

8. Goodrick C. L. Body weight increment and length of life: the effect of genetic constitution and dietary protein // J. Gerontol.—1978.—33.—P. 184—190.
9. Goodrick C. L., Ingram D. K., Reynolds M. A. et al. Differential effects of intermittent feeding and voluntary exercise on body weight and life span in adult rats // J. Gerontol.—1983.—38.—P. 36—45.
10. Gross A. J., Clark V. A. Survival distributions, reliability applications in the biomedical science.—New York: Wiley, 1975.—P. 226—239.
11. Lester G. T., Deutsch S., Markofsky J. Ageing in the rat: longitudinal and cross-sectional studies of body composition // Amer. J. Physiol.—1973.—22.—P. 1472—1478.
12. Leto S., Kokkonen G., Barrows C. Dietary proteins, life spans biochemical variables in female mice // J. Gerontol.—1976.—31.—P. 144—148.
13. Maeda H., Gleiser C. A., Masoro E. J. et al. Nutritional influences on aging of Fischer—344 rats. II. Pathology // Ibid.—1985.—40.—P. 671—688.
14. Masoro E., Yu B. P., Bertrand H. A. Action of food restriction in delaying the aging process // Proc. Natl Acad. Sci. USA.—1982.—79.—P. 4239—4241.
15. McCay C. M., Crowell M. F., Maynard L. A. Effect of retarded growth upon length of life span and upon ultimate body size // J. Nutr.—1935.—10.—P. 657—670.
16. Nakagawa I., Masana Y. Effect of protein nutrition on growth and life span in the rat // Ibid.—1971.—101.—P. 613—620.
17. Nolen G. A. Effect of various restricted dietary regimens on growth, health and longevity in albino rats // Ibid.—1972.—102.—P. 1477—1493.
18. Ross M., Brass G. Influence of protein under- and over-nutrition on spontaneous tumor prevalence in the rat // Ibid.—1973.—103.—P. 944—963.
19. Sacher G. A. Life table modification and life prolongation // Handbook of biology of aging / Ed. by C. Finch, L. Hayflick.—New York: Van Nostrand Reinhold, 1977.—P. 615—620.
20. Stuchlikova E., Juricova-Horakova M., Deyl Z. New aspects of the dietary effects of life prolongation in rodents. What is the role of obesity in aging? // Exp. Gerontol.—1975.—10.—P. 141—144.
21. Weindruch R., Walford R. L., Fligiel S., Guthrie D. The retardation of ageing in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake // J. Nutr.—1986.—116.—P. 641—654.
22. Yu B. P., Masoro E. J., Murata H. A. et al. Lifespan study of SPF Fischer-344 male rats fed ad libitum or restricted diets: longevity, growth, lean body mass and disease // J. Gerontol.—1982.—37.—P. 130—141.
23. Yu B. P., Masoro E. J., McMahan C. A. Nutritional influences on aging of Fischer-344 rats. I. Physical, metabolic and longevity characteristics // Ibid.—1985.—40.—P. 657—670.

Ин-т физиологии Чехословац. АН,
Прага

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

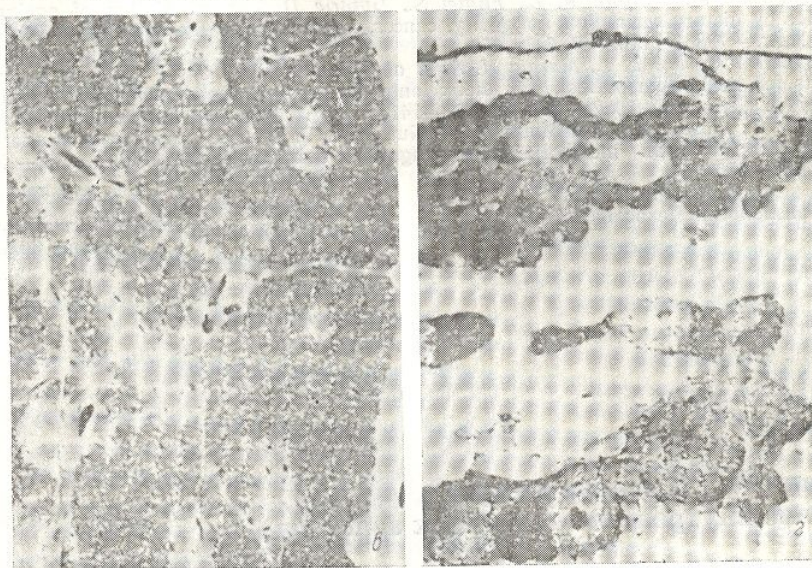
УДК 612.67—017.1:612.438

К. Хирокава

Механизм инволюции тимуса (анализ внутренних и внешних аспектов)

