

Малышев И.Ю.

Эпигенетические, посттранскрипционные и метаболические механизмы репрограммирования макрофагов

- ¹ — Московский Государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Министерство образования и науки России, 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20
² — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Федеральное агентство научных организаций, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Ключевую роль в способности иммунитета адекватно реагировать на патогенные факторы играют макрофаги. В зависимости от микроокружения и типа инфекции макрофаги могут быстро менять свой фенотип на провоспалительный M1 или на противовоспалительный M2 фенотип. Процесс смены фенотипа клетки обозначается термином «репрограммирование». Этот процесс играет центральную роль в иммунном ответе и поэтому его нарушение провоцирует развитие болезней. Репрограммирование макрофагов обеспечивают внутриклеточные сигнальные пути. Эти пути могут также контролировать эпигенетические, посттранскрипционные и метаболические механизмы фенотипической активности макрофагов. Эпигенетические механизмы могут быть разделены на механизмы репрограммирования M1 и M2 фенотипа. Ключевым компонентом посттранскрипционной регуляции являются микро-мРНК (миР). На M1-стимулы и на M2 стимулы экспрессируются разные наборы миРов. МиРы могут формировать как механизмы положительной обратной связи для быстрого репрограммирования макрофагов, так и механизмы отрицательной обратной связи, для ограничения чрезмерного воспаления, в случае формирования M1 фенотипа, а в случае формирования M2 фенотипа — ограничения падения бактерицидной активности. Репрограммирование макрофагов приводит к изменению метаболизма этих клеток. Формирование M1 фенотипа сопровождается сдвигом метаболизма аргинина в сторону активации NO-синтазы и увеличения продукции NO, увеличением вклада гликолиза в продукцию АТФ, увеличением депонирования бактериостатического железа. Формирование M2 фенотипа сопровождается сдвигом метаболизма аргинина в сторону активации аргиназы 1 и увеличения продукции мочевины, увеличением синтеза АТФ в митохондриях и увеличенного захвата жирных кислот, увеличением захвата гемового железа. Метаболический контроль фенотипа макрофагов также осуществляется благодаря положительным и отрицательным обратным связям. В целом репрограммирование фенотипа макрофагов вовлекает хорошо согласованные между собой изменения активности сигнальных, эпигенетических и посттранскрипционных механизмов и метаболизма. Детальное понимание механизмов репрограммирования окажет помощь в выборе терапевтических мишеней при разработке новых эффективных способов коррекции нарушенного иммунитета.

Ключевые слова: макрофаги; иммунитет; репрограммирование

Malyshev I.Y.

Epigenetic, post-transcriptional and metabolic mechanisms of macrophage reprogramming

Moscow 1 State Medico-Stomatological University. A.I.Evdokimova. The Ministry of education and science of Russia. 127473, Moscow, Russia
Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of general pathology and pathophysiology», 125315, Moscow, Russia

A key role in the ability of immunity to adequately respond to pathogenic factors play macrophages. Depending on the type of infection and the microenvironment macrophages can rapidly change their phenotype towards the proinflammatory M1 or antiinflammatory M2 one. The process of changing the cell phenotype is termed «reprogramming». This process plays a central role in the immune response and therefore its disturbance triggers the development of disease. Reprogramming of macrophages is provided by intracellular signaling pathways. These paths can also control epigenetic, post-transcriptional and metabolic mechanisms of phenotypic activity of macrophages. Epigenetic mechanisms can be divided into the reprogramming mechanisms towards M1 and M2 phenotype. A key component of post-transcriptional regulation is micro-mRNA (miR). On M1- and M2- stimuli macrophages express different sets of miRs. MiRs may form a positive feedback mechanism for quick reprogramming of macrophages and negative feedback mechanisms, to limit excessive inflammation in the case of M1 phenotype and to restrict fall bactericidal activity in the case of M2 phenotype. Reprogramming of macrophages leads to a change in the metabolism of these cells. Formation of M1 phenotype accompanied by a shift of the arginine metabolism towards NO-synthase activation and increased production of NO, an increase in the contribution of glycolysis to ATP production, increased deposition of bacteriostatic iron. Formation of the M2 phenotype is

accompanied by a shift of the arginine metabolism towards arginase 1 activation and increasing production of urea, increased ATP synthesis in mitochondria and increased capture of fatty acids, increased the capture of heme iron. Metabolic control of macrophage phenotype also involves the positive and negative feedback. In general, macrophage reprogramming involves very good coordinated and adapted to each other changes in the activity of signaling, epigenetic, post-translational and metabolic mechanisms. A detailed understanding of the mechanisms of reprogramming will assist in selecting the correct effective therapeutic targets to develop new ways for correction of impaired immunity.

Keywords: immunity; macrophages; reprogramming

Сокращения: ЛПС — липополисахарид; МЖТ — макрофаги жировой ткани; миР — микроРНК; ПК — природные киллеры; ПАМП — патоген-ассоциированные молекулярные паттерны; ПРМ — паттерн-распознающих молекул; ПРР — паттерн-распознающих рецепторов; Akt — протеинкиназа В (PKB); С/ЕВРβ — СААТ/enhancer-binding proteins β; HIF — гипоксия-индуцируемый фактор транскрипции; IKK — IκB kinase; IRF — interferon regulatory factor; JAK — just another kinase или Janus kinase; JNK — С-Jun N-terminal kinase; MAP — mitogen-activated protein; M1 и M2 — фенотипы макрофагов; МНС — молекулы главного комплекса гистосовместимости; NO — оксид азота; PI3K — фосфатидилинозитол-3-киназа; PIP3 — фосфатидилинозитол 3,4,5-трифосфат; PPAR — peroxisome proliferator-activated receptor; RF-M1 — reprogramming factor M1; RF-M2 — reprogramming factor M2; SOCS1 — suppressor of cytokine signaling; STAT — signal transducers and activators of transcription; TAK1 — TGF-β activated kinase 1; TGF-β — трансформирующий фактор β; TLR — Toll-like receptor; TNF — tumor-necrosis factor

Введение

Выживание человека, как индивида, так и вида в целом, зависит от эффективности иммунной защиты. Эффективность иммунной защиты в свою очередь зависит от того, насколько иммунная система пластична, т.е. насколько быстро и адекватно она может менять свою функциональную активность в зависимости от макро- и микроокружения и действующих патогенных микробов. Ключевую роль в способности иммунитета адекватно реагировать на патогенные факторы играют тканевые резидентные макрофаги. Среди всех иммунных клеток, макрофаги являются самыми пластичными [1]. В зависимости от микроокружения и типа инфекции тканевые макрофаги могут быстро менять свой функциональный фенотип с провоспалительного M1 на противовоспалительный M2 и обратно [2; 3]. Процесс смены функционального фенотипа тканевых макрофагов обозначается термином «репрограммирование». Этот процесс играет центральную роль в иммунном ответе и поэтому его нарушение провоцирует развитие разных болезней [4].

