

ЗАВИСНОСТ ПЕРИФЕРНЕ ФАЗЕ САЗРЕВАЊА В ЛИМФОЦИТА ОД ПОСТОЈАЊА Т ЛИМФОЦИТА

Новица М. МИЛИЋЕВИЋ

Институт за хистологију и ембриологију „Александар Ђ. Костић”,
Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Доскора се сматрало да централна и периферна фаза сазревања В лимфоцита не зависе од тимуса и Т лимфоцита. Користећи пацове који немају функционални тимус (тзв. *nude* пацови) као експериментални модел, показано је да правилно одвијање периферне фазе сазревања В лимфоцита зависи од постојања Т лимфоцита. У периферној крви и лимфним чворовима ових животиња запажа се повећање броја незрелих субпопулација ($CD90^{снажно}IgM^{снажно}$ и $CD90^{снажно}IgM^{слабо}$) и смањење броја зрелих субпопулација ($CD90-IgM^{слабо}$ и $CD90-IgM^{снажно}$) В лимфоцита. Овакав налаз указује на постојање блока у периферној фази сазревања В лимфоцита код тзв. *nude* животиња. Уз то, површинска експресија функционално значајних молекула МНС класе II, ICAM-1, CD44 и L-селектина је значајно снижена на незрелим и зрелим субпопулацијама В лимфоцита *nude* пацова. Имплантација ткива тимуса под капсулу бубрега отклања овај блок у сазревању В лимфоцита, а коригује и поремећену експресију површинских молекула. Одговарајући ефекти постижу се и адоптивним преношењем Т лимфоцита. Све ово показује да је сазревање В лимфоцита *nude* пацова поремећено услед постојања Т лимфоцита, као и да су Т лимфоцити неопходни за правилно одвијање периферне фазе овог процеса и адекватну експресију површинских молекула. Ове налазе треба имати у виду приликом лечења болесника с Т лимфоцитним дефицијенцијама.

Кључне речи: сазревање В лимфоцита; интеракције В и Т лимфоцита; површински молекули В лимфоцита

УВОД

Добро је познато да костна срж представља место у којем се код сисара одвија централна фаза сазревања В лимфоцита, током које они пролазе кроз неколико добро дефинисаних ступњева развоја, после чега прелазе у циркулацију [1]. Међутим, током неколико последњих година показано је да после ове централне фазе сазревања В лимфоцити пролазе и кроз додатну, периферну фазу сазревања, која се одвија у слезини, када се одиграва коначно обликовање В ћелијског репертоара, с уклањањем аутореактивних клонова [2, 3]. Уколико се слезина хируршки одстрани из организма, долази до трајног селективног повећања броја В лимфоцита у периферној крви [4, 5]. Током ове периферне фазе сазревања В лимфоцити такође пролазе кроз неколико ступњева развоја. У периферном имуном систему пацова се, применом *Thy-1* гликопротеина ($CD90$) и имуноглобулина М (IgM) као показатеља, може извршити фина фенотипска карактеризација ћелија укључених у ову фазу сазревања и могу се дефинисати ступњеви развоја [6, 7]. Наиме, могу се јасно разликовати две субпопулације незрелих В лимфоцита ($CD90^{снажно}$) и две субпопулације зрелих В лимфоцита ($CD90^{-}$): незрели, створени у костној сржи, тзв. новоформиранни (НФ; енгл. *newly formed* – *NF*) В лимфоцити ($CD90^{снажно}IgM^{снажно}$) улазе у циркулацију и мигрирају у слезину, где се развијају у другу незrelu субпопулацију, ране рециркулишуће фоликуларне (РРФ; енгл. *early recirculating follicular* – *ERF*) В лимфоците ($CD90^{снажно}IgM^{слабо}$). РРФ В лимфоцити могу да се коначно диференцирају у зреле рециркулишуће фоликуларне (РФ; енгл. *recirculating follicular*

– *RF*) В лимфоците ($CD90-IgM^{слабо}$). Другу зrelu субпопулацију представљају ћелије са фенотипом В лимфоцита маргиналне зоне (МЗ; енгл. *marginal zone phenotype* – *MZ*) слезине, које су $CD90-IgM^{слабо}$, за које се сматра да се могу развити од РРФ и РФ В лимфоцита и представљају крајњи степен развоја [7], а могу се наћи и у циркулацији, као и у другим лимфатичним органима [8]. Одговарајући ступњеви развоја описани су и код мишева [9].

