

ПРЯМЫЕ ЭФФЕКТЫ ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МОНОЦИТОВ/МАКРОФАГОВ ЧЕЛОВЕКА

Газатова Н.Д., Меняйло М.Е., Малащенко В.В., Гончаров А.Г., Мелащенко О.Б., Морозова Е.М., Селедцов В.И.

ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Резюме. Исследовали прямые эффекты гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) человека на поверхностные свойства и цитокин-продуцирующую активность моноцитов/макрофагов (Мц/Мф) человека. CD14⁺ клетки были выделены из крови здоровых доноров методом позитивной магнитной сепарации. Выделенные Мц/Мф культивировали с липополисахаридом (ЛПС, 1 мкг/мл) или без ЛПС в течение 24 ч. Мембранную экспрессию молекул CD14, CD16, CD119, CD124, CD197 оценивали методом проточной цитофлуориметрии. Содержание фактора некроза опухоли- α (TNF α), интерлейкина-1 β (IL-1 β), IL-6 и IL-10 в культуральных супернатантах определяли иммуноферментным методом. Установлено, что GM-CSF в диапазоне концентраций 0,01–10 нг/мл заметно снижал среди неактивированных Мц/Мф количество клеток, экспрессирующих CD197 (С-С рецептор хемокина 7), существенно не влияя на процентное содержание CD14⁺ (коррецептор ЛПС), CD16⁺ (низкоаффинный Fc-рецептор), CD119⁺ (рецептор IFN γ) и CD124⁺ (рецептор IL-4) клеток. В то же время среди активированных Мц/Мф GM-CSF снижал содержание не только CD197⁺ клеток, но также CD14⁺, CD16⁺, и CD119⁺ клеток, существенно не изменяя количество CD124⁺ клеток. Также показано, что GM-CSF в концентрации 10 нг/мл обладал способностью усиливать продукцию активированными Мц/Мф TNF α и IL-6, но не IL-1 β и IL-10. Полученные данные указывают на способность GM-CSF оказывать на макрофагальные клетки как противовоспалительное, так и провоспалительное влияние. В целом такое влияние может способствовать развитию адаптивного иммунитета на периферии.

Ключевые слова: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, моноцит/макрофаг, CD-экспрессия, цитокины

DIRECT EFFECTS OF GM-CSF ON THE FUNCTIONS OF HUMAN MONOCYTES/MACROPHAGES

Gazatova N.D., Meniailo M.E., Malashchenko V.V., Goncharov A.G., Melashchenko O.B., Morozova E.M., Seledtsov V.I.

I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. We investigated direct effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on the surface properties and cytokine-producing activity of human monocytes/macrophages (Mc/Mphs). The

Адрес для переписки:

Селедцов Виктор Иванович
ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»
236001, Россия, г. Калининград, ул. Гайдара, 6, каб. 406.
Тел.: 8 (915) 263-60-27.
E-mail: seledtsov@rambler.ru

Address for correspondence:

Seledtsov Victor I.
I. Kant Baltic Federal University
236001, Russian Federation, Kaliningrad, Gaidar str., 6-406.
Phone: 7 (915) 263-60-27.
E-mail: seledtsov@rambler.ru

Образец цитирования:

Н.Д. Газатова, М.Е. Меняйло, В.В. Малащенко, А.Г. Гончаров, О.Б. Мелащенко, Е.М. Морозова, В.И. Селедцов «Прямые эффекты гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора на функциональные свойства моноцитов/макрофагов человека» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 3. С. 419-426. doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-419-426
© Газатова Н.Д. и соавт., 2019

For citation:

N.D. Gazatova, M.E. Meniailo, V.V. Malashchenko, A.G. Goncharov, O.B. Melashchenko, E.M. Morozova, V.I. Seledtsov "Direct effects of GM-CSF on the functions of human monocytes/macrophages", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 3, pp. 419-426.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-419-426
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-3-419-426

CD14⁺ cells were isolated from peripheral blood of healthy donors by positive magnetic separation. The isolated M_c/M_{phs} were cultured with lipopolysaccharide (LPS, 1 µg/ml) or without LPS for 24 hours. Membrane expression of CD14, CD16, CD119, CD124, and CD197 molecules was assessed by flow cytometry. The contents of tumor necrosis factor-α (TNFα), interleukin-1β (IL-1β), IL-6 and IL-10 in culture supernatants were determined by the enzyme immunoassay technique. It was found that GM-CSF at a concentration range of 0.01-10 ng/ml did significantly reduce the number of cells expressing CD197 (CC receptor of chemokine 7), without significantly affecting the percentage of CD14⁺ (coreceptor of LPS), CD16⁺ (low-affinity Fc receptor), CD119⁺ (IFN_γ receptor) and CD124⁺ (IL-4 receptor) cells. At the same time, GM-CSF reduced the contents of CD197⁺ macrophages, as well as CD14⁺, CD16⁺, and CD119⁺ cells among the activated cell population, without significantly altering the number of CD124⁺ cells. It was also shown that GM-CSF (10 ng/ml), was able to enhance production of TNFα and IL-6, but not IL-1β and IL-10 by activated M_c/M_{phs}. The results obtained indicate the ability of GM-CSF to exert both anti-inflammatory and pro-inflammatory effects upon macrophage cell populations. In general, such effects could contribute to the development of adaptive immunogenesis in peripheral tissues.