Репрограммирование макрофагов сопровождается формированием нескольких биологических феноменов. Это:

1. Феномен усиления ответа макрофагов как на репрограммирующий фактор (прямое усиление), так и на другой фактор (перекрестное усиление). Например, репрограммирование с помощью IFN-γ усиливает последующий ответ макрофагов как на сам IFN-γ (прямое усиление), так и на ЛПС (перекрестное усиление).

2. Феномен реципрокного подавления альтернативного фенотипа. Существо феномена состоит в том,

что репрограммирование в сторону M1 не только усиливает продукцию воспалительных цитокинов, но также подавляет продукцию анти-воспалительных цитокинов, и возможность формирования M2 фенотипа, и наоборот.

3. Феномен каскадной активации механизмов репрограммирования обеспечивает очень быстрое формирование нужного фенотипа макрофагов.

4. Феномен положительных и обратных связей в механизмах репрограммирования. Механизмы положительной обратной связи обеспечивают быстрое формирование нужного функционального фенотипа макрофагов, например, провоспалительного M1 фенотипа при необходимости иммунного ответа уничтожить патогенный вирус, бактерию или опухолевую клетку. Механизмы отрицательной обратной связи предупреждают чрезмерную неадекватную активацию функционального фенотипа, которая, в случае репрограммирования M1 фенотипа, может привести к неконтролируемому воспалению, повреждению здоровых тканей и развитию провоспалительных заболеваний.

Репрограммирование макрофагов и формирование этих феноменов обеспечивают разные внутриклеточные сигнальные пути, такие, как JNK (С-Jun N-terminal kinase)-, PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа)/Akt-, Notch-, JAK(just another kinase)/STAT (signal transducers and activators)-, TGF-β (трансформирующий фактор β)/SMAD-/nonSMAD-, TLR (Toll-like receptor)/NF-κB- и гипоксия-зависимые пути [5; 6]. Анализ сигнальных путей репрограммирования выявил несколько ключевых особенностей их организации.

Для корреспонденции: Мальшев Игорь Юрьевич, зав. лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБНУ «НИИОПП», e-mail: iymalyshev1@gmail.com:

Во-первых, существует относительная специализация сигнальных путей репрограммирования макрофагов на действие разных компонентов микроокружения. Например, факторы роста, жирные кислоты и лиганды рецепторов, сопряженных с G белками, репрограммируют макрофаги с помощью JNK-зависимого пути, а микробная инвазия, точнее патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП), репрограммирует макрофаги, с помощью TLR-, PI3K/Akt- и Notch-зависимых путей.

Во-вторых, сигнальные пути репрограммирования макрофагов можно разделить на две группы: пути, которые преимущественно программируют M1 фенотип, например, JAK/STAT1- и NIF1-пути и пути, которые преимущественно программируют M2 фенотип, например, TGF- β /SMAD- и NIF2- пути.

В-третьих, сигнальные пути, которые передают сигнал от факторов репрограммирования макрофагов на M1 фенотип (RF-M1) и программируют провоспалительный M1 фенотип макрофагов, часто имеют ответвление, которое при его активации может увеличить продукцию противовоспалительных M2 цитокинов; и наоборот. Например, JNK-зависимые пути активируют факторы транскрипции M1 фенотипа, но могут активировать и фактор транскрипции M2 генов — SMAD3, а PI3K/Akt-зависимый путь через Akt2 программирует M1 фенотип, а через Akt1 — M2 и т.д. Биологический смысл такой конструкции сигнальных путей в том, чтобы предупредить избыточное воспаление и повреждение тканей при формировании M1 фенотипа (при необходимости уничтожить вирус или бактерию) или предупредить значительное снижение бактерицидной активности макрофагов и возможность развития аутоиммунных процессов при формировании M2 фенотипа (при необходимости уничтожить внеклеточных паразитов).

Сигнальные внутриклеточные пути играют исключительно важную, но как оказалось не единственную роль в репрограммировании макрофагов. Сигнальные пути могут активировать или ингибировать механизмы других уровней регуляции активности клетки и ее фенотипа, а именно: эпигенетические, посттранскрипционные и метаболические механизмы. Анализу этих механизмов репрограммирования макрофагов посвящен этот обзор.

1. Эпигенетические механизмы репрограммирования макрофагов

Эпигенетические механизмы — это механизмы, которые контролируют модификацию гистонов и других белков хроматина, которые активируют или блокируют экспрессию генов.

1.1. Формы эпигенетической модификации гистонов

Эти механизмы основаны на реакциях ацетилирования, метилирования и фосфорилирования. Благодаря этим реакциям эпигенетические механизмы контролируют взаимодействие промоторов генов с факторами транскрипции [7] и играют важную роль в репрограммировании фенотипа макрофагов [8].

Ацетилированные гистоны распознаются BET (bromodomain and extracellular domain) белками. Такое распознавание стимулирует транскрипционную элонгацию с помощью РНК полимеразы II [9]. Белки, которые распознают ацетилированные гистоны представляют большой интерес в качестве терапевтических мишеней. Так, было синтезировано соединение I-BET, которое препятствовало распознаванию ацетилированных гистонов BET белками. Благодаря этому I-BET препятствовал активации M1 генов в ЛПС-активированных макрофагах и защищал мышью от эндотоксического шока и сепсиса [10].

Метилирование, которое влияет на репрограммирование макрофагов происходит в форме:

- а) триметилирования гистона 3 на лизине 9 (H3K9), лизине 27 (H3K27) и лизине 79 (H3K79), которое подавляет транскрипцию генов;
- б) одновременных активирующих (H3K4me3 и 14-Ac) и репрессивных гистоновых модификаций (H3K9me3 и H3K27me3), которые формируют промежуточный транскрипционный статус;
- в) триметилирования гистона 3 на лизине 4 (H3K4), которое активирует транскрипцию гена [8; 11].