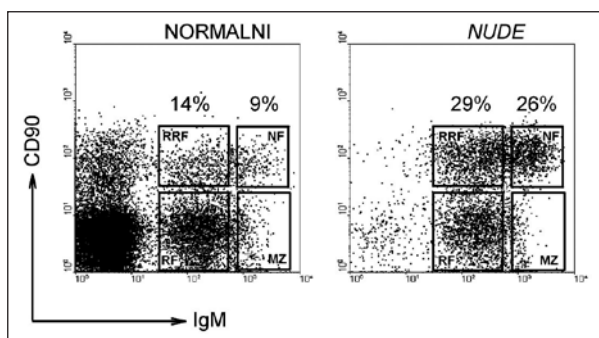
ТЗВ. NUDE ЖИВОТИЊЕ КАО МОДЕЛ ЗА ПРОУЧАВАЊЕ САЗРЕВАЊА В ЛИМФОЦИТА

Уопште узевши, сматра се да сазревање В лимфоцита не зависи од тимуса и Т лимфоцита, пре свега зато што се код одраслих тимектомисаних и животиња с недостатком $\alpha\beta$ -Т ћелијских рецептора (ТЋР), као и код *nude* животиња, у периферној крви може забележити нормалан број В лимфоцита [10, 11]. Код *nude* мишева и пацова дешава се мутација једног транскрипционог фактора (*winged helix nude* – *Whn*), који је неопходан за диференцијацију епителних ћелија тимуса и адекватну кератинизацију длаке [12]. Услед ове мутације, *nude* животиње немају длаку, као ни функционалан тимус. Резултат овог последњег оштећења је готово потпуни изостанак Т лимфоцита у периферном имуном систему ових животиња [13]. Почетна испитивања су показала да су неке функционалне одлике В лимфоцита *nude* животиња нормалне [14, 15]. Стога су ове животиње биле широко коришћене као идеалан модел за испитивање функције В лимфоцита [11, 16]. Међутим, неки резултати који су говорили у

супротног смислу углавном су игнорисани [17, 18], а недавно је показано да је централна фаза сазревања *B* лимфоцита у костној сржи поремећена код *nude* мишева [19]. Ови налази су указали на могућност поремећаја и у периферној фази сазревања *B* лимфоцита *nude* животиња. У испитивањима изведеним код нас су стога искоришћене могућности које овај сој животиња пружа, како би се детаљно испитала улога *T* лимфоцита и тимуса у овом процесу.

