

УДК 616–002–008.953–092

В.Н. Сахаров,
аспирант Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

П.Ф. Литвицкий,
д.м.н., чл.-корр. РАН, профессор, заведующий
кафедрой патофизиологии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

V.N. Sakharov,
post-graduate of the I.M. Sechenov First MSMU

P.F. Litvitsky,
MD, corresp. member of RAS, prof.,
head of the chair of pathophysiology
of the I.M. Sechenov First MSMU

ВОЗМОЖНОСТИ УПРАВЛЕНИЯ ПРОЦЕССОМ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЯ ФЕНОТИПА МАКРОФАГОВ OPPORTUNITIES FOR MANAGEMENT OF MACROPHAGE PHENOTYPE REPROGRAMMING

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Петр Францевич Литвицкий, заведующий кафедрой
патофизиологии
Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.
Телефон: 8 (985) 769–07–38
E-mail: litvicki@mma.ru
Статья поступила в редакцию: 07.10.2014
Статья принята к печати: 22.10.2014

CONTACT INFORMATION:

Petr Frantsevich Litvitsky, head of the chair of pathophysiology
Address: 8/2 Trubetskaya str., Moscow, 119991
Tel.: 8 (985) 769–07–38
E-mail: litvicki@mma.ru
The article received: 07.10.2014
The article approved for publication: 22.10.2014

Аннотация. Представлен обзор литературы последних лет о возможностях целенаправленного репрограммирования фенотипа активированных макрофагов. Основное внимание уделено характеристике индукторов их активации, реализации сигнальных путей и их эффектов, а также механизмов их регуляции.

Annotation. This article reviews the recent literature on opportunities for reprogramming of macrophage phenotypes. Much attention is devoted to the stimulus, signal pathways and its effects as well as some regulational mechanisms.

Ключевые слова. Активация макрофагов, цитокины, воспаление.

Keywords. Macrophage activation, cytokines, inflammation.

Макрофаги в существенной мере определяют характер воспаления и течение его по тому или иному пути, в т. ч. — по неблагоприятному для организма.

Термин «активация макрофагов» (классическая активация) предложен MacKaness в 1960-х гг. для обозначения процесса развития макрофагами антигензависимой, но неспецифической микробицидной активности по отношению к бацилле Кальметта-Герена и листерии при повторном воздействии патогена. Несколько позднее по аналогии с выделением фенотипов Т-хелперов 1-го и 2-го типов было предложено разделить активированные макрофаги на М1 и М2. При этом М1 макрофагами обозначили клетки, активированные гамма-интерфероном (IFN- γ), который продуцируют Th1. Макрофаги, активированные IL-4 и IL-13 (вырабатываемыми Th2), обозначили как М2. Этот процесс рассматри-

вается как альтернативная активация макрофагов, которая проявляется снижением выработки провоспалительных цитокинов, не являясь формой бездействия клеток [1].

Различаются М1 и М2 активированные макрофаги экспрессией разных генов. Так, выявлено, что М1 макрофаги способны выделять токсичный оксид азота (NO), в то время как М2 секретируют трофически значимые полиамины [1].

Помимо М1 и М2 дифференцировки существует подход разделения макрофагов на классически (С α -М ϕ) и альтернативно активированные (АА-М ϕ , в опытах чаще всего получаемых воздействием IL-4) [2]. Причем оказалось, что ряд других цитокинов и регуляторных факторов (таких как IL-10, TGF- β и глюкокортикоиды) вызывает сходные фенотипические изменения макрофагов по альтернативному пути [1].

С учетом приведенных выше фактов Mantovani et al. разделили все стимулирующие факторы на две группы в зависимости от фенотипа макрофагов: программирующие M1-фенотип (IFN- γ , LPS, ФНО) и M2-фенотип (IL-4 — M2a, а IL-10 и глюкокортикоиды — M2c). Активация же макрофагов через Fc-рецепторы (иммунными комплексами) позже была обозначена как M2b. Дальнейшее изучение способствовало пополнению некоторых групп факторов: в частности, эффекты гранулоцитарномоноцитарного колониестимулирующего (GM-CSF) и колониестимулирующего фактора моноцитов (M-CSF) позволили отнести эти вещества в группу стимуляторов M1 и M2 дифференцировки макрофагов соответственно [1].

М1 СТИМУЛЫ

Классический M1 фенотип макрофагов характеризуется продукцией основных провоспалительных цитокинов и хемокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12), воспалительного белка макрофагов 1 α (MIP-1 α), провоспалительного медиатора NO (в связи с экспрессией гена NO-синтазы) [3, 2].