1.2. Сигнальные пути, контролирующие эпигенетические механизмы репрограммирования

Было показано, что в ответ на действие лигандов TLR фактор транскрипции PU.1 и C/EBP- открывают регуляторные регионы промоторов M1 генов, таких, как TNF-, IL-1 β , IL-6, IL-12p40 и CXCL10. TLR-зависимый сигнальный путь, также способствует диссоциации репрессоров от генных локусов. Благодаря этому деметилазы, такие как JMJD3, JMJD2d, PHF2 и AOF1 удаляют негативные метильные группы с гистонов [12; 13] и таким образом делают возможным транскрипцию генов, вовлеченных в M1 репрограммирование. Было показано, что препараты, которые ингибировали JMJD3 деметилазу (junonji H3K27) и родственные деметилазы подавляли продукцию ЛПС-индуцированных воспалительных M1 цитокинов в человеческих макрофагах [14].

Метилирование гистонов также контролируется содержанием кислорода. Так, в макрофагах, гипоксия приводит к угнетению активности junonji гистоновых

деметилаз, приводя к накоплению репрессивных метильных меток (H3K9me2/me3) и ингибированию генов кемокина Ccl2 и кемокиновых рецепторов Ccr1 и Ccr5 [15], вовлеченных в репрограммирование макрофагов.

В ремоделирование хроматина, помимо TLR- и гипоксия-зависимых сигнальных систем, могут быть вовлечены IFN-γ-зависимые сигнальные пути репрограммирования. Так было показано, что IFN-γ — фактор репрограммирования макрофагов на M1 фенотип, через активацию STAT1 запускает эпигенетическую перестройку хроматина, которая способствует активации экспрессии M1 генов [16]. Напротив, IL-4 — фактор репрограммирования макрофагов на M2 фенотип, через IRF4, индуцируя увеличение активности деметилаз JMJD3, модифицирует хроматин так, что экспрессия M2 генов облегчается, а M1 генов затрудняется [17; 18].

1.3. Ключевые положения и выводы об эпигенетических механизмах репрограммирования макрофагов

Во-первых, эпигенетические механизмы, также, как и сигнальные, можно разделить на механизмы репрограммирования M1 фенотипа и механизмы репрограммирования M2 фенотипа. Так, M1 репрограммированию фенотипа макрофагов способствует ацетилирование гистонов, распознаваемое BET белками при ЛПС-зависимом репрограммировании, удаление негативных метильных групп с гистонов с помощью деметилаз также при ЛПС-зависимом репрограммировании и STAT1-индуцированная модификация хроматина при IFN-γ-зависимом репрограммировании. M2 репрограммированию способствует накопление негативных метильных меток на гистонах, обусловленное снижением активности гистоновых деметилаз при гипоксическом репрограммировании и

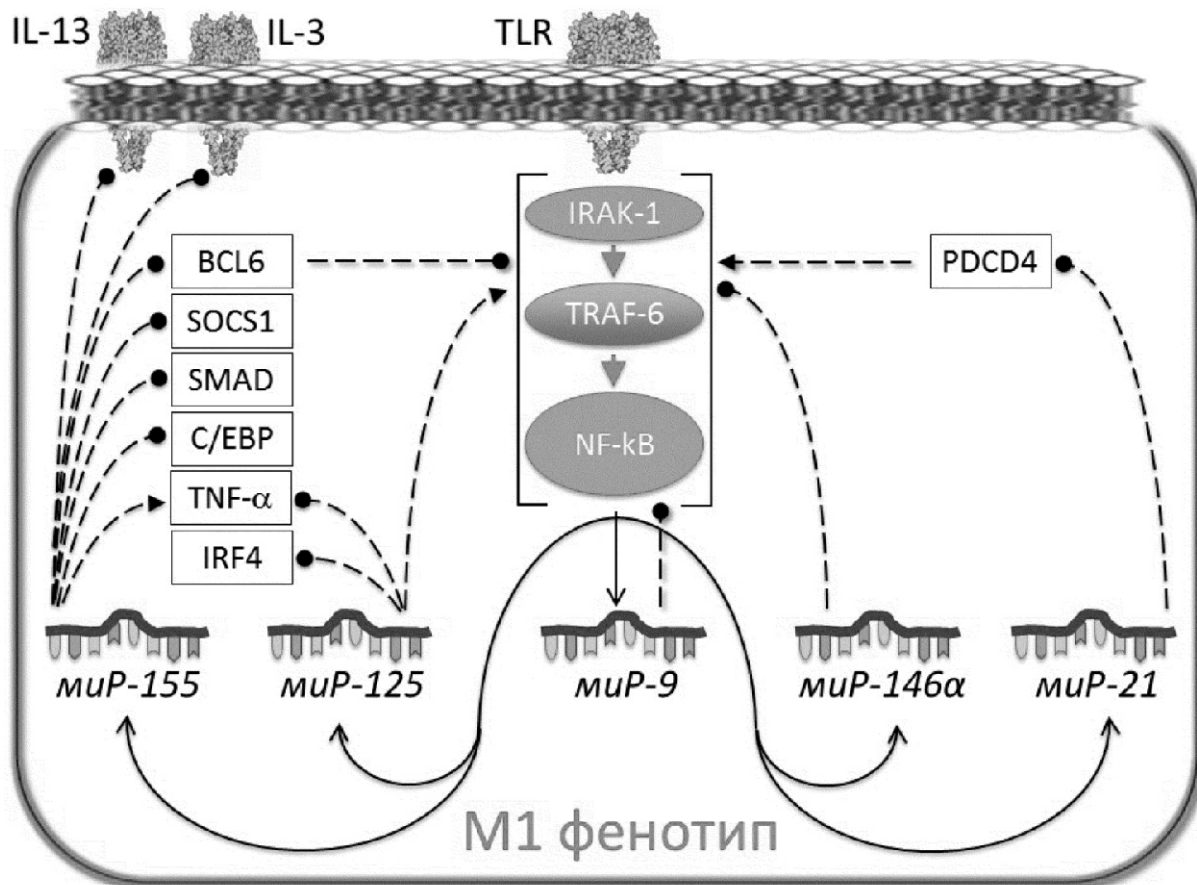


Рис. 1. Набор миРов, синтез которых увеличивается при действии M1 репрограммирующих факторов и миР-зависимые механизмы формирования M1 фенотипа:

миР — микроРНК; TNF — tumor-necrosis factor; IRF — interferon regulatory factor; C/EBPβ — CAAT/enhancer-binding proteins β; SOCS1 — suppressor of cytokine signaling; BCL6 — B-cell CLL/lymphoma 6 (протоонкоген); SMAD — фактор транскрипции; NF-κB — nuclear factor; TRAF6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor-6); IRAK-1 (IL-1R associated kinase); PDCD4- programmed cell death 4 (neoplastic transformation inhibitor); TLR — Toll-like receptor; IL-13 — Interleukin13.

