

МИКРОВЕЗИКУЛЫ МАКРОФАГОВ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПА Янковская А.А.¹, Баторов Е.В.², Шевела Е.Я.³

¹Янковская Александра Александровна – студент,
направление: медицина,

Институт медицины и психологии

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет;

²Баторов Егор Васильевич - кандидат медицинских наук, научный сотрудник;

³Шевела Екатерина Яковлевна - доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник,
лаборатория клеточной иммунотерапии,

Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии,
г. Новосибирск

Аннотация: в данной статье проведено исследование и сравнительная характеристика фенотипов микровезикул макрофагов первого и второго типа (M1 и M2). В результате работы было показано, что микровезикулы, секретируемые макрофагами двух типов спонтанно и при стимуляции эндотоксином, соответствуют определенному функциональному фенотипу, что может являться доказательством возможной реализации свойств M1 и M2 посредством микровезикул.

Ключевые слова: микровезикулы, микропузырьки, макрофаги, фенотип, поляризация макрофагов, иммунология.

Макрофаги являются гетерогенной популяцией клеток, и в зависимости от условий активации и функций можно выделить «классические», или провоспалительные, M1 и «альтернативные», или противовоспалительные M2 макрофаги [1]. Помимо основной их функции – фагоцитоза, было показано, что макрофаги играют огромную роль в процессах иммуномодуляции и репарации [2], [3], [4]. Подобно многим другим клеткам, макрофаги M1 и M2 продуцируют микровезикулы (Mv) – мембраносодержащие пузырьки размером до 1 мкм [5]. Во многих исследованиях последних лет была продемонстрирована значительная роль микровезикул (Mv) в реализации биологических эффектов различных типов клеток, таких как МСК [6], [7], [8], [9], однако для макрофагов этот аспект их воздействия на клетки-мишени не изучен, и неясно, насколько свойства макрофагов могут быть опосредованы с помощью Mv.

Таким образом, нами была поставлена цель: проанализировать Mv M1 и M2 макрофагов, провести их сравнительную характеристику.

В работе были использованы следующие материалы и методы: макрофаги первого и второго типа генерировали из прилипающей фракции моноклеарных клеток периферической крови доноров при культивировании в присутствии GM-CSF, в условиях нормального и сниженного содержания ростовых факторов сыворотки. Продукцию Mv оценивали в 48-часовых супернатантах M1 и M2 макрофагов, стандартизованных по количеству клеток. Mv получали методом препаративного ступенчатого ультрацентрифугирования, окрашивали моноклональными антителами (CD206, CD11c, HLA-DR, B7H1) и анализировали при помощи проточной цитофлуометрии.

В результате работы мы достигли следующих результатов: M1-специфичные Mv коэкспрессируют характерные для M1 макрофагов маркеры - CD11c и HLA-DR, а также общие с M2 поверхностные структуры – маннозный рецептор (CD206) и коингибиторную молекулу B7H1. В ответ на стимуляцию эндотоксином спектр Mv значительно не изменялся. Среди Mv, продуцируемых M2 макрофагами, обнаруживалось достоверно меньше CD11c+ Mv в сочетании с увеличением относительного количества CD206+ Mv и коэкспрессирующих HLA-DR+ и B7H1+ Mv. При стимуляции ЛПС спектр также достоверно не менялся (см. таблицу 1).

Таблица 1. Относительное содержание Mv в нестимулированных и ЛПС-стимулированных 48- часовых супернатантах, стандартизованных по количеству M1 и M2 клеток

Исследуемый антиген	M1		M2	
	0	ЛПС	0	ЛПС
CD11c	3,38	4,7	1,5*	1,57*
HLA-DR	14,0	28,6	14,1	18,3
CD206	16,7	23,8	23,1*	27,6
B7H1	31,7	30,2	28,9	33,3
HLA-DR+B7H1	25,7	25,8	43,95*	46,4*

Примечание: представлены медианные значения данных, полученных в четырех экспериментах.

* $p_w < 0,05$ - достоверные различия по сравнению с соответствующими показателями M1 макрофагов.

Полученные предварительные результаты могут свидетельствовать о том, что M1 и M2 макрофаги продуцируют – спонтанно и при стимуляции эндотоксином – определенный спектр микровезикул,

соответствующий определенному функциональному фенотипу, что может являться доказательством возможной реализации свойств M1 и M2 посредством Мв, однако этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Список литературы

1. *David M. Mosser and Justin P. Edwards. Exploring the full spectrum of macrophage activation / Nature Reviews Immunology, 8(12): 958–966, 2008.*
2. *Lin E.Y., et al. Macrophages regulate the angiogenic switch in a mouse model of breast cancer / Cancer Research, 66:11238–11246, 2006.*
3. *Edwards J.P., Zhang X. Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations / Journal of Leukocyte Biology, 80:1298–1307, 2006.*
4. *Witherell C.E., Graney P.L., Freytes D.O., Weingarten M.S., Spiller K.L. Response of human macrophages to wound matrices in vitro / Wound Repair Regeneration, 24(3): 514-524, 2016.*
5. *Chuan Zhan, Cheng-bin Ma, Hong-mou Yuan, et al. Macrophage-derived microvesicles promote proliferation and migration of Schwann cell on peripheral nerve repair/ Biochemical and Biophysical Research Communications. 468(1-2): 343–348, 2015.*
6. *CiroTetta, Stefania Bruno, Valentina Fonsato, et al. The role of microvesicles in tissue repair / Organogenesis, 7(2): 105–115, 2011.*
7. *Fierabracci, Alessandra, Del Fattore, Andrea, Luciano, Rosa et al. Recent Advances in Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: The Role of Microvesicles / Cell Transplantation, 24(2): pp. 133-149(17), 2015.*
8. *Bruno S., et al. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury / Journal of the American Society of Nephrology, 20:1053–1067, 2009.*
9. *Lai R. C., Arslan F., Lee M.M., et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia / reperfusion injury / Stem Cell Research, 4(3):214–222, 2010.*