ПОВЕЋАНА ЗАСТУПЉЕНОСТ НЕЗРЕЛИХ В ЛИМФОЦИТА У ПЕРИФЕРНОЈ КРВИ И ЛИМФНИМ ЧВОРОВИМА NUDE ПАЦОВА

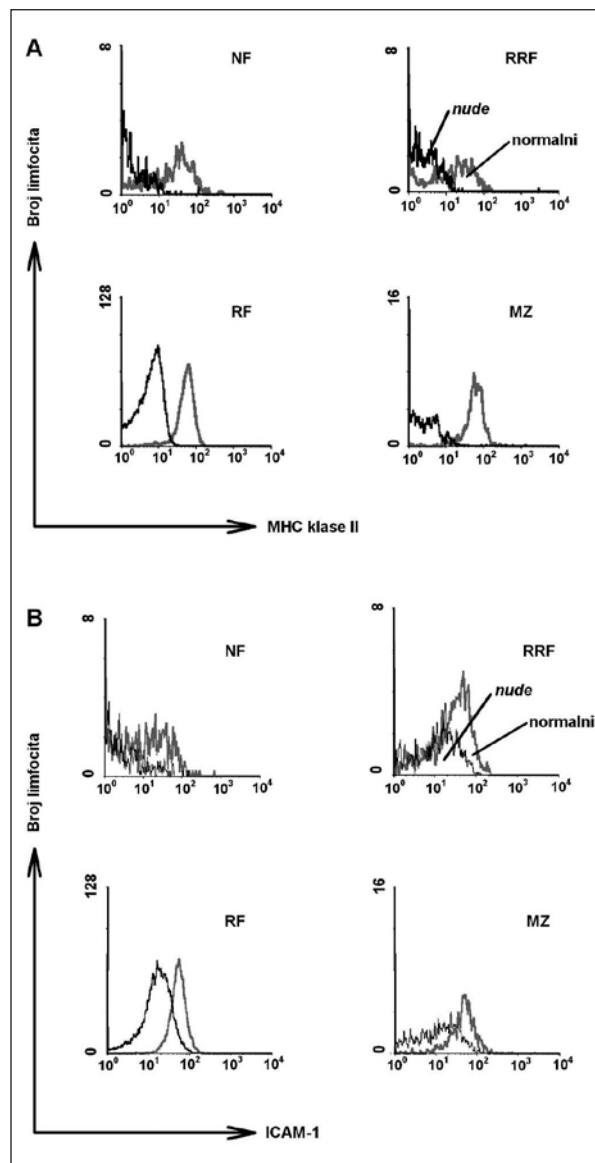
Број лимфоцита у периферној крви *nude* пацова је значајно мањи него код нормалних животиња, што је последица готово потпуног изостанка *T* лимфоцита. Насупрот овоме, број *B* лимфоцита је једнак оном код нормалних пацова [20]. Уколико се анализирају субпопулације *B* лимфоцита периферне крви, уочава се, међутим, да код *nude* пацова постоји блок у периферној фази сазревања *B* лимфоцита. Наиме, у крви ових животиња преовлађују незрели *CD90⁺* *B* лимфоцити (НФ и РРФ), који чине 55% *B* лимфоцита крви, док зрели *B* лимфоцити (РФ и МЗ) представљају само 45% *B* лимфоцита крви. Ово је у супротности с налазом код нормалних пацова, код којих незреле субпопулације чине 23%, а зреле 77% *B* лимфоцита крви (Графикон 1). Апсолутни број НФ и РРФ је заиста значајно повећан, док је број РФ и МЗ *B* лимфоцита значајно мањи код *nude* пацова него код нормалних животиња [20]. Сличан налаз добија се и уколико се анализира субпопулација *B* лимфоцита лимфних чворова, када се запажа повећан број незрелих, а смањен број зрелих облика код *nude* пацова [20].



ГРАФИКОН 1. Поремећене пропорције субпопулација *B* лимфоцита крви *nude* пацова. Процент незрелих НФ (*CD90^{снажно}IgM^{снажно}*) и РРФ (*CD90^{снажно}IgM^{слабо}*) *B* лимфоцита је повећан, док је проценат зрелих РФ (*CD90-IgM^{слабо}*) и МЗ (*CD90-IgM^{снажно}*) *B* лимфоцита смањен код *nude* пацова у поређењу с нормалним пацовима. Свака субпопулација је уоквирена, а за ове анализе коришћена је проточна цитофлуориметрија. Прерађено према [20].

GRAPH 1. The proportions of *B* lymphocyte subsets are disturbed in the blood of nude rats. The percentages of immature NF (*CD90^{high}IgM^{high}*) and ERF (*CD90^{high}IgM^{low}*) *B* lymphocytes are increased, whereas those of mature RF (*CD90-IgM^{low}*), and MZ phenotype (*CD90-IgM^{high}*) *B* lymphocytes are decreased in nude rats, compared with normal rats. Each subset is framed, flow cytometry was used to perform the analysis. Modified from [20].

Овакав поремећај у пропорцијама субпопулација *B* лимфоцита код *nude* пацова указује на блок у периферној фази њиховог сазревања, на прелазу између незрелих и зрелих облика *B* лимфоцита. Сличан застој запажа се и код животиња с оштећеним сигналним путем рецептора *V* ћелија [9] или им недостаје ланац непроменљивих молекула (*Ii*) [21], као и код мишева којима недостају непроменљиви ланац и ДМ молекули [22]. Код свих ових животиња такође је повећана заступљеност незрелих *B* лимфоцита, док је одељак зрелих *B* лимфоцита значајно смањен.