IRF4-индуцированная JMJD3-зависимая модификация хроматина при IL-4-опосредованном репрограммировании.

Во-вторых, эпигенетические механизмы могут быть сопряжены с активацией сигнальных путей репрограммирования и опосредовать действие внешних репрограммирующих факторов. Это сопряжение отражает феномен каскадной активации механизмов репрограммирования.

2. Посттранскрипционные механизмы репрограммирования макрофагов

Ключевым элементом посттранскрипционной регуляции многих клеточных процессов, включая репрограммирование макрофагов, являются микроРНК (миР) [19]. МиРы представляют собой небольшие некодирующие молекулы РНК длиной 18—25 нуклеотидов. Они регулируют синтез белка через связы-

вание с мРНК. Связывание миР с мРНК ингибирует трансляцию белка [20]. Каждая отдельная миР может контролировать несколько мРНК. Кроме того, миР может взаимодействовать с ДНК в процессе РНК-зависимого метилирования ДНК, которое является одним из ключевых механизмов репрессии генов [21].

2.1. M1-репрограммирующие факторы, экспрессия специфического набора миРов и их эффекты на фенотип макрофагов

В человеческих и мышинных макрофагах, факторы репрограммирования активируют синтез специфических наборов миРов (рис. 1 и 2), которые дальше контролируют активацию макрофагов и баланс про- и противовоспалительных процессов. Так, RF-M1 через TLR индуцируют синтез миР-155, миР-21, миР-125, миР-9 и миР-146, а RF-M2 через глюкокортикоидный рецептор — миР-511, через рецептор IL-10 — миР-187 и через рецептор IL-4 — миР-378 [5; 22].

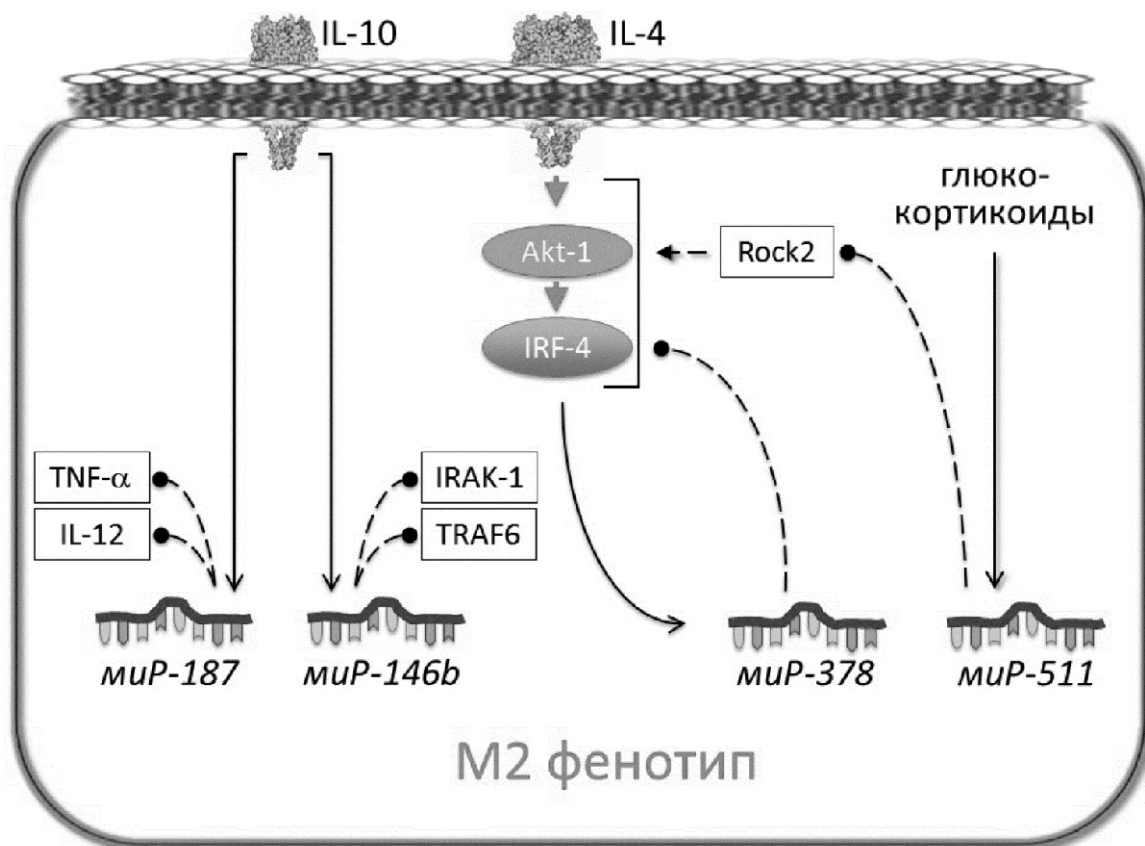


Рис. 2. Набор миРов, синтез которых увеличивается при действии M2 репрограммирующих факторов и миР-зависимые механизмы формирования M2 фенотипа:

миР — микроРНК; Akt — протеинкиназаВ (PKB); IRF4 — interferon regulatory factor; TNF — tumor-necrosis factor; IL12 — Interleukin12; IL10 — Interleukin10; IL4 — Interleukin4; IRAK1 — (IL-1R associated kinase); TRAF6 — (tumor necrosis factor receptor-associated factor-6); Rock2 — Rho-associated, coiled-coil, containing белок киназы 2.

Линии с окончанием в виде стрелки показывают активирующие влияния, а линии с окончанием в виде черного круга — ингибирующие.

Из всех миРов, синтез которых увеличивается при действии провоспалительных лигандов TLR, наиболее изученной оказалась миР-155 (рис. 1). МиР-155 увеличивает стабильность TNF- транскрипта [23], способствует развитию антивирусного иммунитета посредством снижения SOCS1 [24], блокирует рецепторы IL-13 [25] и IL-3 [26], блокирует фактор транскрипции SMAD2 и таким образом снижает M2-репрограммирующий эффект TGF- β [27], но также способствует развитию атеросклероза посредством блокирования трансляции фактора транскрипции BCL6, который угнетает провоспалительный NF- κ B-зависимый сигналинг [28].

Кроме того, мишенью миР-155 является фактор транскрипции C/EBP- β , который регулирует продукцию цитокинов [29]. Блокируя C/EBP- β миР-155 снижает продукцию IL-10, цитокина, который способствует M2 репрограммированию макрофагов. Было показано, что миР-155 может сдвигать M2 фенотип TAM в сторону M1 и таким образом усиливать антиопухольные свойства макрофагов [30].

Таким образом, миР-155 способствует формированию M1 фенотипа.