Keywords: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, monocyte/macrophages, CD-expression, cytokines

Введение

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) стимулирует рост и дифференцировку гранулоцитарных и макрофагальных клеток и играет важную роль в регуляции как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций. В частности, GM-CSF способен поддерживать дифференцировку и выживаемость дендритных клеток, запускающих антигензависимую пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов [14, 17] и регулирующих иммунные реакции на всем их протяжении [4, 7]. Важно, что GM-CSF вырабатывается не только в органах центрального гемопоеза, но и на периферии. Выработка этого цитокина резко возрастает в тканях, подвергшихся воспалению, что предполагает его вовлеченность в регуляцию иммунных процессов на периферии. GM-CSF может продуцироваться многими типами клеток, включая макрофаги (Мф), дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты, а также эндотелиальные клетки, фибробласты и гемопоэтические клетки [10, 22, 27].

Высокоаффинный рецептор для GM-CSF (GM-CSFR) представляет собой гетеродимерный комплекс, состоящий из специфичной для GM-CSF α-цепи и общей с рецепторами интерлейкина-3 (IL-3) и рецептором IL-5 сигнальной β-цепи [3]. GM-CSFR инициирует запуск JAK-STAT сигнального пути, активирует киназу семейства SRC и митоген-активированную протеинкиназу (МАРК) [13]. Связывание GM-CSF с рецептором запускает JAK2 и STAT-5 сигнальные пути, которые регулируют дифференцировку и функциональную активность клеток [5, 13], тогда как передача сигнала через PI3K поддерживает ростовую активность и выживаемость клеток [25]. GM-CSFR экспрессируется на гранулоцитах, на макрофагальных клетках, лимфоцитах и эндотелиальных клетках [2].

Очевидно, что основные эффекты GM-CSF на адаптивный иммунитет в значительной степени опосредуются макрофагальными клетками. Данная работа посвящена исследованию прямых эффектов GM-CSF на функциональную активность Мц/Мф человека.

Материалы и методы

Материалом для выделения клеток являлась венозная гепаринизированная кровь (20 мл), взятая стандартным методом из локтевой вены 14 условно здоровых доноров (мужчин и женщин в возрасте от 21 до 40 лет) с помощью вакуумных систем BD Vacutainer™ (Greiner-bio-one, Австрия). От каждого донора было получено информированное согласие.

Мононуклеарные клетки получали из крови посредством центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографин (Ficoll-Paque™ Premium sterile solution, GE Healthcare, США, плотность 1,077±0,001 g/ml). CD14⁺ позитивные клетки выделяли из МНК методом позитивной колоночной иммуномагнитной сепарации с использованием магнитных частиц, конъюгированных с анти-CD14-антителами (Ат), согласно инструкции компании Miltenyi Biotec (Германия). Подсчет выделенных клеток осуществляли на автоматическом счетчике частиц (Z2, Beckman Coulter, США). Для определения чистоты и жизнеспособности клеток использовали меченные PerCP анти-CD14-Ат (eBioscience, США) и пропидиум иодид (PI, eBioscience). Анализ проводили на проточном цитофлуориметре (BD Accuri®C6 Flow Cytometer, BD Biosciences) с использованием программного обеспечения C6 Flow Plus.

CD14⁺ Мц/Мф помещали в 24-луночный планшет в концентрации 1,0-1,5 × 10⁶ кл/мл и культивировали в среде TexMACS (Miltenyi Biotec) с 5,0 × 10⁻⁵ М2-меркаптоэтанолом (Acros Organics, США) во влажной атмосфере с 5% CO₂,

при 37 °С в течение 24 часов. В качестве активатора Мц/Мф использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) из *Salmonella typhi* (Пирогенал, МЕДГАМАЛ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Россия) в концентрации 1 мкг/мл. Рекомбинантный GM-CSF (Miltenyi Biotec) добавляли в пробы вместе с активатором в указанных ниже концентрациях.

Для оценки экспрессии CD14, CD16, CD119, CD124 и CD197 использовали Ат, конъюгированные с флуоресцентными метками: CD14-PerCP (eBioscience), CD16-FITC, CD119-PE, CD124-APC и CD197-AF488 (BioLegend, США). Настройку цветовой компенсации проводили с помощью одноцветных контролей. Для выставления границ зоны позитива использовали неокрашенный контроль и FMO-контроль. Уровень неспецифического связывания учитывали с помощью изотип-контролей (Iso IgG2a, – APC, PE, AF488 и Iso IgG1, κ – FITC, PE, BioLegend, США).