ГАММА-ИНТЕРФЕРОН (IFN- γ) И ЛИПОПОЛИСАХАРИД (LPS) КАК ФАКТОРЫ АКТИВАЦИИ МАКРОФАГАЛЬНОГО ФЕНОТИПА М1

Действие гамма-интерферона опосредуется рецепторами IFNGR-1 и IFNGR-2. Далее сигнальный путь IFN- γ связан с активацией киназ JAK1 и JAK2, инициацией ими передатчика сигнала и активатора транскрипции-1 (STAT1), а также регуляторных факторов IRF-1 и IRF-8. Под контролем гамма-интерферона находится экспрессия генов, в т. ч. рецепторов цитокинов (β -субъединицы ряда рецепторов цитокинов CSF2RB, α -субъединицы рецептора IL-15, α -субъединицы рецептора IL-2, а также гена рецептора IL-6), маркеров активации клеток (CD36, CD38, CD69 и CD97), ряда клеточных молекул адгезии (межклеточной молекулы адгезии-1 (ICAM1), α -L интегрин (ITGAL), α -4 интегрин (ITGA4), β -7 интегрин (ITGbeta-7), муцина-1 (MUC1) и β -галактозамид- α -2,6-сиалилтрансферазы-1 (SIAT1)). IFN- γ активирует также экспрессию генов большинства медиаторов индуцированного им сигнального пути (STAT1, JAK2 и IRF1), ряда регуляторных молекул: цитокин индуцибельного белка, содержащего SH2-домен (CISH), белка, взаимодействующего с продуктами онкогенов N-мус и C-мус (NMI), CD45, тирозинфосфатазы-O рецепторного типа (PTPRO) и супрессора сигнального пути 1 (SOCS1) [1].

Еще в 1999 г. на биологической модели учеными было доказано, что NMI способен взаимодействовать не только с продуктами онкогенов, но и со все-

ми молекулами STAT (кроме STAT2). При этом NMI стимулирует связывание активирующих белков с этими транскрипционными факторами и способен потенцировать транскрипционный ответ клетки на воздействие IL-2 и IFN- γ [4]. В то же время другой фактор — SOCS1 ограничивает ответ макрофагов на воздействие IFN- γ , но при этом он же и снижает продукцию IL-10, медиатора альтернативной активации [5].

Мыши, лишенные IFN- γ или его рецептора, жизнеспособны, количество макрофагов у них в норме, однако функционирование их нарушено. Такие мыши более чувствительны к *Mycobacterium bovis* и *Listeria monocytogenes*, простейшим *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania major* и *Cryptosporidium parvum*, а также к некоторым нематодам, таким как *Litomosoides sigmodontis*, *Schistosoma mansoni* и *Schistosoma japonicum* [1]. Это можно объяснить доминированием M2 ответа у мышей с избыточной выработкой аргиназы. Имеются данные, что в макрофагах мышей этот фермент индуцируется IL-4/IL-13 и противостоит по действию воспалительным сигналам, приводящим к выработке индуцибельной NO-синтазы. Таким образом, NO-синтаза и аргиназа конкурируют за субстрат — аргинин. При этом L-орнитин, образуемый аргиназой-1, затем может расходоваться как на синтез полиаминов (что способствует росту клеток), так и на образование пролина (важного для синтеза коллагена). Например, при инфекции, вызванной *Schistosoma mansoni*, активность синтеза полиаминов из-за воспаления ткани печени снижается, что способствует росту гранулемы и фиброзу ткани [6].

У человека мутации, приводящие к дефициту рецепторов IFN- γ , вызывают повышенную чувствительность к *M. avium*; *M. kansasii*; *M. chelonae*, *Salmonella typhimurium* and *S. paratyphi* [1].

IFN- γ в литературе часто рассматривается во взаимодействии с липополисахаридом (LPS), причем профили генной экспрессии макрофагов различны при воздействии LPS и IFN- γ по отдельности в сравнении с комбинированным воздействием [1].

Многие бактериальные продукты могут быть описаны как лиганды к Toll-подобным рецепторам (TLRs) (к примеру, LPS, мурамиловый дипептид и липотейхоевая кислота). Под действием LPS происходит активация TLR4. Это запускает MyD88 и Mal/Tirap-зависимые пути, которые ведут к активации синтеза пула провоспалительных цитокинов (IFN- β , IL-12, TNF, IL-6 и IL-1 β), хемокинов CCL2, CXCL10 и CXCL11, антигенпрезентирующих молекул (группы главного комплекса гистосовместимости — МНС) и других молекул, участвующих в процессинге антигенов [1]. Следует отметить, что ответ, опосредованный Mal/Tirap, напрямую зави-

сит от фактора-6, связанного с рецептором фактора некроза опухолей (TRAF6), и нарушается при его недостатке [7].