Формированию M1 фенотипа также способствуют, индуцируемые с TLR миР-29b и миР-125, которые увеличивают провоспалительный NF- κ B сигналинг [31; 32] и блокирует передачу сигнала с рецептора IL-4 на уровне IRF4 [33] (рис. 1). Вместе с тем миР-125a и b могут снижать стабильность TNF-транскрипта [34].

Другие миРы, индуцируемые в макрофагах с TLR при действии RF-M1, такие как миР-146a [35], миР-9 [36], миР-21 [37], и миР-147 [38], играют роль негативных регуляторов M1 репрограммирования макрофагов (рис. 1). Негативный эффект миР-146a связан с тем, что он блокирует IRAK-1 и TRAF6 в TLR- сигнальном пути [35]. Было показано, что этот негативный эффект миР-146a на TLR-индуцируемое воспаление играет важную роль в формировании толерантности макрофагов к ЛПС [39]. МиР-9 прямо [36], а миР-21 опосредованно через PDCD4 [37] подавляют провоспалительную активность NF- κ B.

Таким образом, индуцируемые с TLR миРы формируют регуляторную сеть, в конструкции которой четко различимы два функциональных контура (рис. 1):

1) механизм положительной обратной связи, который формируют миР-155 и миР-125 и который обеспечивает быстрое формирование M1 фенотипа с целью уничтожения инфекции;

2) механизм отрицательной обратной связи, который формируют миР-146a, миР-9, миР-21 и миР-147 и который, вероятно, призван ограничивать избыточное воспаление и повреждение тканей при иммунном ответе на инфекцию.

В M1 фенотипе также обнаружено увеличение миР-29b и миР-29b-1 [32]. Однако механизмы их влияния на фенотип макрофага еще недостаточно четко определены.

2.2. M2-репрограммирующие факторы, экспрессия специфического набора миРов и их эффекты на фенотип макрофагов

RF-M2 индуцируют в макрофагах другой набор миРов (рис. 2). Так, миР-187, синтез которого увеличивается при действии IL-10, содействует завершению воспаления посредством прямого действия на транскрипты TNF- и IL-12p40 [40]. Другой миР, синтез, которого увеличивается в ответ на стимуляцию M2 цитокина IL-10, миР-146b угнетает продукцию провоспалительных цитокинов действуя на ключевые элементы TLR пути [41].

IL-4 увеличивает экспрессию миР-378 [42]. МиР-378 располагается в первом интроне PPAR- γ гена и коэкспрессируется вместе с этим M2 геном, но действует как негативный регулятор M2 ответов, поскольку блокирует IL-4/PI3K/Akt сигнальный путь [42].

МиР-511 располагается в пятом интроне гена мазнозного рецептора (CD206) и коэкспрессируется в ответ на действие глюкокортикоидов в M2 макрофагах. МиР-511-3p нарушает трансляцию Rock2, фактора, который способствует M2 репрограммированию макрофагов за счет фосфорилирования IRF4 [43]. Таким образом, так же, как и миР-378, миР-511, является негативным регулятором противовоспалительного M2 ответа макрофагов.

Таким образом, индуцируемые RF-M2 с разных рецепторов миРы формируют регуляторную сеть, в конструкции которой также четко можно различить два функциональных контура (рис. 2):

1) механизм положительной обратной связи, который формируют миР-187 и миР-146b, который обеспечивает быстрое формирование M2 фенотипа с целью уничтожения паразитарной инфекции и репарации поврежденных тканей, а также предупреждения избыточного воспаления, индуцируемого вирусами и бактериями;

2) механизм отрицательной обратной связи, который формируют миР-378, миР-511, который ограничивает значительное снижение бактерицидной и антивирусной активности иммунитета при развитии Th2 ответа.

В M2 фенотипе макрофагов также увеличивается экспрессия миР-222, миР-27a, миР-125a-3p и миР-125a-5p. Показано, что они также могут влиять на продукцию цитокинов [32].

В целом, сложная внутриклеточная сеть миРов обладает всеми признаками регуляторного механизма

репрограммирования макрофагов, с наличием положительных и отрицательных обратных связей, специфичностью действия на рецепторы и ключевые внутриклеточные белки, которые участвуют в репрограммировании.

2.3. Ключевые положения и выводы о посттранскрипционных механизмах репрограммирования макрофагов

В целом, в отношении мiP-зависимой регуляции репрограммирования макрофагов можно сделать несколько обобщений.

1. Существует определенная специфичность в экспрессии мiPов на M1- и M2-репрограммирующие стимулы: на M1-стимулы экспрессируются мiP-155, мiP-21, мiP-29b, мiP-125, мiP-9 и мiP-146a и мiP-147, а на M2-стимулы — мiP-146b, мiP-511, мiP-187 и мiP-378 мiP-222, мiP-27a, мiP-125a-3p и мiP-125a-5p.

2. И мiPы, которые экспрессируются на M1-репрограммирующие факторы, и мiPы, которые экспрессируются на M2-репрограммирующие факторы, могут формировать механизмы положительной обратной связи для обеспечения быстрого репрограммирования фенотипа макрофагов, так и механизмы отрицательной обратной связи, для ограничения чрезмерного воспаления, в случае формирования M1 фенотипа, а в случае формирования M2 фенотипа ограничения значительного падения бактерицидной, противоопухолевой и противовирусной активности.

3. Понимание функций мiPов позволяет объяснить механизмы феноменов репрограммирования макрофагов.

Роль мiPов в феномене усиления ответа репрограммированных макрофагов сводится к тому, что они формируют положительную обратную связь, которая усиливает последующий ответ репрограммированных макрофагов. Например, мiP-155, экспрессия которого запускается с TLR через NF-κB блокирует трансляцию BCL6, который угнетает провоспалительный NF-κB-зависимый сигналинг [31]. Понятно, что при заблокированном BCL6 ответ репрограммированного макрофага на лиганды TLR будет сильнее.

Вклад мiPов в феномен редипрокнутого подавления альтернативного фенотипа определяется тем, что мiP, участвующий в формировании того или иного фенотипа макрофага может подавлять сигнальные пути формирования альтернативного фенотипа. Так, например, мiP-155, который участвует в формировании M1 фенотипа, блокирует сигнальные пути M2 фенотипа, а именно блокирует рецепторы IL-13, [25] и IL-3 [16], блокирует факторы транскрипции M2 фенотипа SMAD2 [27] и C/EBP-β [44].

МiPы вовлечены в феномен каскадной активации механизмов репрограммирования, благодаря тому, что синтез многих мiPов усиливается при активации цитокин-зависимых путей репрограммирования, как, например, это происходит, когда IL-10 увеличивает синтез мiP-146b.