Тимус играет важную роль в пролиферации и дифференцировке Т-клеток и поэтому является незаменимым органом для развития и поддержания системы иммунитета в онтогенезе. Несмотря на столь существенное значение тимуса, его инволюция начинается примерно в пубертатный период, а способность тимуса обеспечивать зрелыми Т-клетками периферические лимфоидные органы достигает максимума в неонатальный период и резко снижается в дальнейшем. Такое раннее начало морфологической и функциональной инволюции тимуса обуславливает возрастное снижение функций иммунной системы [1, 7], которое у мышей может быть ускорено тимэктомией, произведенной в возрасте четырех недель [4], и замедлено множественной последовательной пересадкой тимуса новорожденных доноров [4, 6]. Эти наблюдения послужили для нас стимулом к началу исследований по анализу механизма инволюции тимуса. С одной стороны, при исследовании мно-

© К. ХИРОКАВА, 1990.



а — тимус 4-недельной мыши-самца линии C57BL/6 с хорошо выраженным делением на корковое и мозговое вещества; б — атрофический тимус 26-месячной мыши-самца линии C57BL/6 с плохо различимыми корковым и мозговым веществами; в — тимус 2-летнего мальчика с хорошо развитой корой и рассеянными бledными участками мозгового вещества; г — тимус 28-летнего мужчины с выраженной жировой инфильтрацией и дезинтегрированной тканью тимуса.

На рисунке представлены результаты, свидетельствующие о различии гистологической структуры тимуса у мышей (а, б) и людей (в, г). Максимальная масса тимуса у мышей наблюдается, примерно, в возрасте 4 нед. В этот период ясно различаются кора (темная периферическая зона) и мозговое вещество (бледная центральная зона). Масса старого атрофического тимуса мышей 26-месячного возраста

Гораздо сложнее получить нормальную массу тимуса chez новорожденных животных. Уже в раннем возрасте появляются начальные признаки инфильтрации, обнаруживаются признаки инволюции тимуса. Жировая инфильтрация лимфоидной ткани жировой ткани является признаком атрофии тимуса. В возрасте 20 лет по сравнению с новорожденными инволюция тимуса, в основном, характеризуется уменьшением количества лимфоцитов.

Число про-Т-клеток в рении может быть объяснено в костном мозгу. Су- они связаны с использо- C57BL/6; Thy-1,2 и B10; Т- экции в тимусе клеток кост- зовании этого метода не об- Т-клеток костного мозга у- тод связан с использованием вводи-ли клетки костного- облученным молодым жив- пуляции тимуса и селезенки

Орган

Тимус
Селезенка

Примечание. Клетки мышей линии С57BL/6 (Т-мышам линии В10(Ты-донорского типа в тимусе

Как свидетельствуют костного мозга старых мюшкетеров и селезенки, обусловленной к [5]. Однако эти различия уменьшением числа лимфоцитов. Если возрастное снижение определенное значение в решающей роли.

«Физиол. журн., 1990, т. 36,

уменьшена примерно десятикратно. Кора и мозговое вещество слабо различимы. Значительное уменьшение массы тимуса обусловлено возрастным снижением числа клеток (примерно, в 50 раз).

Гораздо сложнее получить информацию о тимусе человека. Максимальной массы тимус человека достигает в ранний период детства, но начальные признаки инволюции тимуса, такие, как жировая инфильтрация, обнаруживаются в биоптатах тимуса у детей до 5-летнего возраста. Жировая инфильтрация и постепенное замещение тимической лимфоидной ткани жировой — являются наиболее характерными признаками атрофии тимуса человека. Этот феномен хорошо выражен в возрасте 20 лет по сравнению с тимусом новорожденных. При этом инволюция тимуса, в основном, обусловлена снижением числа лимфоцитов.