Экспрессия генов при действии LPS контролируется ядерным фактором κ B (NF- κ B), активирующим белком-1 (AP-1), IRFs, STAT1 и группой EGR. При нарушении функционирования TLR количество макрофагов сохраняется в нормальных пределах, но активация клеток нарушена и выживаемость при инфекциях резко снижена [1]. В то же время дефицит MyD88 и TRIF (еще одного фактора, опосредующего ответ TLR, а также рецептора семейства IL-1) у мышей приводит к ограничению чрезмерного воспалительного ответа, опосредованного выработкой цитокинов при сохраненном протективном ответе на IFN- γ , что благоприятно, например, при экспериментальном перитоните [8].

Существенно, что в некоторых случаях TLR-опосредованный путь обеспечивает патогенный эффект. В частности, избыток аргиназы у мышей может быть индуцирован и транскрипционным фактором STAT3 после стимуляции TLR, либо при туберкулезной инфекции через TLR посредник — маркер миелоидной дифференцировки 88 — MyD88 и транскрипционный фактор C/EBP β [6]. Это приводит к ограничению воспалительного ответа и по сути — к альтернативной активации макрофагов. И если *T.gondii* и *M.tuberculosis* снижают выработку защитного NO по STAT6-независимому пути синтеза Arg1, то *Helicobacter pylori* и *Leishmania* кодируют эндогенные аргиназы, которые в конкуренции за аргинин снижают выработку NO и также способствуют снижению эффективности иммунного ответа [6].

Примечательно и то, что IL-21, вырабатываемый CD4+ Т-хелперами и НК-клетками, подавляет продукцию LPS-активированными макрофагами ряда провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1 β и TNF- α), не влияя на синтез IFN- γ , IL-10, CCL5 или CXCL2 [9]. Это может рассматриваться уже как пример репрограммирования фенотипа клетки.

У человека результат мутации в группе TLR достаточно хорошо изучен: при этом повышается чувствительность организма к микобактериям, пневмококкам, менингококкам, плазмодиям малярии, а также возможность развития бактериемии [1].

Важно отметить, что для Ca-M (M1) обнаружена важная роль IRF5 или IRF8 в Notch1—RBP-J сигнальном пути [6], который регулирует клеточную дифференцировку миелоидных клеток и их функционирование. Notch-RBP-J система контролирует процесс выработки воспалительных цитокинов M1 типа, в частности, IL-12 и iNOS, а также экспрессию IRF-8. Таким образом, и RBP-J, и TLR4 действуют в одном направлении, повышая экспрессию IRF-8, а следовательно, и генов M1 ответа [10].

ГРАНУЛОЦИТАРНОМАКРОФАГАЛЬНЫЙ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР (GM-CSF) КАК ФАКТОР АКТИВАЦИИ ФЕНОТИПА M1 МАКРОФАГОВ

GM-CSF вырабатывается фибробластами, макрофагами, Т-клетками, эндотелиальными, мезотелиальными, эпителиальными клетками и многими опухолевыми клетками. Рецепторы к GM-CSF экспрессируются на моноцитах и макрофагах, гранулоцитах, лимфоцитах, эндотелиоцитах и альвеолярном эпителии. Сам рецептор состоит из α и β цепей: GM-CSFR α и GM-CSFR β [11], причем синтез β -цепи как продукта гена CSF2RB регулируется IFN- γ . Активированный рецептор способен запустить JAK2, что ведет к подключению ряда факторов: STAT5, внеклеточной сигнал-зависимой киназы ERK, V-Akt (также известного как AKT). Также происходит транслокация в ядро NF- κ B и IRF5 [1].

GM-CSF стимулирует продукцию моноцитами и макрофагами IL-6, IL-8, G-CSF, M-CSF, TNF и IL-1 β (в меньшей степени, чем, к примеру, LPS) [1].

При лабораторной модификации GM-CSF у животных число макрофагов нормальное, но имеются дефекты в развитии альвеолярных макрофагов, что приводит к альвеолярному протеинозу [1]. В другом исследовании введение мышам антител, нейтрализующих GM-CSF, снижало эффективность иммунного ответа мышей к *Histoplasma capsulatum* [11].

У человека аномалии рецептора GM-CSF, особенно в его бета-цепи, приводят не только к протеинозу, но и к злокачественному перерождению клеток [1].

Особый интерес представляет тот факт, что гиперэкспрессия GM-CSF никогда не остается нейтральной для организма. При ней возможно повреждение различных тканей, слепота, а при гиперэкспрессии в легочном эпителии (полученной с помощью аденовирусного вектора) развивается эозинофилия, накопление в тканях макрофагов и фиброз [11].

Среди других молекул *M1 группы*, обладающих провоспалительными свойствами, выделяют TNF, IL-1 β и IL-6 [1].

M2 СТИМУЛЫ

AA-M (под действием IL-4) не демонстрируют секрецию IL-12 и IL-10, обнаруживаемую лабораторными методами, по выработке цитокинов достоверно не отличаясь от нестимулированных макрофагов [2].