ГРАФИКОН 2. Смањење експресије *MHC* класе II и *ICAM-1* на свим субпопулацијама *B* лимфоцита крви *nude* пацова. А – Репрезентативни хистограм експресије *MHC* класе II. В – Репрезентативни хистограм експресије *ICAM-1* на НФ (*CD90^{снажно}IgM^{снажно}*), ЕРФ (*CD90^{снажно}IgM^{слабо}*), РФ (*CD90-IgM^{слабо}*) и МЗ фенотип (*CD90-IgM^{снажно}*) *B* лимфоцитима крви нормалних (сива линија) и *nude* (црна линија) животиња. Прерађено према [20].

GRAPH 2. Decreased expression of *MHC* class II and *ICAM-1* on all blood *B* cell subsets of nude rats. А – Representative histograms of the *MHC* class II expression. В – Representative histograms of the *ICAM-1* expression on NF (*CD90^{high}IgM^{high}*), ERF (*CD90^{high}IgM^{low}*), RF (*CD90-IgM^{low}*), and MZ phenotype (*CD90-IgM^{high}*) blood *B* lymphocytes in normal (grey line) and nude (black line) animals. Modified from [20].

СМАЊЕНА ЕКСПРЕСИЈА ПОВРШИНСКИХ МОЛЕКУЛА НА В ЛИМФОЦИТИМА NUDE ПАЦОВА

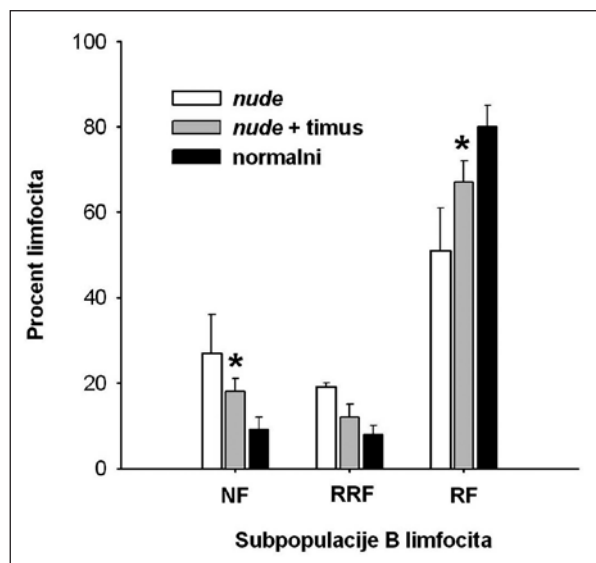
Претпоставили смо да је поремећај, односно блок у периферној фази сазревања В лимфоцита *nude* пацова могао бити праћен и другим поремећајима. Испитивањем већег броја функционално важних површинских молекула, који су укључени у приказивање антигена, ћелијске интеракције и миграцију В лимфоцита, уочава се значајно слабија експресија МНС класе II (главни комплекс ткивне хистокompatibilности класе II), ICAM-1 (међућелијски адхезиони молекул 1), CD44 и L-селектина на В лимфоцитима периферне крви и лимфних чворова *nude* пацова у поређењу с нормалним животињама.

Уочава се значајно смањење експресије МНС класе II на свим субпопулацијама В лимфоцита крви (Графикон 2А). Истоветни резултати добијају се за оба хеплотипа (RT1B и RT1D) молекула МНС класе II. Слично овоме, значајно смањење експресије ICAM-1 запажа се на свим субпопулацијама В лимфоцита периферне крви *nude* пацова (Графикон 2В). Веома занимљиво је смањење експресије L-селектина на РРФ, РФ и МЗ В лимфоцитима *nude* пацова [20]: за разлику од ових субпопулација, НФ В лимфоцити и код нормалних пацова показују веома слабу експресију L-селектина [6, 7, 9], па се сматра да је то механизам којим се ова најнезрелија субпопулација В лимфоцита, по изласку из костне сржи, усмерава ка слезини [23]. За разлику од лимфних чворова, L-селектин није потребан за улазак лимфоцита у слезину, што овој незрелој субпопулацији омогућава насељавање у овом органу [23]. Снижење површинске експресије CD44 се такође запажа, али је значајно само на зрелим РФ и МЗ В лимфоцитима [20]. Одговарајући резултати добијају се анализом експресије В лимфоцита лимфних чворова *nude* пацова [20].