Концентрации интерлейкина-1β (IL-1β), IL-6, IL-10, и TNFα в культуральных супернатантах определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих тест-систем («Вектор-Бест», Россия). Анализ осуществляли на автоматическом иммуноферментном анализаторе (ChemWell 2910, Awareness Technology, inc., США).

Статистический анализ был выполнен с использованием IBM SPSS Statistics for Windows, версия 20.0 (Armonk, NY: IBM Corp). Ни одна из выборок не имела нормального распределения по критерию Колмогорова–Смирнова. Поэтому для сравнения независимых выборок использовался непараметрический критерий Манна–Уитни. Для исследуемых выборок были рассчитаны и представлены медиана (Me) с первым и третьим квартилями (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Различия между выборками считались значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты

На рисунке 1 представлена стратегия гейтирования, позволяющая идентифицировать CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD124⁺ и CD197⁺ клетки. Чистота выделенных магнитной сепарацией CD14⁺ клеток была на уровне 98,7 (92,5-99,4) %, жизнеспособность составляла 96,3 (94,0-99,8) %.

CD14 является высокоаффинным рецептором для ЛПС и других компонентов бактериальной стенки. Взаимодействие CD14 с лигандами индуцирует продукцию и высвобождение провоспалительных цитокинов [16]. CD16 (FCγRIII) молекулы участвуют в осуществляемых Мф цитолизисе и фагоцитозе опсонизированных Ат-клеток [19]. CD119 является рецептором интерферона-γ

(IFNγ). Взаимодействие этого рецептора со своим лигандом запускает классическую провоспалительную M1-активацию макрофагальных клеток [8]. CD124 является рецептором IL-4. Связывание этого рецептора со своим лигандом инициирует альтернативную противовоспалительную M2-активацию Мф [15]. CD197 представляет собой хемокиновый C-C рецептор 7 (CCR7). Он стимулирует миграцию Мц/Мф в Т-зависимые зоны лимфоидных органов, где они вовлекаются в адаптивный иммуногенез [18].

Как показано на рисунке 2 и следует из таблицы 1, GM-CSF в диапазоне концентраций 0,01-10,0 нг/мл существенно снижал содержание CD197⁺ клеток среди неактивированных Мф. При этом он не оказывал существенного влияния на количество клеток в CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺ и CD124⁺ субпопуляциях (табл. 1).

Активация Мц/Мф ЛПС приводила к статистически значимому увеличению количества только CD197⁺ клеток (с 8,31 (6,65-66,05) до 20,38 (7,88-50,75) $p < 0,05$). Как показано на рисунке 3 и в таблице 2, GM-CSF был способен снижать среди активированных Мф процентное содержание не только CD197⁺ клеток, но также CD14⁺, CD16⁺ и CD119⁺ клеток, не оказывая при этом существенного влияния на количество Мф, экспрессирующих CD124.

Активация ЛПС приводила к выраженному увеличению макрофагальной продукции TNFα, IL-1β, IL-6 и IL-10 (данные не представлены). Согласно данным, представленным в таблице 3, GM-CSF в максимальной концентрации (10 нг/мл) достоверно усиливал макрофагальную продукцию TNFα и IL-6, цитокинов, способных

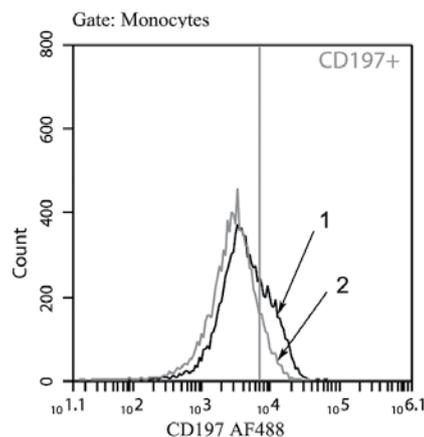


Рисунок 2. Гистограмма неактивированных CD197⁺ Мц/Мф

Примечание. 1 – неактивированные Мц/Мф, культивированные без GM-CSF; 2 – неактивированные Мц/Мф, культивированные с GM-CSF.

Figure 2. Histogram of non-activated CD197⁺ Mc/Mphs

Note. 1, non-activated Mc/Mphs without GM-CSF; 2, non-activated Mc/Mphs with GM-CSF.