ИНТЕРЛЕЙКИНЫ IL-4 И IL-13 КАК АКТИВАТОРЫ ФЕНОТИПА M2 МАКРОФАГОВ

IL-4 вырабатывают Th2, эозинофилы, базофилы и сами макрофаги. Его распознают три пары различных рецепторов. IL-4R α 1 может объединяться с

гамма-цепью (γ с), реагируя на IL-4 (тип рецептора I); с цепью IL13R α 1 (тип рецептора II), обеспечивая взаимодействие с IL-4 или IL-13. Важно, что при взаимодействии IL-13 с IL13R α 2 цепью запускаются несколько иные сигнальные пути и эффекты [1, 6].

Макрофаги экспрессируют как I, так и II тип рецепторов; так может происходить активация и формирование AA-M фенотипа при воздействии IL-4 на тип I рецептор или одновременно IL-4 и IL-13 на тип II рецептор [6].

Сигнальный путь. Взаимодействуя с IL-4 рецептор запускает JAK1 и JAK3, что приводит к активации и транслокации в ядро STAT6. Другие транскрипционные факторы, вовлеченные в процесс — с-Мус и IRF4 [1].

Таким образом, как рецептор типа I, так и рецептор типа II инициируют сигнальный путь Jak/STAT-опосредованным фосфорилированием, но различаются по вторым передатчикам (Jak3 ассоциируется с γ с, в то время, IL-13R α 1 активирует Jak2 или еще одну киназу Tyk2). Активированный фактор STAT6 соединяется с промоторами IL-4/IL-13-зависимых генов. Также в макрофагах IL-4 запускает и γ с-зависимое фосфорилирование IRS-2 и связывание его с p85 субъединицей фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и белка-2, связанного с рецептором фактора роста (Grb2). У мышей эти явления приводят к повышению экспрессии AA-M маркеров: аргиназы (Arg1), резистин-подобной молекулы-альфа (Relm α) и фактора Ym1 [6]. Необходимо отметить, что человеческие моноциты не могут отвечать на Th2-цитокиновую стимуляцию также, как и костномозговые макрофаги мышей: они не показывают повышение аргиназной активности [2]. Также важно, что резистин-подобная молекула-альфа Relm α (также известная как маркер FIZZ1) связана с аллергическими и легочными воспалительными заболеваниями, а также обнаруживается при некоторых гельминтозах [2, 6]. Тем не менее, IL-13, даже при условии аналогичного процесса STAT6 фосфорилирования, имеет сходные эффекты, но обладает меньшей способностью вызывать альтернативную активацию макрофагов [6].

Сообщают, что IL-4 вызывает также синтез трансглутаминазы-2 (TGM2), маннозного рецептора-1 (MRC1), холестерол 25-гидроксилазы (CH25H), простагландин-эндопероксид синтазы-1 (PTGS1), транскрипционных факторов IRF4, K \ddot{u} rrel-подобного фактора-4 (KLF4), дектина-1, хитиназы, а также регуляторов передачи сигнала CISH и SOCS1 [1, 6]. Причем экспрессия генов двух последних факторов, помимо этого, регулируется и IFN- γ .

При мутантном IL-4 у животных количество и созревание макрофагов нормальны, а дефекты проявляются в иммунном ответе на инвазию нематод

и при некоторых вирусных инфекциях. У человека полиморфизм IL-4R связывают с развитием астмы и атопий [1].

Таким образом, среди маркеров альтернативно-активированных макрофагов необходимо отметить аргиназу (у мышей), маннозный рецептор-1, дектин-1, хитиназы, Relm α и ряд других факторов [6]. Определенный интерес представляет и катионный аминокислотный транспортер CAT2, экспрессируемый вместе с аргиназой-1. Так, CAT2-дефицитные мыши более восприимчивы к *Toxoplasma gondii* (в т.ч. из-за снижения NO), а при инфицировании *S. mansoni* они быстрее погибают в связи с усиленным ростом гранулем и темпами фиброза. У таких мышей в легочной ткани выявлены также признаки спонтанного воспаления, а альвеолярные макрофаги вырабатывают сниженный уровень NO в ответ на IFN- γ и липополисахарид [6].

Маннозный рецептор — это лектиновый рецептор C-типа, широко экспрессируемый тканевыми макрофагами и эндотелиальными клетками. Он может выступать как рецептор, участвующий в реализации механизмов врожденного иммунитета (т.к. маннопротеинами богаты, к примеру, грибковые частицы). В то же время имеются сведения о существовании и других специфических рецепторов для грибковых компонентов (к примеру, дектин-1) и простейших [6].