Предшественники тимоцитов (про-Т-клетки) костного мозга мигрируют в тимус, интенсивно пролиферируют в тимическом микроокружении и дают начало большому числу тимических лимфоцитов. В связи с указанной последовательностью превращений, возрастное снижение числа тимоцитов может быть обусловлено следующими четырьмя причинами: снижением числа про-Т-клеток в костном мозгу, снижением эмиграции про-Т-клеток в тимус, снижением пролиферации тимоцитов, ослаблением действия экстра тимических факторов, способствующих пролиферации тимоцитов. Все эти возможные причины были нами исследованы.

Число про-Т-клеток в костном мозгу. Инволюция тимуса при старении может быть объяснена возрастным снижением числа про-Т-клеток в костном мозгу. Существует два метода оценки их числа. Оба они связаны с использованием Thy-1 конгенных мышей (линии C57BL/6; Thy-1,2 и B10; Thy-1,1). Один из методов заключается в инъекции в тимус клеток костного мозга. Katsura и соавт. [6] при использовании этого метода не обнаружили достоверных различий числа про-Т-клеток костного мозга у взрослых и старых мышей. Другой метод связан с использованием радиационных химер костного мозга. Мы вводили клетки костного мозга молодых и старых интактных мышей облученным молодым животным и сравнивали их способность к репопуляции тимуса и селезенки.

Таблица 1. Способность клеток костного мозга репопулировать клетки тимуса и селезенки радиационных химер (число клеток донорского типа, $\times 10^7$)

Орган	Направление введения донорских клеток	
	Молодые $\rightarrow$ молодые	Старые $\rightarrow$ молодые
Тимус	19,80	14,30
Селезенка	2,82	1,71

Примечание. Клетки костного мозга ($5 \cdot 10^7$) молодых или старых мышей линии C57BL/6 (Thy-1,2) вводили летально облученным молодым мышам линии B10 (Thy-1,1) и спустя 56 сут определяли число Т-клеток донорского типа в тимусе и селезенке.

Как свидетельствуют представленные в табл. 1 результаты, клетки костного мозга старых мышей менее эффективны в репопуляции клеток тимуса и селезенки, обеспечивали (соответственно) 72 и 60 % репопуляции, обусловленной клетками костного мозга молодых животных [5]. Однако эти различия довольно малы по сравнению с 50-кратным уменьшением числа лимфоцитов в тимусе при старении. Следовательно, если возрастное снижение числа про-Т-клеток костного мозга и имеет определенное значение в возрастной инволюции тимуса, оно не играет решающей роли.

Эмиграция про-Т-клеток в тимус. Следующей возможной причиной, объясняющей инволюцию тимуса, могло бы быть снижение способности про-Т-клеток попадать в тимус, хотя в костном мозгу на протяжении всей жизни их содержится достаточно много. Известно, что внутривенное введение клеток костного мозга мышам, облученным летальными дозами радиации, способно вызвать быструю репопуляцию клеток тимуса [2]. Далее мы исследовали, в какой мере введенные таким же способом клетки костного мозга способны вызвать репопуляцию клеток тимуса интактных мышей. Клетки костного мозга ($2 \cdot 10^7$) мышей линии B10 (Thy-1,1) были введены интактным мышам линии C57BL/6 (Thy-1,2) различного возраста (от новорожденных до 24-месячных). Как показано в табл. 2, репопуляция тимуса донорскими лимфоцитами костного мозга очень низка у интактных животных. При введении клеток костного мозга новорожденным мышам в тимусе было обнаружено значительное число донорских лимфоцитов ($42 \cdot 10^5$), составившее около 2,5 % общего числа лимфоцитов тимуса. У новорожденных мышей репопуляция клеток максимальна, а далее, по мере увеличения возраста реципиента, она снижается, составляя у 12-месячных животных менее 10 % репопуляции клеток у новорожденных. Эти результаты показывают, что эмиграция про-Т-клеток в тимус у взрослых мышей происходит нечасто и находится на низком уровне даже у новорожденных животных, хотя вышеприведенный метод позволяет выявить снижение с возрастом скорости эмиграции.