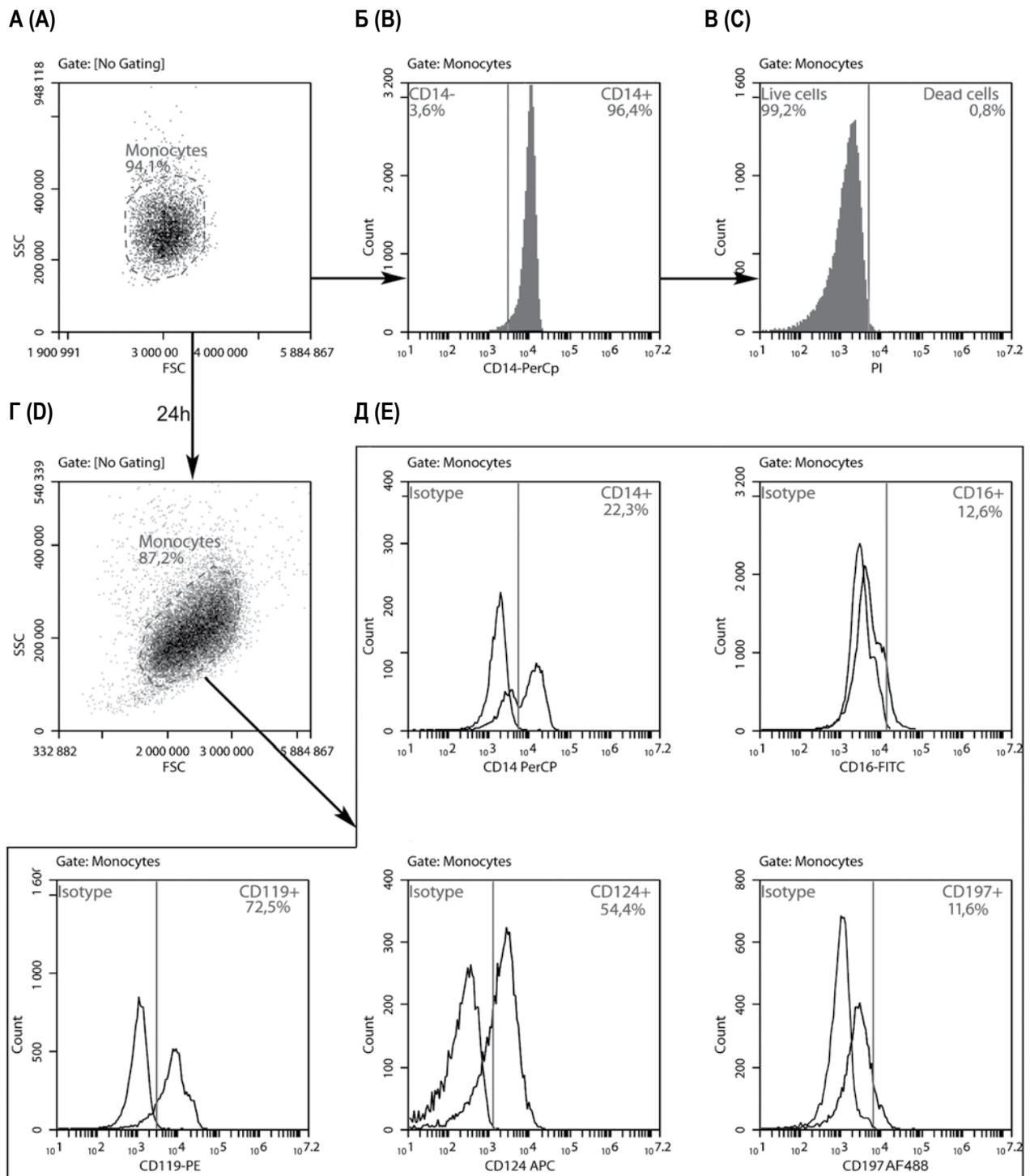


Рисунок 1. Алгоритм цитометрического анализа Мц/Мф

Примечание. А) распределение клеток по прямому (FSC) и боковому (SSC) светорассеянию до инкубации; Б) содержание CD14⁺ клеток до инкубации; В) жизнеспособность клеток, определяемая по окрашиванию PI: зона позитива – мертвые, зона негатива – живые; Г) распределение клеток по прямому (FSC) и боковому (SSC) светорассеянию после их культивирования; Д) содержание CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD124⁺ и CD197⁺ клеток среди прокультивированных Мц/Мф.

Figure 1. The flow cytometry algorithm for phenotyping of Mc/Mphs

Note. A) Forward scatter (FSC) vs. side scatter (SSC) dot plot of cells prior to incubation; B) Histogram of CD14⁺ cells prior to incubation; C) Cell viability, as visualized by PI staining: positive cells are dead, negative cells are alive; D) Forward scatter (FSC) vs. side scatter (SSC) dot plot of cells after 24 h incubation; E) Identification of CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD124⁺ and CD197⁺ cells among Mc/Mphs.