Дектин-1 — также лектиновый рецептор C-типа, экспрессируется макрофагами, нейтрофилами и дендритными клетками, являясь основным в распознавании грибов у мышей и человека. В отличие от MR, дектин-1 проявляет специфичность к β -гликанам [6].

Хитиназы вырабатываются макрофагами при воздействии IL-4/IL-13 посредством STAT6. Они же участвуют в распознавании и деградации хитина — компонента многих паразитов, грибов и пылевых клещей [6].

Допускается также инициирующая M2 макрофаги роль таких факторов, как PPAR γ и δ , а также коактиватора 1 β (PGC1 β). Они, взаимодействуя либо с самим STAT6, либо с зависимыми от него транскрипционными факторами, модулируют процесс альтернативной активации [6].

Иммунные комплексы как активаторы фенотипа M2 макрофагов

M2b активация является примером изменения фенотипа макрофагов В-лимфоцитами (их антителами). Воздействие IgG на Fc-рецепторы активированных LPS макрофагов блокирует образование IL-12 и стимулирует выработку IL-10. IgG распознается рядом Fc γ рецепторов: Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIA (CD32), Fc γ RIIB (CD32), а также Fc γ RIIIA (CD16a) и Fc γ RIIIB (CD16b). CD32 считают ключевым в активации моноцитов и макрофагов человека II типа [1].

Сигнальный путь. FcR активирует селезеночную тирозинкиназу (Syk) и фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K). Вместе с тем особенности *Myd88*-сигнального пути требуют еще дополнительного изучения [1].

Индукция экспрессии входящего в семейство фактора некроза опухолей LIGHT в опыте при M-II активации макрофагов повышается более чем в 200 раз. При этом LIGHT быстро отщепляется от мембраны, либо изначально вырабатывается в секретлируемой форме sLIGHT (для сравнения при Ca-M примерно в 10 раз меньше, а для AA-M экспрессия этого гена не показана). Таким образом, активированные иммунными комплексами макрофаги могут выполнять и некоторые другие функции. Так, известно, что LIGHT может костимулировать T-клеточный ответ через T-клеточный рецептор HVEM (TR2) и растворимый TR6, дополнительно регулируя активацию и пролиферацию T-клеток [2]. Показано, что экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости и CD86 макрофагами (что свидетельствует о реализации ими процесса антигенпрезентации), а также стимуляция макрофагами T-клеток (с выработкой ими CD25, СВ69 и низким количеством CD62L) при ответе на антиген была наивысшей в группе Mф-II [2]. Животные, имеющие мутации в FcR, имеют нормальное число макрофагов, но их способность к фагоцитозу опсонизированных элементов существенно снижена. У человека генетические различия структуры FcR связывают с развитием болезней иммунной аутоагрессии, таких как системная красная волчанка, ревматоидный артрит и др. Важно, что IgE (наиболее значимый в Th2-индуцированном ответе) в формировании этого фенотипа не задействован [1].

ГЛЮКОКОРТИКОИДЫ КАК АКТИВАТОРЫ M2 ФЕНОТИПА МАКРОФАГОВ

Глюкокортикоиды липофильны и, проникая через плазмолемму, связываются с глюкокортикоидным рецептором (GCR) α . Далее этот комплекс транслоцируется в ядро. Там он взаимодействует с ДНК, модифицируя экспрессию генов напрямую либо опосредованно: с участием транскрипционных факторов, таких как NF-kB или AP-1 [1].

Анализ особенностей экспрессии генов в глюкокортикоид-стимулированных моноцитах выявил факт активации генов компонента комплемента 1 подтипа A (C1QA), DSIP1 белка семейства TSC22, маннозного рецептора MRC1, тромбоспондина-1 (THBS1), IL-10, IL1R2 и CD163 [1].

Мыши с дефицитом GCR достаточно быстро гибнут после рождения из-за дыхательной недостаточности и высокой частоты развития сепсиса. У человека полиморфизм GCR характеризуется плейотропным эффектом и может опосредовать разви-

тие разнообразных злокачественных новообразований, а также воспалительных и аутоиммунных заболеваний [1].

ИНТЕРЛЕЙКИН IL-10 КАК АКТИВАТОР ФЕНОТИПА M2 МАКРОФАГОВ

IL-10 — это цитокин с противовоспалительной активностью, ограничивающий воспалительное повреждение клеток и тканей. Изначально считалось, что этот цитокин выделяют Th2, однако способными на это оказались практически все лейкоциты. Тем не менее, в организме основными источниками IL-10 являются Th2, моноциты, макрофаги и дендритные клетки [12].