Таблица 2. Репопуляция лимфоцитов донорского типа в тимусе интактных мышей разного возраста при внутривенном введении клеток костного мозга

Показатель репопуляции	Возраст животных					
	1 сут	1 мес	3 мес	12 мес	18 мес	24 мес
Относительное число репопулирующих клеток, %	$2,5 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,3$	$2,1 \pm 1,9$	$0,6 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,4$
Абсолютное число репопулирующих клеток, $\times 10^5$	41,5	6,1	5,1	3,8	1,2	2,9

Хорошо известно, что в субкапсулярном слое коры тимуса взрослого животного происходит интенсивная пролиферация лимфоцитов. Возникает вопрос, какие клетки дают начало этим интенсивно пролиферирующим лимфоцитам тимуса, если про-Т-клетки костного мозга не являются главным источником этих пролиферирующих лимфоцитов.

Пролиферация тимических лимфоцитов в тимусе. Во-первых. Мерой пролиферации тимических лимфоцитов *in situ* может быть число лимфоцитов донорского типа в тимусе после прямой инъекции в тимус клеток костного мозга, экспрессирующих другой Thy-1-фенотип. Оцененная таким способом пролиферация тимических лимфоцитов максимальна у новорожденных мышей и, в дальнейшем, с возрастом понижается. После интратимической инъекции клеток костного мозга новорожденным мышам пролиферация донорских лимфоцитов в тимусе достигала максимума в 4-недельном возрасте, когда они составляли 20 % всех тимических лимфоцитов, и постепенно снижалась в дальнейшем [3]. В то же время, важно подчеркнуть, что фокальная (точечная) пролиферация лимфоцитов донорского типа наблюдается в тимусе даже спустя 1 г. после инъекции, охватывая около 3 % всех тимических лимфоцитов [5]. Поскольку в костном мозгу этих мышей нет про-Т-клеток донорского типа, то такие долгоживущие тимоциты донорского типа могут происходить из клеток костного мозга, инъецированных в период новорожденности. Отсюда можно предположить, что про-Т-клетки костного мозга дают начало интратимическим стволовым клеткам, которые реплицируются и дают начало большому чис-

лу тимических лимфоцитов. Словами, большинство интимусе взрослых животных тимических стволовых клеток начало из про-Т-клеток, эм. Большинство же интратим. Т-клеток, мигрирующих в

Во-вторых. Пролиферация в тимусе может быть опр. клеток. Последние могут помощью моноклональных менту ДНК-полимеразе, се в табл. 3, доля делящихся в период новорожденности возрасте и сохраняется на. Так как большинство про тимических стволовых кле клеток в тимусе отражает ловых клеток давать нач ленное число клеток кост инъецируется в тимус ст. пролиферация донорских. микроокружения даже с про-Т-клеток и интратими

Таблица 3. Относительное количество пролиферирующих клеток тимуса разного возраста

Показатель пролиферации
Общее число клеток, $\times 10^7$
Доля Th-10 ⁺ -клеток, %

Все эти результаты, тимическая инволюция и пролиферативных способ ний миграцией про-Т отражают внутренние асп смотрим ее внешние аспе дующим образом.

Тимическая инволюция как у самцов, так и у сам у молодых мышей, но и у уровень половых гормонов крыс, которые были пре.

Тимус крыс линии В свой рост по мере старе ческой лимфоидной ткан полости позволяет тимус изменений в системе им плазия тимуса не отмеча мированы в 4-недельном

Оба эти феномена — спонтанная тимическая г гормонов или факторов, предполагают, что тим половой зрелости, контр таламо-гипофизарной оси

причиной, способно-протяже-го внутри-и леталь-но клеток таким же-но клеток ышей ли-С57BL/6-есячных). фцитами ении кле-наружено-ее около-ышей ре-возраста-ых менее-показы-шей про-рожденных-снижение

ых мышей

24 мес

1,2±0,4

2,9

а взрос-

роцитов.

о проли-

о мозга

роцитов.