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD124⁺, CD197⁺ (%) КЛЕТОК СРЕДИ НЕАКТИВИРОВАННЫХ Мц/Мф

TABLE 1. CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD124⁺, CD197⁺ (%) CELLS AMONG Mc/Mphs WITHOUT ACTIVATION

Маркер Marker	GM-CSF (нг/мл) GM-CSF (ng/ml)				
	0,0	0,01	0,1	1,0	10,0
CD14 ⁺	25,05 (23,07-32,16)	32,30 (11,94-38,25)	22,76 (11,43-34,53)	23,82 (9,55-33,49)	19,72 (11,69-41,79)
CD16 ⁺	11,06 (4,87-16,35)	5,95 (3,82-11,60)	4,59 (3,52-17,39)	8,7 (3,32-17,09)	8,35 (3,32-18,32)
CD119 ⁺	83,16 (78,07-88,75)	74,58 (58,49-82,18)	80,79 (69,83-84,08)	81,32 (70,01-88,82)	82,65 (78,62-89,37)
CD124 ⁺	47,01 (14,76-57,57)	39,60 (11,55-54,93)	47,43 (11,22-55,10)	44,45 (11,41-55,48)	47,05 (9,64-55,13)
CD197 ⁺	8,31 (6,65-66,05)	3,68* (3,58-7,73)	3,23* (3,08-5,67)	6,29* (2,51-41,62)	5,4* (2,69-47,58)

Примечание. Здесь и далее данные представлены в виде медианы, в скобках первый и третий квартили; *p < 0,05 – в сравнении с клетками без GM-CSF.

Note. Here and further data was presented as median and first and third quartiles; *p < 0.05, compared with cells without GM-CSF.

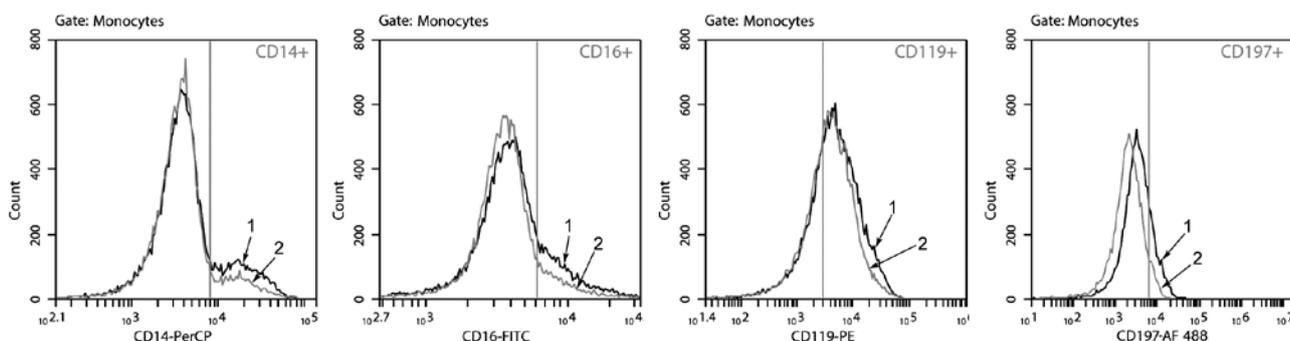


Рисунок 3. Гистограммы активированных CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD197⁺ Мц/Мф

Примечание. 1 – Мц/Мф, активированные без GM-CSF; 2 – Мц/Мф, активированные с GM-CSF.

Figure 3. Histograms of activated CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD197⁺ Mc/Mphs

Note. 1, activated Mc/Mphs without GM-CSF; 2, activated Mc/Mphs with GM-CSF.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD124⁺, CD197⁺ (%) КЛЕТОК СРЕДИ АКТИВИРОВАННЫХ Мц/Мф

TABLE 2. CD14⁺, CD16⁺, CD119⁺, CD124⁺, CD197⁺ (%) CELLS AMONG Mc/Mphs WITH ACTIVATION

Маркер Marker	GM-CSF (нг/мл) GM-CSF (ng/ml)				
	0,0	0,01	0,1	1,0	10,0
CD14 ⁺	25,01 (11,37-33,46)	18,42* (7,56-30,70)	20,99* (7,98-28,95)	20,91* (7,99-31,94)	20,35* (23,07-32,16)
CD16 ⁺	12,05 (4,94-24,10)	9,11* (3,27-14,29)	8,13* (3,60-16,96)	7,75* (3,55-13,47)	8,13* (3,77-12,70)
CD119 ⁺	84,55 (65,02-86,62)	77,92 (74,54-79,66)	77,15* (65,45-80,28)	78,31* (68,12-80,31)	79,29* (67,94-79,68)
CD124 ⁺	45,12 (15,91-56,74)	45,70 (14,31-53,22)	43,79 (16,83-54,3)	42,62 (16,92-53,26)	44,92 (16,11-53,05)
CD197 ⁺	20,38 (7,88-50,75)	12,34* (6,59-46,22)	16,55* (5,44-39,62)	11,60* (5,55-38,97)	11,52* (5,46-41,86)

Примечание. *p < 0,05 – в сравнении с клетками, активированными ЛПС в отсутствие GM-CSF.

Note. *p < 0.05, compared with activation cells without GM-CSF.