IL-10 связывается с рецептором IL-10 — димером, состоящим из IL10R1 и IL10R2. Рецептор подвергается аутофосфорилированию. Это приводит к активации JAK/STAT сигнального пути (ключевым является STAT3), что в свою очередь подавляет экспрессию генов провоспалительных цитокинов [1, 12]. Транскриптон при воздействии IL-10 на макрофаги включает экспрессируемые гены Fc рецепторов отдельных типов, хемоаттрактантов CXCL13 и CXCL4, а также ряда рецепторов (FPR1, TLR1, TLR8 и рецептор макрофагов MARCO) [1].

IL-10 дефицитные мыши имеют нормальный уровень макрофагов, но у них часто развиваются воспалительные заболевания кишечника в связи с изменением микрофлоры, а также выявляются нарушения иммунного ответа на паразитарные инвазии. У человека дефекты этого цитокинового рецептора приводят к колитам и дефектам процесса воспаления [1].

МОНОЦИТАРНЫЙ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИЙ ФАКТОР M-CSF КАК АКТИВАТОР ФЕНОТИПА M2 МАКРОФАГОВ

Сигнальный путь M-CSF, подобно GM-CSF, совсем недавно пополнил перечень веществ, определяющих активацию макрофагов, только рассматривается он как M2 стимул. Трансмембранный рецептор M-CSF представляет собой тирозинкиназу. Во время присоединения M-CSF происходит димеризация рецептора, аутофосфорилирование, активация фактора ERK, фосфатидилинозитол-3киназы, фосфолипазы-C и ядерного транскрипционного фактора Sp1. Транскрипционный ответ M-CSF включает повышение экспрессии генов клеточного цикла (циклины A2, B1, D1 и E1) при снижении образования лимфоцитарных антигенов, TLR7 и компонентов комплемента C1QA/B/C подтипов. Исследования последних лет показали, что GM-CSF и M-CSF как у человека, так и у мышей регулируют функционирование около 530 генов [1].

M-CSF мутантные мыши характеризуются сниженным уровнем моноцитов, отдельных макрофагов и остеопетрозом. Мутации M-CSF рецептора у человека приводят к миелодиспластическим синдромам или острой миелоидной лейкемии. Мутации были связаны также с наследственной диффузной лейкоэнцефалопатией. Однако пациенты с остеопетрозом, вызванным недостатком M-CSF, выявлены не были [1].

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССА АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ

Семейство белков SOCS состоит по меньшей мере из восьми представителей (SOCS1-7 и CIS.) Эти белки регулируют внутриклеточную передачу сигнала. SOCS1 и SOCS3 могут быстро нарабатываться в макрофагах. Их продукция возрастает при воспалительных заболеваниях. Так, SOCS1 ингибирует клеточный ответ макрофагов на IFN- γ , а SOCS3, в свою очередь, снижает IL-6-обусловленный STAT3 противовоспалительный ответ (также как и IL-4-обусловленную, опосредованную IRS-2/PI3K экспрессию генов). SOCS1 и SOCS3 контролируют JAK/STAT сигнальный путь, ингибируя активность JAK. SOCS1 и SOCS3 способствуют также действию на сигнальный комплекс убиквитина и его протеосомальной деградации [5].

Стоит отметить, что SOCS1 и SOCS3 могут воздействовать и на другие сигнальные пути: на MAPK и NF- κ B, также меняя характеристики макрофагов [5].

Недавно было показано, что большинство макрофагов, инфильтрирующих при воспалении гломерулы почки — при экспериментальном нефрите — вырабатывает повышенное количество SOCS3, необходимого для их поляризации в M1-фенотип [5, 13]. Стоит отметить, что SOCS3 непосредственно необходим для передачи сигнала, опосредованного NF- κ B при формировании макрофагами M1 фенотипа. При недостаточности SOCS3 передача этого сигнала нарушается не из-за компенсаторного увеличения SOCS1, а из-за устранения ингибирующего влияния самого SOCS3 на PI3K с последующим подавлением этим белком активности NF- κ B, синтеза IL-6, NO [13].

Большинство работ, касающихся роли белков SOCS, затрагивали в исследовании механизм регуляции именно белком SOCS1 IFN- и TLR-опосредованных ответов. Намного меньше известно о регуляции механизма M2 активации. C.S. Whyte, E.T. Bishop и соавт. показали, что именно SOCS1, а не SOCS3, повышено экспрессируется и влияет на функции M2 макрофагов. При этом SOCS1-дефицитные мыши не способны обеспечить повышенную выработку маннозного рецеп-

тора, YM1 или RELM- α , что еще раз подтверждает значимую роль этого белка в экспрессии генов M2 макрофагами [5].

Для M1 макрофагов SOCS1 также является важным регулятором, предупреждая чрезмерный воспалительный ответ. Таким образом, поиск возможностей изменения экспрессии гена SOCS1 представляется потенциально перспективной стратегией, реализация которой позволит контролировать активацию макрофагов при воспалительных заболеваниях [5].