Насупрот горенаведеним молекулима, површинска експресија α_4 -интегрина, МНС класе I, α ланца интерлеукина 2, као и LFA-1, није смањена код *nude* пацова у поређењу с нормалним животињама [20].

УЛОГА ТИМУСА И Т ЛИМФОЦИТА У ПЕРИФЕРНОЈ ФАЗИ САЗРЕВАЊА В ЛИМФОЦИТА

С обзиром на то да *nude* животиње немају функционални тимус, што доводи до потпуног изостанка Т лимфоцита из њиховог имуног система, могло се претпоставити да би то представљало узрок поремећаја и блокаде периферне фазе сазревања В лимфоцита, које је запажено код ових животиња. Да би се проверила ова хипотеза, најпре је извршена имплантација тимусних графтова нормалних пацова под капсулу бубрега *nude* животиња. Имплантација тимусних графтова је кориговала број Т лимфоцита у крви *nude*



ГРАФИКОН 3. Процентни НФ, РРФ и РФ В лимфоцита крви *nude* пацова, *nude* пацова којима је имплантирано ткиво тимуса и нормалних пацова. Имплантација тимуса отклања неравнотежу између незрелих и зрелих В лимфоцита крви *nude* пацова. Звездом је означена статистички значајна разлика између нормалних и имплантираних *nude* животиња ($p < 0,05$). Прерађено према [20].

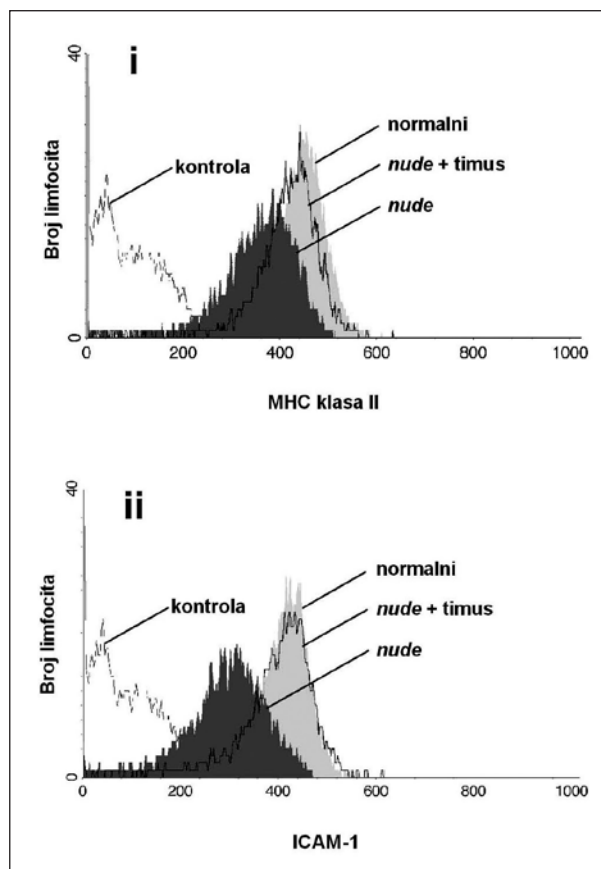
GRAPH 3. The percentages of NF, RRF, and RF B lymphocytes in the blood of nude, nude thymus-grafted and normal rats. The imbalance between immature and mature B lymphocytes in the blood of nude rats is alleviated by thymus engraftment. Asterisk indicates a significant difference between normal and nude thymus-grafted rats ($p < 0.05$). Modified from [20].

de пацова ($6 \pm 3\%$ пре имплантације, $25 \pm 7\%$ после имплантације, $40 \pm 8\%$ на контроли). Установљено је да тимусни графтови снажно коригују периферну фазу сазревања В лимфоцита *nude* пацова. Ово се огледало у смањењу броја незрелих НФ и РРФ В лимфоцита и истовременим повећањем броја зрелих РФ и МЗ В лимфоцита (Графикон 3). Сличне промене у односу незрелих и зрелих субпопулација В лимфоцита запажене су и у лимфним чворовима *nude* пацова после имплантације тимусних графтова нормалних пацова под капсулу бубрега ових животиња.