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ (пг/мл) В МАКРОФАГАЛЬНЫХ СУПЕРНАТАНТАХ

TABLE 3. CYTOKINE PRODUCTION (pg/ml) IN MACROPHAGE SUPERNATANTS

Цитокин Cytokine	GM-CSF (нг/мл) GM-CSF (ng/ml)				
	0,0 (без GM-CSF) (without GM-CSF)	0,01	0,1	1,0	10,0
TNF α	1198,2 (745,1-1553,6)	1284 (533,8-1638)	1166 (496,3-1516)	1282,2 (551,1-1599,8)	1418,6** (1002,4-1849,9)
IL-1 β	459,0 (265,8-507,6)	300,6 (118,2-621,6)	372,6 (183,6-683,4)	369,0 (337,8-754,8)	399 (288-757,8)
IL-6	8339 (4734-14577)	10881 (6328-13633)	9336 (5711-13269)	9192 (5103-13315)	12216** (8921-17225)
IL-10	118,98 (95,87-127,54)	124,95 (86,25-161,03)	139,2 (92,93-165,3)	93,6 (78,75-140,1)	89,85 (75,68-139,65)

Примечание. * $p < 0,05$ – в сравнении с клетками, активированными ЛПС в отсутствие GM-CSF.

Note. * $p < 0.05$, compared with activation cells without GM-CSF.

поддерживать воспаление. В то же время продукция IL-1 β и IL-10, осуществляемая активированными Мц/Мф, не претерпевала существенных изменений под воздействием GM-CSF.

Обсуждение

Макрофагальные клетки обладают эффекторными, антигенпрезентирующими и иммунорегуляторными свойствами. Они играют ключевую роль в механизме, обеспечивающем взаимодействие между врожденным и приобретенным иммунитетом. Активация Мф приводит к резкому усилению их функциональной активности. Различают два вида макрофагальной активации. Классическая макрофагальная активация развивается под действием ЛПС и цитокинов, продуцируемых Т-хелперами 1 типа, среди которых ключевую роль играет IFN γ . Активированные таким образом Мф обладают выраженной провоспалительной активностью, они высоко экспрессируют CD40 (рецептор из надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли альфа) и CD64 (высокоаффинный Fc-рецептор IgG), продуцируют TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-12 и IL-23, а также активные формы азота (NO) [26]. Классически активированные Мф обладают цитотоксическими свойствами и защищают организм от внутриклеточных патогенов [20]. Альтернативная макрофагальная активация развивается под действием глюкокортикоидов и цитокинов (IL-4, IL-10 и IL-13), продуцируемых Т-хелперами 2 типа. Такая активация приводит к усилению экспрессии CD163 (рецептор гемоглобин-гаптоглобиновых комплексов) и CD206 (маннозный рецептор), к стимуляции макрофагальной продукции противовоспалительных цитокинов, таких как трансформирующий ростовой фактор- β (transforming growth factor- β , TGF- β) и IL-10, и придает Мф

способность поддерживать регенеративные процессы [21]. Альтернативно активированные Мф играют важную роль в защите организма от внеклеточных патогенов [20].

В литературе доминирует мнение, что GM-CSF является провоспалительным цитокином, который способствует миграции макрофагальных клеток на периферию и поддерживает классическую M1-активацию Мф. Считается, что функциональный баланс между мигрировавшими M1 Мф и резидентными M2 Мф в значительной, если не в определяющей степени, определяет течение воспалительного процесса [12]. Однако, согласно недавно опубликованным данным, прямое ингаляционное воздействие GM-CSF на легочные Мф может придавать им противовоспалительные свойства [11]. Показано, что продукция GM-CSF в опухолевых очагах может способствовать альтернативной активации Мф, поддерживающей опухолевый рост [23]. Таким образом, GM-CSF, по-видимому, не является цитокином, односторонне поляризирующим макрофагальную активацию. Это предположение подтверждается данными, не показавшими доминирование экспрессии провоспалительных генов в Мф, подвергшихся воздействию GM-CSF [12].

Согласно данным, представленным в настоящей работе, роль GM-CSF в развитии воспаления может быть двоякой. С одной стороны, посредством локальной стимуляции макрофагальной продукции провоспалительных цитокинов, в том числе TNF α и IL-6, GM-CSF может стимулировать миграцию макрофагальных клеток в воспалительный очаг и поддерживать их выживаемость [6]. С другой стороны, за счет своего негативного влияния на экспрессию CD14, CD16, CD119 и, возможно, других молекул, являющихся рецепторами провоспалительных лигандов, GM-CSF

мог бы предотвращать (сдерживать) развитие избыточных воспалительных реакций, которые могут мешать сбалансированному иммуногенезу и приводить к чрезмерному тканевому повреждению.