и. Мерой

ло лим-

в тимус

п. Оче-

ов мак-

зрасом

о мозга

тимусе

тавляли

в даль-

ная (то-

ается в

% всех

мышей

моциты

инъекци-

ложить,

им ство-

му чис-

лу тимических лимфоцитов довольно продолжительное время. Иными словами, большинство интенсивно пролиферирующих лимфоцитов в тимусе взрослых животных происходит, преимущественно, из интра-тимических стволовых клеток, и только небольшая их часть берет свое начало из про-Т-клеток, эмигрирующих в тимус во взрослом состоянии. Большинство же интратимических стволовых клеток происходит из про-Т-клеток, мигрирующих в тимус перед рождением.

Во-вторых. Пролиферативная способность тимических лимфоцитов в тимусе может быть определена числом или долей (%) делящихся клеток. Последние могут быть иммуногистологически определены с помощью моноклональных антител Th-10, которые специфичны к ферменту ДНК-полимеразе, связанному с репликацией ДНК. Как показано в табл. 3, доля делящихся клеток в тимусе составляет, примерно, 50 % в период новорожденности, резко снижается до 25 % в 4-недельном возрасте и сохраняется на уровне 17—18 % в возрасте 1 г. и старше. Так как большинство пролиферирующих клеток происходит из интратимических стволовых клеток, то возрастное снижение доли делящихся клеток в тимусе отражает снижение способности интратимических стволовых клеток давать начало тимическим лимфоцитам. Когда определенное число клеток костного мозга, содержащее про-Т-клетки, прямо инъецируется в тимус старых мышей, в нем отмечается интенсивная пролиферация донорских лимфоцитов. Это указывает на способность микроокружения даже старого тимуса поддерживать пролиферацию про-Т-клеток и интратимических стволовых клеток.

Таблица 3. Относительное число делящихся клеток (Th-10⁺) в тимусе мышей разного возраста

Показатель пролиферации	Возраст животных			
	2 сут	4 нед	1 г.	2 г.
Общее число клеток, ×10 ⁷	1,49	19,4	8,13	2,55
Доля Th-10 ⁺ -клеток, %	51,6±2,2	27,4±2,5	15,7±3,0	17,5±2,0

Все эти результаты, в целом, свидетельствуют в пользу того, что тимическая инволюция может быть частично объяснена снижением пролиферативных способностей тимических стволовых клеток и ограничений миграцией про-Т-клеток во взрослый тимус. Все эти феномены отражают внутренние аспекты тимической инволюции. Далее мы рассмотрим ее внешние аспекты, которые могут быть представлены следующим образом.

Тимическая инволюция не является необратимой. Гонадэктомия, как у самцов, так и у самок, приводит к гипертрофии тимуса не только у молодых мышей, но и у старых (20-месячных), имеющих уже низкий уровень половых гормонов. Подобный эффект не наблюдался у тех крыс, которые были предварительно гипофизэктомированы [8].

Тимус крыс линии Buffalo rats не инволюционирует, а продолжает свой рост по мере старения, приводя к гиперплазии Т-звена периферической лимфоидной ткани. Поэтому до тех пор, пока место в грудной полости позволяет тимусу расти, не наблюдается никаких возрастных изменений в системе иммунитета у крыс данной линии. Однако гиперплазия тимуса не отмечается у тех крыс, которые были гипофизэктомированы в 4-недельном возрасте.

Оба эти феномена — тимическая гиперплазия при гонадэктомии и спонтанная тимическая гиперплазия у крыс — находятся под контролем гормонов или факторов, секретируемых гипоталамусом и гипофизом, и предполагают, что тимическая инволюция, начинающаяся в возрасте половой зрелости, контролируется также внешними факторами гипоталамо-гипофизарной оси.

Тимическая инволюция обусловлена частично внутренними факторами, частично внешними по отношению к тимусу. Манипулирование внутренними факторами довольно трудная задача (имеется в виду усиление пролиферативных способностей интратимических стволовых клеток и повышение способности про-Т-клеток костного мозга эмигрировать в тимус).