3. Метаболическая регуляция репрограммирования макрофагов

Было установлено, что репрограммирование фенотипа макрофагов и изменение внутриклеточного метаболизма этих клеток оказывают друг на друга влияние [45].

3.1. Влияние фенотипа макрофагов на клеточный метаболизм

При репрограммировании макрофагов, наиболее хорошо изучены изменения метаболизма аргинина. В M1 фенотипе макрофагов аргинин катаболизируется индуцибельной NOS и в результате увеличивается синтез NO, тогда как в M2 фенотипе увеличенный синтез аргиназы 1 переключает метаболизм аргинина на продукцию мочевины, которая необходима для синтеза коллагена [46]. Установлено, что ответственным за увеличения синтеза аргиназы 1 в M2 макрофагах является тирозин-киназный рецептор Ron [47].

M1 и M2 фенотипы клеток сильно отличаются по способу производства энергии: в M1 макрофагах АТФ синтезируется в основном с помощью гликолиза, тогда как в M2 макрофагах — с помощью окислительного фосфорилирования [44]. Для того, чтобы обеспечить окислительное фосфорилирование достаточным количеством субстратов, в M2 макрофагах увеличена способность захватывать жирные кислоты [44]. Эти данные демонстрируют связь между воспалением и ожирением, и позволяют понять почему провоспалительный M1 фенотип макрофагов способствует развитию метаболического синдрома. Это связано с тем, что способность захватывать и утилизировать жирные кислоты у M1 макрофагов жировой ткани при ожирении существенно снижена, по сравнению с M2 фенотипом жировой ткани нормального организма [44].

Жирные кислоты имеют прямой эффект на репрограммирование макрофагов, потому что сенсоры жирных кислот PPAR-γ и PPAR-δ вовлечены в регуляцию экспрессию генов M2 фенотипа [48; 49].

Наконец, разные фенотипы макрофагов по-разному регулируют метаболизм железа [50]. В M1 макрофагах увеличена экспрессия генов, контролирующих захват и депонирование бактериостатического железа, тогда как в M2 макрофагах благодаря увеличенной экспрессии гемовых рецепторов (CD163, CD91,

heme carrier protein 1) происходит усиленный захват гемового железа. В M2 макрофагах гемовое железо катаболизируется с помощью heme oxygenase 1 до CO, биливердин/билирубина [51] и свободного железа, который затем экспортируется из клетки. Метаболизм железа в M2 макрофагах не только позволяет удалять токсичные молекулы гема из окружающей среды, что согласуется с функцией «чистильщика» M2 макрофагов, но также обеспечивает вклад в формирование противовоспалительных свойств и механизмов тканевой репарации у этого фенотипа макрофагов. Так, различная экспрессия молекул, вовлеченных в метаболизм железа, влияет как на внутриклеточную доступность железа, так и на взаимодействие макрофагов с паренхимальными клетками. Сниженная внутриклеточная биодоступность железа в M2 макрофагах негативно влияет на активность NF-κB и трансляцию TNF-α и IL-6 [52]. С другой стороны, увеличенная доступность железа в экстраклеточной среде, поддерживаемая M2 макрофагами, оказывает влияние на скорость роста фибробластов и таким образом содействует биосинтезу коллагена во время восстановительных процессов [53].

3.2. Влияние клеточного метаболизма на фенотип макрофагов

Влияние функционального фенотипа макрофагов на клеточный метаболизм не является односторонним, изменение метаболизма также существенно влияет на фенотип клеток. Так, например, как указано выше, M2 макрофаги увеличивают способность захватывать жирные кислоты [44]. Далее выяснилось, что жирные кислоты могут оказывать противоположные эффекты на формирование функционального фенотипа макрофагов. С одной стороны, жирные кислоты, действуя на PPAR-γ и PPAR-δ могут блокировать активность JNK (активатор генов M1 фенотипа), и таким образом способствовать формированию M2 фенотипа [24; 48], а с другой стороны, через активацию MLK3 (mixed-lineage kinase 3) могут активировать JNK, и благодаря этому, репрограммировать макрофаги на M1 фенотип [37; 54].

Действие жирных кислот на PPAR-γ и PPAR-δ отражает формирование положительной обратной связи в формировании M2 фенотипа и вероятно представляет собой компенсаторную реакцию нормальных макрофагов на увеличение концентрации жирных кислот. Действие жирных кислот на MLK3 и активация JNK, отражает формирование отрицательной обратной связи, которая предупреждает значительное снижение бактерицидных и противовирусных свойств M2 фенотипа нормальных макрофагов. Однако в условиях ожирения и больших концентраций жирных кислот, особенно насыщенных, MLK3/JNK-за-

висимый путь, вероятно, может привести к формированию патогенетического провоспалительного M1 фенотипа макрофагов жировой ткани и способствовать развитию инсулинорезистентности [55].

Есть большое количество данных о влиянии измененного гипоксией метаболизма на репрограммирование макрофагов [56, 57]. В этом случае макрофаги приобретают M1 фенотип, если их активирует фактор транскрипции HIF-1, или M2 — если HIF-2.

3.3. Ключевые положения и выводы о механизмах метаболической регуляции репрограммирования макрофагов

1. Репрограммирование макрофагов приводит не только к изменению функциональных свойств, но и метаболизма этих клеток.

Формирование M1 фенотипа сопровождается сдвигом метаболизма аргинина в сторону активации NO-синтазы и увеличения продукции NO, увеличением вклада гликолиза в продукцию АТФ, увеличением захвата и депонирования бактериостатического железа. Формирование M2 фенотипа сопровождается сдвигом метаболизма аргинина в сторону активации аргиназы 1 и увеличения продукции мочевины, увеличением синтеза АТФ за счет окислительного фосфорилирования и увеличенного захвата жирных кислот, увеличением захвата гемового железа.

2. Изменение метаболизма существенно влияет на репрограммирование функционального фенотипа макрофагов.

Метаболический контроль фенотипа макрофагов может осуществляться благодаря формированию положительных и отрицательных обратных связей. Например, положительная обратная связь формируется, когда увеличение концентрации жирных кислот через PPAR-γ и PPAR-δ блокирует активность JNK, и таким образом способствует формированию M2 фенотипа, который имеет повышенную способность к захвату жирных кислот. Отрицательная обратная связь формируется, когда жирные кислоты через MLK3 активируют JNK, и таким образом способствуют формированию M1 фенотипа, который имеет сниженную способность к захвату жирных кислот.