В нашем исследовании GM-CSF снижал количество макрофагальных клеток, экспрессирующих хемокиновый рецептор CCR7, который опосредует хемотаксис клеток в лимфоидную ткань. Ранее было показано, что потеря иммунными клетками CCR7 и приобретение ими другого хемокинового рецептора CCR5, способствует их миграции в воспалительные ткани [1, 9]. В целом снижение на Мф экспрессии CCR7 должно содействовать накоплению Мф в очаге воспаления и сдерживанию их миграционной ак-

тивности в лимфатические узлы. Биологический смысл это феномена может заключаться в создании на периферии временных условий, необходимых для поглощения Мф антигенных молекул и их дифференцировки в дендритные клетки. Такая дифференцировка сопровождается приобретением дендритными клетками CCR7 и способности мигрировать в лимфатические узлы [24], где они запускают адаптивный иммуногенез.

Выводы

Полученные данные предполагают наличие многогранного влияния GM-CSF на макрофагальные клетки, которое в целом направлено на их вовлечение в адаптивный иммуногенез.

Список литературы / References

1. Кудрявцев И.В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 947-964. [Kudryavtsev I.V. Memory T cells: major populations and stages of differentiation. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8 (17), no. 4, pp. 947-964. (In Russ.)]
2. Becher B., Tugues S., Greter M. GM-CSF: from growth factor to central mediator of tissue inflammation. *Immunity*, 2016, Vol. 45, no. 5, pp. 963-973.
3. Broughton S.E., Nero T.L., Dhagat U., Kan W.L., Hercus T.R., Tvorogov D., Lopez A.F., Parker M.W. The β receptor family – Structural insights and their functional implications. *Cytokine*, 2015, Vol. 74, no. 2, pp. 247-258.
4. Codarri L., Gyulveszi G., Tosevski V., Hesse L., Fontana A., Magnenat L., Suter T., Becher B. ROR gamma t drives production of the cytokine GM-CSF in helper T cells, which is essential for the effector phase of autoimmune neuroinflammation. *Nat. Immunol.*, 2011, Vol. 12, no. 6, pp. 560-567.
5. Croxford A.L., Spath S., Becher B. GM-CSF in neuroinflammation: licensing myeloid cells for tissue damage. *Trends Immunol.*, 2015, Vol. 36, no. 10, pp. 651-662.
6. Darrietort-Laffite C., Boutet M.A., Chatelais M., Brion R., Blanchard F., Heymann D., le Goff B. IL-1 β and TNF α promote monocyte viability through the induction of GM-CSF expression by rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Mediators Inflamm.*, 2014, 241840. doi: 10.1155/2014/241840.
7. El-Behi M., Ciric B., Dai H., Yan Y., Cullimore M., Safavi F., Zhang G.X., Dittel B.N., Rostami A. The encephalitogenicity of T(H) 17 cells is dependent on IL-1- and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. *Nat. Immunol.*, 2011, Vol. 12, no. 6, pp. 568-575.
8. Eshleman E.M., Delgado C., Kearney S.J., Friedman R.S., Lenz L.L. Down regulation of macrophage IFNGR1 exacerbates systemic L. monocytogenes infection. *PLoS Pathog.*, 2017, Vol. 13, e1006388. doi: 10.1371/journal.ppat.1006388.
9. Geginat J., Sallusto F., Lanzavecchia A. Cytokine-driven proliferation and differentiation of human naive, central memory, and effector memory CD4⁺ T cells. *J. Exp. Med.*, 2001, Vol. 194, no. 12, pp. 1711-1720.
10. Greter M., Helft J., Chow A., Hashimoto D., Mortha A., Agudo-Cantero J., Boqunovic M., Gautier E.L., Miller J., Leboeuf M., Lu G., Aloman C., Brown B.D., Pollard J.W., Xiong H., Randolph G.J., Chipuk J.E., Frenette P.S., Merad M. GM-CSF controls nonlymphoid tissue dendritic cell homeostasis but is dispensable for the differentiation of inflammatory dendritic cells. *Immunity*, 2012, Vol. 36, no. 6, pp. 1031-1046.
11. Halstead, E. S., Umstead, T. M., Davies, M. L., Kawasawa, Y. I., Silveyra, P., Howyrlak, J., Yang L., Guo W., Hu S., Hewage E.K., Chronos Z.C. GM-CSF overexpression after influenza a virus infection prevents mortality and moderates M1-like airway monocyte/macrophage polarization. *Resp. Res.*, 2018, Vol. 19, no. 1, p. 3.
12. Hamilton T.A., Zhao C., Pavicic Jr P. G., Datta S. (2014). Myeloid colony-stimulating factors as regulators of macrophage polarization. *Front. Immunol.*, Vol. 5, p. 554.
13. Hercus T.R., Dhagat U., Kan W.L., Broughton S.E., Nero T.L., Perugini M., Sandow J.J., d'Andrea R.J., Ekert P.G., Hughes T., Parker M.W., Lopez A.F. Signalling by the β family of cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2013, Vol. 24, no. 3, pp. 189-201.
14. Hercus T.R., Thomas D., Guthridge M.A., Ekert P.G., King-Scott J., Parker M.W., Lopez A.F. The granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor: linking its structure to cell signaling and its role in disease. *Blood*, 2009, Vol. 114, no. 7, pp. 1289-1298.
15. Hurdayal R., Brombacher F. Interleukin-4 receptor alpha: from innate to adaptive immunity in murine models of Cutaneous Leishmaniasis. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 1354. doi: 10.3389/fimmu.2017.01354.
16. Lau M.Y., Dharmage S.C., Burgess J.A., Win A.K., Lowe A.J., Lodge C., Perret G., Hui J., Thomas P.S., Morrison S., Giles G.G., Hopper J., Abramson M.J., Walters E.H., Matheson M.C. The interaction between farming/