Значительно более легкий путь — восстановление инволюционирующего тимуса с помощью манипулирования внешними факторами. Он является более перспективным, поскольку дает возможность предотвратить возрастное снижение функций системы иммунитета или восстановить нарушенные иммунные функции у стариков. Поэтому мы должны больше знать о том, как функции системы иммунитета контролируются нейроэндокринной системой.

K. Hirokawa

MECHANISM OF THYMIC INVOLUTION — ANALYSIS OF INTRINSIC AND EXTRINSIC ASPECTS

The mechanisms of thymic involution with age are analyzed in terms of both intrinsic and extrinsic aspects. The intrinsic factors include: decrease in the number of thymocyte-precursors (pro-T cells) in the bone marrow, in emigration of pro-T cells into the thymus, in proliferation of thymic lymphocytes and decrease in extrathymic factors promoting proliferation of thymic lymphocytes. The extrinsic factors capable to exert modulating effects on the thymic function are humoral factors of the hypothalamic-pituitary origin. It seems much easier to manipulate the extrinsic factors by controlling neuro-endocrine stimulation, and to restore the thymic involution. This is quite encouraging, because it permits restoring the impaired immune functions of the aged people.

Department of Pathology, Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hirokawa K. Autoimmunity and aging // Concepts Immunopathology. — Basel: Karger, 1985. — Vol. 1. — P. 251—288.
2. Hirokawa K., Sado T., Kubo S. et al. Intrathymic T cell differentiation in radiation bone marrow chimeras and its emigration to the spleen. An immunohistochemical study // J. Immunol. — 1985. — 134, N 6. — P. 3615—3624.
3. Hirokawa K., Utsuyama M., Katsura Y., Sado T. Influence of age on the proliferation and peripheralization of thymic T cells // Arch. Pathol. Lab. Med. — 1988. — 112, N 1. — P. 13—21.
4. Hirokawa K., Utsuyama M. Combined grafting of bone marrow and thymus, and sequential multiple thymus graftings in various strains of mice. The effect on immune functions and life span // Mech. Ageing Dev. — 1989. — 49, N 1. — P. 49—60.
5. Hirokawa K. Role of the thymus in aging of the immune system // Biomedical Advances in Aging. Ed. A. Goldstein. Plenum Press. — 1989.
6. Katsura Y., Kina T., Amagai T. et al. Limiting dilution analysis of the stem cells for T cell lineage // J. Immunol. — 1986. — 137, N 8. — P. 2434—2439.
7. Makinodan T., Kay M. M. B. Age influence on the immune system // Adv. Immunol. — 1980. — 29. — P. 287—330.
8. Utsuyama M., Hirokawa K. Hypertrophy in the thymus and restoration of immune function in mice and rats by gonadectomy // Mech. Ageing Dev. — 1989. — 47, N 3. — P. 175—186.

Ин-т геронтологии, Токио

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

Г. М. Бутенко, А. И. Харази, И. П.

Влияние возраста реципиента на эффект трансплантата новорожденных доноров

Известно, что при создании состоящих из элементов ра признали, характерные для доминирования наблюдаются [5]. Нами показано, что о генеза. Так, в гетерохронности [1], соединительная т и яичники [4] молодого па характерные для старого ж влияние молодого организм вообще нет. Создается впечатлением источник сильных и свое действие на широкий н

С этой точки зрения на как источника супрессорных или пересадок различных о новское облучение. Показано, что старому партнеру по парцее влияние на молодой ор лимфоидных органов неоди вообще способны ревертирс аженной старой селезенка [3]. Пожалуй, в наибольш при пересадке старого тим рабатывают какие-то пода в системе in vitro [10]. 3 проявления этой супрессо наших исследований, в тирасту, близкому к 20 мес [8]

Цель нашей работы — взаимодействия с организм особенностей взаимодействия риферических органов, для модель одновременной пер капсулу почки.

Методика

Мыши линии СВА получены из происходило в условиях питомн тимус (одну долю) из организм под капсулу почки реципиентам после операции, производили гис лезенки, а также определяли чис мых антителообразующих клеток Эрне и Нордина.

Результаты

Гистологическое исследование показало их регенерацию, в

© Г. М. БУТЕНКО, А. И. ХАРАЗИ,

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5