Међутим, имплантација тимусних графтова *nude* пацовима не само да отклања блок у периферној фази сазревања В лимфоцита и коригује однос незрелих и зрелих субпопулација ових ћелија у периферном имуном систему, већ доводи и до корекције поремећене експресије површинских молекула на субпопулацијама В лимфоцита периферне крви ових животиња. Долази до повећања површинске експресије МНС класе II на свим субпопулацијама В лимфоцита (Графикон 4i), као и до повећања експресије ICAM-1 на РРФ, РФ и МЗ В лимфоцитима периферне крви (Графикон 4ii), а одговарајуће промене запажају се и на В лимфоцитима лимфних чворова.

Узимајући у обзир то да тимус ствара већи број активних супстанци које се ослобађају у циркулацију [24], остало је нејасно да ли су запажене промене резултат постојања имплантираног тимусног ткива *per se* или су последица јављања Т лимфоцита у имуном

ЗАКЉУЧАК



ГРАФИКОН 4. Имплантација тимуса коригује смањену експресију *MHC* класе II и *ICAM-1* на РФ *B* лимфоцитима крви *nude* пацова. Репрезентативни хистограми површинске експресије *MHC* класе II (i) и *ICAM-1* (ii) на РФ *B* лимфоцитима (*CD90-IgM^{слабо}*) крви *nude* (тамно сиво), *nude* пацова којима је имплантирано ткиво тимуса (прозирно) и нормалних пацова (светлосиво). Контрола представља интензитет позадинског пребојавања код изостанка примарног антитела. За ове анализе коришћена је проточна цитофлуориметрија. Прерађено према [20].

GRAPH 4. Thymus implantation normalizes the decreased expression of *MHC* class II and *ICAM-1* on recirculating follicular (RF) *B* lymphocytes in the blood of nude rats. Representative histograms of the *MHC* class II (i), and *ICAM-1* (ii) expression on RF *B* lymphocytes (*CD90-IgM^{low}*) in the blood of normal (light grey), nude (dark grey), and nude thymus-grafted (transparent) animals are demonstrated. Control is the background staining of lymphocytes in the absence of primary antibody. Flow cytometry was used to perform the analysis. Modified from [20].

систему *nude* пацова. Да би се разјаснило ово питање, вршена је реконституција *nude* пацова конгеним *T* лимфоцитима. На тај начин успостављан је нормалан број *T* лимфоцита у њиховом имуну систему, а избегнуто је само ткиво тимуса. У овим експериментима коришћени су нормални *LEW* пацови (*RT7^b*) као даваоци *T* лимфоцита, а *nude* пацови (*RT7^a*) као примаоци; ови сојеви су конгени за *RT7* алоантигенску детерминанту, па овај модел омогућава накнадно разликовање донорских *RT7.2* од домаћинских *RT7.1* лимфоцита [25]. Установљено је да успешна реконституција доводи до снажно израженог повећања површинске експресије *MHC* класе II на *B* лимфоцитима крви *nude* пацова до нивоа који се бележи код нормалних животиња [20].