При анализе SOCS1 и SOCS3 экспрессии в перитонеальных макрофагах, приобретающих M2 фенотип в условиях интраперитонеальной имплантации мышам немотод *B. malayi*, обнаружено, что после имплантации макрофаги экспрессировали высокие уровни мРНК аргиназы 1, Relm α , YM1 (в сравнении с прооперированными мышами без имплантации). У линии мышей, лишенных IL-4R, выработки маркеров M2 активации при имплантации не происходило. Помимо этого отмечались низкие уровни SOCS1 (который усиленно вырабатывался у основной группы мышей дикого типа). Этот факт демонстрирует зависимость экспрессии SOCS1 от IL-4. Теми же авторами показано, что SOCS3-экспрессия в макрофагах имеет противоположную тенденцию: у дикого типа мышей SOCS3 значительно подавлен, хотя у IL-4R $\alpha^{-/-}$ определялся его значимый уровень. Описано также свойство SOCS1 макрофагов опосредовать регулирование T-клеточной пролиферации, меняя доступность аргинина [5].

Есть свидетельства того, что торможение T-лимфоцитарной пролиферации AA-M также основано на межклеточных взаимодействиях, возможно, за счет рецептор-опосредованного процесса (сообщается о связывании экспрессируемых AA-M лигандов с ингибиторным PD-1 рецептором на T-клетках при гельминтных инвазиях) [6].

Показана также существенная роль SOCS1 в развитии эффектов воздействия IL-4 на макрофаги. Так, вырабатываемый при действии IL-4 SOCS1 ограничивает ответ на последующее воздействие IFN/LPS [5].

SOCS1 участвует в регуляции фенотипа M1 макрофагов. У LPS-активированных SOCS1-дефицитных макрофагов мышей не выявлено значительного повышения активности iNOS, в то время как повышение активности аргиназы 1 наблюдалось у SOCS1-дефицитных мышей при стимуляции как LPS, так и IFN/LPS. Таким образом, SOCS1 регулирует соотношение iNOS: аргиназа I в M1 и M2 макрофагах, только по-разному [5].

Как указывалось выше, M1 активированные макрофаги развивают повышенную экспрессию MHC II и ко-стимулирующей молекулы CD86, а также увеличивают секрецию провоспалительных

цитокинов IL-6, IL-12 и TNF- α . Лишение мышей SOCS1 приводит к значительному повышению уровней IL-6 (LPS воздействие) и IL-12p40 (воздействие IFN/LPS) при отсутствии значительного влияния на TNF-секрецию. Следовательно, SOCS1 лимитирует выработку IL-10 и обеспечивает эффективную M1 поляризацию макрофагов. Claire S. Whyte, Eileen T. Bishop и соавт. предполагают, что именно SOCS1 является главным переключателем, направляющим сигналы для эффективной поляризации M1 или M2 макрофагов [5].

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

Известно, что гены провоспалительного ответа в обычном состоянии не транскрибируются. Но они могут быстро реагировать на сигналы, поступающие через TLR. К примеру, транскрипция TNF ограничена нуклеосомой, расположенной над основным сайтом присоединения NF- κ B к промотору. При поступлении TLR-опосредованного сигнала нуклеосома ремоделируется и освобождает этот сайт [14].

Структура хроматина других генов быстрого воспалительного ответа иногда требует для активации транскрипции АТФ-зависимого ремоделирования гистонами. Тем не менее, начальная фаза острого системного воспаления сходна и практически всегда требует NF- κ B-сигнала [14]. В дальнейшем инициальная фаза воспалительного ответа клетки может сменяться фазой адаптивной (указанные гены вновь репрессируются), что важно для выживания организма: при этом развивается состояние толерантности. В эксперименте показано, что при сепсисе у мышей легочные макрофаги за счет эпигенетических переключений сменяют инициальную фазу на адаптивную, облегчая IL-4/IL-13-обусловленный переход от M1 фенотипа макрофагов к M2 фенотипу [14].

Интересны данные о влиянии низкодозового лазерного воздействия на экспрессию M1-цитокинов. Так, установлено, что при таком воздействии происходит ацетилирование гистонов H3 и H4 и триметилирование гистона H3K4 в области промотора гена TNF. Выявлено также ацетилирование гистона H3 в области промотора гена IP-10 (что приводит к активации соответствующих генов) [15].

Эпигенетические факторы могут воздействовать на IL-4/IL-13-опосредованные программы. Так, IL-4 сигналы вызывают связывание STAT6 с промотором фактора, ремоделирующего хроматин Jmjd3, который посредством деметилирования лизина в гистоне H3 активирует экспрессию AA-M маркерных генов (Arg1, Ym1 и Relm α) [6].