Заключение

В целом становится понятным, что репрограммирование функционального фенотипа макрофагов вовлекает хорошо согласованные между собой изменения активности внутриклеточных сигнальных систем, эпигенетических и посттрансляционных механизмов и изменения метаболизма этих клеток. Нарушение репрограммирования макрофагов играет важную роль в развитии заболеваний. Поэтому, детальное понима-

ние, какие белки, ферменты и мРНК вовлечены в репрограммирование, окажет помощь в выборе терапевтических мишеней при разработке новых эффективных способов коррекции нарушенного иммунитета.

Обзор написан при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России (Соглашение от 17 июня 2014 г. № 14.604.21.0020, Уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI60414X0020).

References

- Martinez-Nunez R.T., Louafi F., Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor alpha1 (IL-13Ra1). *J Biol Chem.* 2011; 286: 1786-94.
- Benoit M., Desnues B., Mege J.L. Macrophage polarization in bacterial infections. *J Immunol.* 2008; 181 (6): 3733-9.
- Saccani A., Schioppa T., Porta C., Biswas S.K., Nebuloni M., Vago L. et al. p50 nuclear factor-kappaB overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance. *Cancer Res.* 2006; 66 (23): 11432-40.
- Gordon S., Martinez F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity.* 2010; 32 (5): 593-604.
- Locati M., Mantovani A., Sica A. Macrophage activation and polarization as an adaptive component of innate immunity. *Adv Immunol.* 2013; 120: 163-84.
- Zhou D., Huang C., Lin Z., Zhan S., Kong L., Fang C. et al. Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways. *Cell Signal.* 2014; 26 (2): 192-7.
- Ivashkiv L.B. Epigenetic regulation of macrophage polarization and function. *Trends Immunol.* 2013; 34 (5): 216-23.
- Medzhitov R., Horng T. Transcriptional control of the inflammatory response. *Nat Rev Immunol.* 2009; 9 (10): 692-703.
- Jang M.K., Mochizuki K., Zhou M., Jeong H.S., Brady J.N., Ozato K. The bromodomain protein Brd4 is a positive regulatory component of P-TEFb and stimulates RNA polymerase II-dependent transcription. *Mol Cell.* 2005; 19 (4): 523-34.
- Nicodeme E., Jeffrey K.L., Schaefer U., Beinke S., Dewell S., Chung C.W. et al. Suppression of inflammation by a synthetic histone mimic. *Nature.* 2010; 468 (7327): 1119-23.
- Barski A., Cuddapah S., Cui K., Roh T.Y., Schonnes D.E., Wang Z. et al. High resolution profiling of histone methylations in the human genome. *Cell.* 2007; 129 (4): 823-37.
- Stender J.D., Pascual G., Liu W., Kaikkonen M.U., Do K., Spann N.J. et al. Control of proinflammatory gene programs by regulated trimethylation and demethylation of histone H4K20. *Mol Cell.* 2012; 48 (1): 28-38.
- Zhu Y., van Essen D., Saccani S. Cell-type-specific control of enhancer activity by H3K9 trimethylation. *Mol Cell.* 2012; 46 (4): 408-23.
- Kruidenier L., Chung C.W., Cheng Z., Liddle J., Che K., Joberty G. et al. A selective jumonji H3K27 demethylase inhibitor modulates the proinflammatory macrophage response. *Nature.* 2012; 488 (7411): 404-8.
- Tausendschon M., Dehne N., Вьне В. Hypoxia causes epigenetic gene regulation in macrophages by attenuating Jumonji histone demethylase activity. *Cytokine.* 2011; 53 (2): 256-62.
- Chen J., Ivashkiv L.B. IFN-gamma abrogates endotoxin tolerance by facilitating Toll-like receptor-induced chromatin remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107 (45): 19438-43.
- Satoh T., Takeuchi O., Vandenbon A., Yasuda K., Tanaka Y., Kumagai Y. The Jmjd3-Irf4 axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection. *Nat Immunol.* 2010; 11 (10): 936-44.
- Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: In vivo veritas. *J Clin Invest.* 2012; 122 (3): 787-95.
- Ponomarev E., Veremeyko T., Weiner H. MicroRNAs are universal regulators of differentiation, activation and polarization of microglia and macrophages in normal and diseased CNS. *Glia.* 2013; 61 (1): 91-103.
- Bartel D.P. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell.* 2009; 136 (2): 215-33.
- Galitskiy V.A. The hypothesis about the mechanism of initiation of small RNA of DNA methylation de novo and allelic exclusion. *Tsitologiya.* 2008; 50 (4): 277-86. (in Russian)
- Mantovani A., Locati M. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization: lessons and open questions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33 (7): 1478-83.
- Bala S., Marcos M., Kodys K., Csak T., Catalano D., Mandrekar P. et al. Up-regulation of microRNA-155 in macrophages contributes to increased tumor necrosis factor alpha (TNF{alpha}) production via increased mRNA half-life in alcoholic liver disease. *J Biol Chem.* 2011; 286 (2): 1436-44.
- Wang P., Hou J., Lin L., Wang C., Liu X., Li D. et al. Inducible microRNA-155 feedback promotes type I IFN signaling in antiviral innate immunity by targeting suppressor of cytokine signaling 1. *J Immunol.* 2010; 185 (10): 6226-33.
- Martinez-Nunez R.T., Louafi F., Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor alpha1 (IL-13Ra1). *J Biol Chem.* 2011; 286: 1786-94.
- Chen J., Olsen J., Ford S., Mirza S., Walker A., Murphy J.M. et al. A new isoform of interleukin-3 receptor α with novel differentiation activity and high affinity binding mode. *J Biol Chem.* 2009; 284 (9): 5763-73.
- Louafi F., Martinez-Nunez R.T., Sanchez-Elsner T. MicroRNA-155 targets SMAD2 and modulates the response of macrophages to transforming growth factor- β . *J Biol Chem.* 2010; 285 (53): 41328-36.
- Nazari-Jahantigh M., Wei Y., Noels H., Akhtar S., Zhou Z., Koenen R.R. et al. MicroRNA-155 promotes atherosclerosis by repressing Bcl6 in macrophages. *J Clin Invest.* 2012; 122 (11): 4190-202.
- Ramji D.P., Foka P. CCAAT/enhancer-binding proteins: structure, function and regulation. *Biochem J.* 2002; 365 (Pt 3): 561-75.
- He M., Xu Z., Ding T., Kuang D.M., Zheng L. MicroRNA-155 regulates inflammatory cytokine production in

tumor-associated macrophages via targeting C/EBPbeta. *Cell Mol Immunol.* 2009; 6 (5): 343-52.