Истраживања обављена код нас су показала да се *nude* животиње могу успешно користити као експериментални модел за проучавање улоге тимуса и *T* лимфоцита у периферној фази сазревања *B* лимфоцита. Показано је да је код *nude* пацова периферна фаза сазревања поремећена, да застој у сазревању настаје на прелазу између незрих и зрих облика *B* лимфоцита, да је експресија групе површинских молекула *B* лимфоцита снижена, да су поремећај периферне фазе сазревања *B* лимфоцита и поремећена експресија површинских молекула подложни корекцији тимусним графтовима, те да је ова амелиорација последица директног дејства *T* лимфоцита, а није изазвана дејством строме тимуса. На основу ових налаза може се закључити да периферна фаза сазревања *B* лимфоцита зависи од постојања *T* лимфоцита. Највероватније је да су, као и у другим имуним реакцијама, за правилно одвијање овог процеса потребни како директни контакти *T* и *B* лимфоцита путем површинских молекула, тако и паракрино дејство цитокина које стварају *T* лимфоцити. Налази показују и да је, упркос њиховом нормалном броју, популација *B* лимфоцита *nude* пацова поремећена, тј. да је однос зрих и незрих субпопулација поремећен, као и експресија функционално веома важних површинских молекула. Све наведено се мора узети у обзир код примене *nude* животиња као експерименталног модела, а посебно приликом разматрања резултата ранијих радова у којима су ове животиње коришћене за испитивање *B* лимфоцитних функција.

ЗАХВАЛНИЦА

Резултати приказани у овом раду добијени су у сарадњи са колегама Јиргеном Вестерманом (*Jürgen Westermann*) из Либекa, Ханс-Јиргеном Хедрихом (*Hans-Jürgen Hedrich*) из Хановера, Клаусом Норуђијем (*Klaus Nohroudi*) из Келна и Живаном Милићевић из Београда. Истраживања су део пројекта *We 1175/4-3*, који је финансирао Немачко истраживачко друштво (*Deutsche Forschungsgemeinschaft*), и Пројекта бр. 1472, који је финансирао Министарство за науку и заштиту животне средине Републике Србије. Рад је омогућен и захваљујући потпори Фондације „Александар фон Хумболт” (*Alexander von Humboldt-Stiftung*) из Бона у виду стипендије Новици М. Милићевићу.

ЛИТЕРАТУРА

- Hardy RR, Hayakawa K. B cell development pathways. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:595-621.
- Cancro MP. Peripheral B-cell maturation: the intersection of selection and homeostasis. *Immunol Rev* 2004; 197:89-101.
- Cariappa A, Chase C, Liu H, Russell P, Pillai S. Naive recirculating B cells mature simultaneously in the spleen and bone marrow. *Blood* 2007; 109:2339-45.