Таким образом, представленные в обзоре литературы последних лет данные демонстрируют наличие реальной возможности управлять процессами

активации макрофагов и их перепрограммирования (активации по заданному пути). Возможность управления поведением макрофагов, учитывая их ключевую роль при целом ряде заболеваний человека, может позволить управлять течением таких заболеваний, предотвращая их фатальные осложнения и неблагоприятные исходы.

Список литературы

1. Martinez F.O., Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment // *F1000Prime Reports*. 2014. Vol. 6. № 13. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944738/> (дата обращения: 05.04.2014).
2. Edwards J.P., Zhang X., Frauwirth K.A., Mosser D.M. Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations // *J. Leukoc. Biol.* 2006. Vol. 80. № 6. P. 1298–1307. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2642590/> (дата обращения: 15.04.2014).
3. Лямина С.В., Веденикин Т.Ю., Круглов С.В. и др. Особенности фагоцитарной и миграционной активности альвеолярных макрофагов M1 и M2 фенотипов // *Фундаментальные исследования*. 2011. № 11 (ч. 3). С. 536–539. URL: http://www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=7981832 (дата обращения: 15.04.2014). [Lyamina S.V., Vedenikin T.Yu., Kruglov S.V. et al. Characteristics of phagocytic and migration activity of alveolar macrophages of M1 and M2 phenotypes // *Fundamentalnye issledovaniya*. 2011; 11(3): 536–539. URL: http://www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=7981832 (date accessed: 15.04.2014).]
4. Zhu M., John S., Berg M., Leonard W.J. Functional association of Nmi with Stat5 and Stat1 in IL-2- and IFN γ -mediated signaling // *Cell*. 1999. № 96(1). P. 121–130. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9989503> (дата обращения: 22.08.2014).
5. Whyte C.S., Bishop E.T., Rückerl D. et al. Suppressor of cytokine signaling (SOCS)1 is a key determinant of differential macrophage activation and function // *J. Leukoc. Biol.* 2011. № 90. P. 845–854. URL: <http://m.jleukbio.org/content/90/5/845.full.pdf+html> (дата обращения: 17.04.2014).
6. Van Dyken S.J., Locksley R.M. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease // *Ann. Rev. Immunol.* 2013. № 31. P. 317–343. <http://http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3606684/> (дата обращения: 15.04.2014).
7. Verstak B., Nagpal K., Bottomley S.P. et al. MyD88 adapter-like (Mal)/TIRAP interaction with TRAF6 is critical for TLR2- and TLR4-mediated NF- κ B proinflammatory responses // *J. Biol. Chem.* 2009. № 284(36). P. 24192–24203. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2782013/> (дата обращения: 22.08.2014).

8. Reim D., Rossmann-Bloeck T., Jusek G. et al. Improved host defense against septic peritonitis in mice lacking MyD88 and TRIF is linked to a normal interferon response // *J. Leukoc. Biol.* 2011. № 90. P. 613–620 URL: <http://www.jleukbio.org/content/90/3/613.full> (дата обращения: 17.04.2014).
9. Li S.N., Wang W., Fu S.P. et al. IL-21 modulates release of proinflammatory cytokines in LPS-stimulated macrophages through distinct signaling pathways // *Mediators of Inflammation*. Vol. 2013. Article ID 548073. 12 p. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3888770/> (дата обращения: 16.04.2014).
10. Xu H., Zhu J., Smith S. et al. Notch-RBP-J signaling regulates IRF8 to promote inflammatory macrophage polarization // *Nat. Immunol.* 2012. Vol. 13. № 7. P. 642–650. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22610140> (дата обращения: 02.05.2014).
11. Shi Y., Liu C.H., Roberts A.I. et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know // *Cell Res.* 2006. 16(2). P. 126–133. URL: <http://www.nature.com/cr/journal/v16/n2/full/7310017a.html> (дата обращения: 22.08.2014).
12. Iyer S.S., Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease // *Crit. Rev. Immunol.* 2012. № 32(1). P. 23–63. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3410706/> (дата обращения: 23.08.2014).
13. Arnold C.E., Whyte C.S., Gordon P. et al. A critical role for suppressor of cytokine signaling 3 in promoting M1 macrophage activation and function in vitro and in vivo // *Immunology*. 2013. № 141. P. 96–110. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3893853/> (дата обращения: 09.04.2014).
14. McCall C.E., El Gazzar M., Liu T. et al. Epigenetics, bioenergetics, and microRNA coordinate gene-specific reprogramming during acute systemic inflammation // *J. Leukoc. Biol.* 2011. № 90. P. 439–446. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3157901> (дата обращения: 17.04.2014).
15. Chen C.H., Wang C.Z., Wang Y.H. et al. Effects of low-level laser therapy on M1-related cytokine expression in monocytes via histone modification // *Mediators of Inflammation*. Vol. 2014. Article ID 625048. 13 p. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3945284/> (дата обращения: 15.04.2014).