rural environment and TLR2, TLR4, TLR6 and CD14 genetic polymorphisms in relation to early- and late-onset asthma. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 7, 43681. doi: 10.1038/srep43681.

17. Mach N., Gillessen S., Wilson S.B., Sheehan C., Mihm M., Dranoff G. Differences in dendritic cells stimulated *in vivo* by tumors engineered to secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor or Flt3-ligand. *Cancer Res.*, 2000, Vol. 60, no. 12, pp. 3239-3246.

18. Meniailo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. Interleukin-8 favors pro-inflammatory activity of human monocytes/macrophages. *Int. Immunopharmacol.*, 2018, Vol. 56, pp. 217-221.

19. Mukherjee R., Barman P.K., Thatoi P.K., Tripathy R., Das B.K., Ravindran B. Non-classical monocytes display inflammatory features: validation in sepsis and systemic lupus erythematosus. *Sci. Rep.*, 2015, Vol. 5, 13886. doi: 10.1038/srep13886.

20. Seledtsov V.I., Seledtsova G.V. A balance between tissue-destructive and tissue-protective immunities: a role of toll-like receptors in regulation of adaptive immunity. *Immunobiology*, 2012, Vol. 217, no. 4, pp. 430-435.

21. Shapouri-Moghaddam A., Mohammadian S., Vazini H., Taghadosi M., Esmaeili S.A., Mardani F., Seifi B., Mohammadi A., Afshari J.T., Sahebkar A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J. Cell. Physiol.*, 2018, Vol. 233, no. 9, pp. 6425-6440.

22. Shiomi A., Usui T. Pivotal roles of GM-CSF in autoimmunity and inflammation. *Mediators Inflamm.*, 2015, Vol. 2015, 568543. doi: 10.1155/2015/568543.

23. Sielska M., Przanowski P., Wylot B., Gabrusiewicz K., Maleszewska M., Kijewska M., Zawadzka M., Kucharska J., Vinnakota K., Kettenmann H., Kotulska K., Grajkowska W., Kaminska B. Distinct roles of CSF family cytokines in macrophage infiltration and activation in glioma progression and injury response. *J. Pathol.*, 2013, Vol. 230, no. 3, pp. 310-321.

24. Son Y., Kim B.Y., Park Y.C., Kim K. Diclofenac Inhibits 27-hydroxycholesterol-induced differentiation of monocytic cells into mature dendritic cells. *Immune Netw.*, 2017, Vol. 17, no. 3, pp. 179-185.

25. van de Laar L., Coffey P.J., Woltman A.M. Regulation of dendritic cell development by GM-CSF: molecular control and implications for immune homeostasis and therapy. *Blood*, 2012, Vol. 119, no. 15, pp. 3383-3393.

26. Vogel D.Y., Glim J.E., Stavenhagen A.W., Breur M., Heijnen P., Amor S., Dijkstra C.D., Beelen R.H. Human macrophage polarization *in vitro*: maturation and activation methods compared. *Immunobiology*, 2014, Vol. 219, no. 9, pp. 695-703.

27. Wicks I.P., Roberts A.W. Targeting GM-CSF in inflammatory diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2016, Vol. 12, no. 1, pp. 37-48.

Авторы:

Газатова Н.Д. — научный сотрудник центра медицинских биотехнологий ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Меняйло М.Е. — младший научный сотрудник центра медицинских биотехнологий ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Малашченко В.В. — младший научный сотрудник центра медицинских биотехнологий ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Гончаров А.Г. — к.м.н., директор института живых систем ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Мелашченко О.Б. — научный сотрудник центра медицинских биотехнологий ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Морозова Е.М. — младший научный сотрудник центра медицинских биотехнологий ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Седецов В.И. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник центра медицинских биотехнологий ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Authors:

Gazatova N.D., Research Associate, Center of Medical Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Meniailo M.E., Junior Research Associate, Center of Medical Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Malashchenko V.V., Junior Research Associate, Center of Medical Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Goncharov A.G., PhD (Medicine), Director, Institute of Live Systems, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Melashchenko O.B., Research Associate, Center of Medical Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Morozova E.M., Junior Research Associate, Center of Medical Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Seledtsov V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Center of Medical Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Поступила 27.08.2018

Отправлена на доработку 19.09.2018

Принята к печати 20.09.2018

Received 27.08.2018

Revision received 19.09.2018

Accepted 20.09.2018