4. Milićević NM, Luettig B, Trautwein C, et al. Splenectomy of rats selectively reduces lymphocyte function-associated antigen 1 and intercellular adhesion molecule 1 expression on B-subsets in blood and lymph nodes. *Blood* 2001; 98:3035-41.
5. Milićević NM, Milićević Ž, Westermann J. Lymphocyte function-associated antigen-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression on B-cell subsets and the effects of splenectomy-experimental studies. *Leuk Lymphoma* 2002; 43:2071-4.
6. Kroese FGM, de Boer NK, de Boer T, Nieuwenhuis P, Kantor AB, Deenen GJ. Identification and kinetics of two recently bone marrow-derived B cell populations in peripheral lymphoid tissues. *Cell Immunol* 1995; 162:185-93.
7. de Boer NK. B cell lineages in the rat: proefschrift. Groningen: Rijksuniversiteit Groningen; 1994.
8. Milićević NM, Nohroudi K, Milićević Ž, Westermann J. Blood lymphocytes, monocytes and NK cells modulate their expression of CD44, ICAM-1, LFA-1 and MHC class II after arrival into lymphoid organs. *Immunol Invest* 2004; 33:439-52.
9. Loder F, Mutschler B, Ray RJ, et al. B cell development in the spleen takes place in discrete steps and is determined by the quality of B cell receptor-derived signals. *J Exp Med* 1999; 190:75-89.
10. Mombaerts P, Mizoguchi E, Ljunggren H-G, et al. Peripheral lymphoid development and function in TCR mutant mice. *Int Immunol* 1994; 6:1061-70.
11. Kindred B. Nude mice in immunology. *Prog Allergy* 1979; 26: 137-238.
12. Nehls M, Kyewski B, Messerle M, et al. Two genetically separable steps in the differentiation of thymic epithelium. *Science* 1996; 272:886-9.
13. Nehls M, Pfeifer D, Schorpp M, Hedrich H, Boehm T. New member of the winged-helix protein family disrupted in mouse and rat nude mutations. *Nature* 1994; 372:103-7.
14. Sprent J. Circulating T and B lymphocytes of the mouse. I. Migratory properties. *Cell Immunol* 1973; 7:10-39.
15. Sprent J, Basten A. Circulating T and B lymphocytes of the mouse. II. Lifespan. *Cell Immunol* 1973; 7:40-59.
16. Croy BA, Osoba D. Nude mice – A model system for studying the cellular basis of the humoral immune response. *Cell Immunol* 1973; 9:306-18.
17. Mond JJ, Scher I, Cossman J, et al. Role of the thymus in directing the development of a subset of B lymphocytes. *J Exp Med* 1982; 155:924-36.
18. Wortis HH, Burkly L, Hughes D, Roschelle S, Waneck G. Lack of mature B cells in nude mice with X-linked immune deficiency. *J Exp Med* 1982; 155:903-13.
19. Szabo P, Zhao K, Kirman I, et al. Maturation of B cell precursors is impaired in thymic-deprived nude and old mice. *J Immunol* 1998; 161:2248-53.
20. Milićević NM, Nohroudi K, Milićević Ž, Hedrich HJ, Westermann J. T cells are required for the peripheral phase of B-cell maturation. *Immunology* 2005; 116:308-17.
21. Shachar I, Flavell RA. Requirement for invariant chain in B cell maturation and function. *Science* 1996; 274:106-8.
22. Kenty G, Martin WD, Van Kaer L, Bikoff E K. MHC class II expression in double mutant mice lacking invariant chain and DM functions. *J Immunol* 1998; 160:606-14.
23. Tang MLK, Steeber DA, Zhang X-Q, Tedder TF. Intrinsic differences in L-selectin expression levels affect T and B lymphocyte subset-specific recirculation pathways. *J Immunol* 1998; 160:5113-21.
24. Milićević NM, Milićević Ž. Thymus cell-cell interactions. *Int Rev Cytol* 2004; 235:1-52.
25. Kampinga J, Kroese FG, Pol GH, et al. RT7-defined alloantigens in rats are part of the leucocyte common antigen family. *Scand J Immunol* 1990; 31:699-710.

T LYMPHOCYTES ARE NECESSARY FOR THE PERIPHERAL PHASE OF B LYMPHOCYTE MATURATION

Novica M. MILIĆEVIĆ

Institute of Histology and Embryology "Aleksandar Đ. Kostić",
School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade

ABSTRACT

Until recently, B lymphocyte maturation was considered to be independent of the thymus and T lymphocytes. However, using nude animals, which lack the functional thymus, we have shown that T lymphocytes are required for the peripheral phase of B lymphocyte maturation. We showed that the proportion of immature B lymphocyte subsets (CD90^{high}IgM^{high} and CD90^{high}IgM^{low}) was significantly increased, whereas that of mature B lymphocyte subsets (CD90^{low}IgM^{low} and CD90^{low}IgM^{high}) was decreased in the peripheral blood and lymph nodes of nude rats. In addition, the expression of functionally important surface molecules MHC class II, ICAM-1, CD44 and L-selectin was significantly down-regulated both on immature and mature B lymphocyte subsets. The implantation of thymic tissue under the kidney capsule of nude rats alleviated the block in B lymphocyte maturation and normalized of the defective expression of surface molecules. Comparable effects were seen after the adoptive transfer of T lymphocytes. This shows that in

nude rats B lymphocytes do not mature properly due to the lack of T cell help and that T lymphocytes are required for the peripheral phase of B lymphocyte maturation, as well as for the appropriate expression of surface molecules. This should be considered when treating patients with T lymphocyte deficiencies.

Key words: B lymphocyte maturation; B lymphocyte/T lymphocyte interactions; B lymphocyte surface molecules

Novica M. MILIĆEVIĆ
Institut za histologiju i embriologiju
„Aleksandar Đ. Kostić“
Medicinski fakultet
Višegradska 26, 11000 Beograd
Tel.: 011 3615 772
Faks: 011 3612 567
E-mail: emilicen@etf.bg.ac.yu