31. Kim S.W., Ramasamy K., Bouamar H., Lin A.P., Jiang D., Aguiar R.C. MicroRNAs miR-125a and miR-125b constitutively activate the NF-kappaB pathway by targeting the tumor necrosis factor alpha-induced protein 3 (TNFAIP3, A20). *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109 (20): 7865-70.

32. Graff J.W., Dickson A.M., Clay G., McCaffrey A.P., Wilson M.E. Identifying functional microRNAs in macrophages with polarized phenotypes. *J Biol Chem.* 2012; 287 (26): 21816-25.

33. Chaudhuri A.A., So A.Y., Sinha N., Gibson W.S., Taganov K.D., O'Connell R.M. et al. MicroRNA-125b potentiates macrophage activation. *J Immunol.* 2011; 187 (10): 5062-8.

34. Tili E., Michaille J.J., Cimino A., Costinean S., Dumitru C.D., Adair B. et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF-alpha stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. *J Immunol.* 2007; 179 (8): 5082-9.

35. Taganov K.D., Boldin M.P., Chang K.J., Baltimore D. NF-kappaB dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103 (33): 12481-6.

36. Bazzoni F., Rossato M., Fabbri M., Gaudiosi D, Mirollo M, Mori L. et al. Induction and regulatory function of miR-9 in human monocytes and neutrophils exposed to pro-inflammatory signals. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106 (13): 5282-7.

37. Sheedy F.J., Palsson-McDermott E., Hennessy E.J., Martin C., O'Leary J.J., Ruan Q. et al. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21. *Nat Immunol.* 2010; 11 (2): 141-7.

38. Liu G., Friggeri A., Yang Y., Park Y.J., Tsuruta Y., Abraham E. miR-147 a microRNA that is induced upon Toll-like receptor stimulation regulates murine macrophage inflammatory responses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106 (37): 15819-24.

39. Nahid M.A., Pauley K.M., Satoh M., Chan E.K. miR-146a is critical for endotoxin-induced tolerance: Implication in innate immunity. *J Biol Chem.* 2009; 284 (50): 34590-9.

40. Rossato M., Curtale G., Tamassia N., Castellucci M, Mori L, Gasperini S. et al. IL-10-induced microRNA-187 negatively regulates TNF-alpha, IL-6, and IL-12p40 production in TLR4-stimulated monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109 (45): E3101-10.

41. Curtale G., Mirollo M., Renzi T.A., Rossato M., Bazzoni F., Locati M. Negative regulation of toll-like receptor 4 signaling by the IL-10 dependent microRNA-146b. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110 (28): 11499-504.

42. Rossato M., Curtale G., Tamassia N., Castellucci M., Mori L., Gasperini S. et al. Induction of IL-4Ralpha-dependent microRNAs identifies PI3K/Akt signaling as essential for IL-4-driven murine macrophage proliferation in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109 (45): E3101-10.

43. Squadrito M.L., Etzrodt M., De Palma M., Pittet M.J. MicroRNA-mediated control of macrophages and its implications for cancer. *Trends Immunol.* 2013; 34 (7): 350-9.

44. Odegaard J.I., Chawla A. Alternative macrophage activation and metabolism. *Annu Rev Pathol.* 2011; 6: 275-97.

45. O'Neill L.A., Hardie D.G. Metabolism of inflammation limited by AMPK and pseudo-starvation. *Nature.* 2013; 493 (7432): 346-55.

46. Modolell M., Corraliza I.M., Link F., Soler G., Eichmann K. Reciprocal regulation of the nitric oxide synthase/arginase balance in mouse bone marrow-derived macrophages by TH1 and TH2 cytokines. *Eur J Immunol.* 1995; 25 (4): 1101-4.

47. Sharda D.R., Yu S., Ray M., Squadrito M.L., De Palma M., Wynn T.A. et al. Regulation of macrophage arginase expression and tumor growth by the Ron receptor tyrosine kinase. *J Immunol.* 2011; 187 (5): 2181-92.

48. Kang K., Reilly S.M., Karabacak V., Gangl M.R., Fitzgerald K, Hatano B. et al. Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPARdelta regulate macrophage polarization and insulin sensitivity. *Cell Metab.* 2008; 7 (6): 485-95.

49. Odegaard J.I., Ricardo-Gonzalez R.R., Goforth M.H., Morel C.R., Subramanian V., Mukundan L. et al. Macrophage-specific PPARgamma controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature.* 2007; 447 (7148): 1116-20.

50. Recalcati S., Locati M., Marini A., Santambrogio P., Zaninotto F., De Pizzol M. et al. Differential regulation of iron homeostasis during human macrophage polarized activation. *Eur J Immunol.* 2010; 40 (3): 824-35.

51. Cairo G., Recalcati S., Mantovani A., Locati M. Iron trafficking and metabolism in macrophages: contribution to the polarized phenotype. *Trends Immunol.* 2011; 32 (6): 241-7.

52. Wang L., Johnson E.E., Shi H.N., Walker W.A., Wessling-Resnick M., Cherayil B.J. Attenuated inflammatory responses in hemochromatosis reveal a role for iron in the regulation of macrophage cytokine translation. *J Immunol.* 2008; 181 (4): 2723-31.

53. Saclier M., Yacoub-Youssef H., Mackey A.L., Arnold L., Ardjoune H., Magnan M. et al. Differentially activated macrophages orchestrate myogenic precursor cell fate during human skeletal muscle regeneration. *Stem Cells.* 2013; 31 (2): 384-96.

54. Gadang V., Kohli R., Myronovych A., Hui D.Y., Perez-Tilve D., Jaeschke A. MLK3 promotes metabolic dysfunction induced by saturated fatty acid-enriched diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013; 305 (4): E549-56.

55. Han M.S., Jung D.Y., Morel C., Lakhani S.A., Kim J.K., Flavell R.A. et al. JNK expression by macrophages promotes obesity-induced insulin resistance and inflammation. *Science.* 2013; 339 (6116): 218-22.

56. Manukhina E.B, Goryacheva A.V., Malyshev I.Yu., Dauni G.F. The role of process of nitric oxide in the development of Alzheimer's disease and its prevention with the help of adaptation to hypoxia. *Patogenez.* 2013; 11 (1): 27-35. (in Russian).

57. Malyshev I.Yu., Kruglov S.V., Lyamina S.V. Hypoxia, inflammation and is phenotypic plasticity of macrophages: the central role of HIF-1 and NFkB. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2012; (3): 42-50. (in Russian)

Received 30.06.15