран ЭНК во многом определяют их иммунорегуляторные свойства. В связи с этим были изучены иммунорегуляторные свойства ЭНК, разделенных на лектинах сои (SBA) или лектине арахиса (PNA), сорбированных на пластике. Добавление к стимулированным периферическим лимфоцитам ЭНК, не прилипших к пластику, незначительно влияло на пролиферативный ответ стимулированных ФГА лимфоцитов ($70,4 \pm 3,1\%$) по сравнению с контролем без сорбции на пластике ($75,5 \pm 5,1\%$). Суспензия ЭНК, не прилипшая к лектину SBA, достоверно снижала пролиферативный ответ лимфоцитов доноров до $21,0 \pm 8,1\%$ по сравнению с контролем $75,5 \pm 5,1\%$. При добавлении ЭНК не прилипших к лектину арахиса (PNA) был также отмечен менее выраженный супрессорный эффект.

The revealing of antigen structures on embryonic neural cells (ENCs), used for transplantation in traumatic and degenerative brain diseases, is actual. Neural stem cells (NSCs) are known as normally not expressing antigens of HLA system, but even during culturing with growth factors the antigens of HLA system are expressed on NSCs membranes. Phenomenon of lymphocyte blast-formation in a mixed cell culture (MCC) enables to estimate the expression of HLA antigens on the tested ENC's. Lymphocytes of donor peripheral blood were used as responding cells. Proliferative response in MCC of allogenic lymphocytes changed within a significant range from 40 to 75%. When introducing ENC's as antigen-presenting, a proliferative response of lymphocytes was statistically and significantly lower, than in lymphocyte MCC and was $25.0 \pm 7.1\%$, that reflected the presence of HLA antigen presence on ENC's membranes when contacting with peripheral lymphocytes. The ENC's immune regulatory effect on peripheral lymphocytes were studied in MCC with PGA-stimulated donor's lymphocytes in 1:1 ratio. The tendency of strengthening of proliferative response to mitogen, especially if the lymphocyte response to PGA was not high in the control samples. So, at 30% value of proliferative response of PGA-stimulated lymphocytes, when adding ENC's in 1:1 ratio the latter increased up to 71%. In one-way lymphocyte culture after ENC's treatment with mitomycin C and PGA stimulation of responding lymphocytes, a slight co-stimulating effect was noted. The ENC's membrane glycoconjugates mostly determine their immune regulatory properties. Due to this fact we have studied the immune regulatory properties of ENC's, divided either on soybean lectins (SBA) or peanut one (PNA), sorbed on plastic. The adding into stimulated peripheral lymphocytes of ENC's, not-adhered to plastic, slightly affected a proliferative response of stimulated PGA of lymphocytes ($70.4 \pm 3.1\%$), compared to the control with no sorption on plastic ($75.5 \pm 5.1\%$). ENC's suspension, not-adhered to SBA lectin, statistically and significantly reduced a proliferative response of donor's lymphocytes down to $21.0 \pm 8.1\%$ compared to the control ($75.5 \pm 5.1\%$). When adding ENC's, not-adhered to PNA lectin there was also observed a less manifested suppressive effect.

Basing on the results obtained, we may assume that the HLA antigens are expressed on ENC's. Lectin treatment of ENC's results in a change in their antigenicity, as well as enables to isolate ENC's with immune-suppressive properties.