

Малышев И.Ю.

Феномены и сигнальные механизмы репрограммирования макрофагов

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

Процесс смены фенотипа макрофагов называется «репрограммированием». Репрограммирование играет центральную роль в иммунном ответе. Для репрограммированных макрофагов характерны четыре феномена: феномен усиления ответа макрофагов как на репрограммирующий фактор (прямое усиление), так и на другой фактор (перекрестное усиление); феномен реципрокного подавления альтернативного фенотипа; феномен каскадной активации механизмов репрограммирования и феномен положительных и обратных связей. Формирование этих феноменов обеспечивают внутриклеточные сигнальные пути, такие, как JNK-; PI3K/Akt-; Notch-; JAK/STAT-; TGF- β -; TLR/NF- κ B- и гипоксия-зависимые сигнальные пути. Анализ сигнальных механизмов репрограммирования позволил сделать несколько выводов. 1. Существует относительная специализация сигнальных путей в репрограммировании макрофагов на действие разных компонентов микроокружения; 2. Сигнальные пути, которые вовлечены в репрограммирование макрофагов можно разделить на пути, которые программируют M1 фенотип и пути, которые программируют M2 фенотип; 3. Понимание сигнальных путей помогает объяснить основные феномены репрограммирования. Так, в основе феномена усиления ответа репрограммированных макрофагов лежит конвергенция сигнальных путей на уровне определенного белка; в основе феномена реципрокного подавления альтернативного фенотипа макрофагов лежит тот факт, что формирование одного фенотипа сопровождается усилением синтеза молекул, которые подавляют альтернативный фенотип; в основе феномена каскадной активации сигнальных путей репрограммирования лежит способность одного пути передавать сигналы на другой путь и в основе феномена положительных и отрицательных обратных связей лежит способность сигнального пути увеличивать синтез, как активаторов этого пути, так и ингибиторов; 4. Сигнальные пути, которые передают сигнал от провоспалительных факторов и программируют провоспалительный M1 фенотип макрофагов, часто имеют ответвление, которое при его активации может увеличить продукцию противовоспалительных M2 цитокинов; и наоборот. Поскольку нарушение репрограммирования макрофагов играет важную роль в развитии многих заболеваний, понимание сигнальных механизмов репрограммирования, окажет помощь в выборе эффективных терапевтических мишеней при разработке новых способов коррекции нарушенного иммунитета.

Ключевые слова: макрофаги; иммунитет; репрограммирование; цитокины; сигнальные механизмы; факторы транскрипции

Malyshev I.Yu.

Phenomena and signaling mechanisms of macrophage reprogramming

Moscow 1state medico-stomatological University. A.I. Evdokimov. 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

The process of changing the phenotype of macrophages is called «reprogramming.» Reprogramming plays a central role in the immune response. Reprogrammed macrophages are characterized by four phenomena: the phenomenon of the gain response of macrophages on the reprogramming factor (direct gain), and the other factor (cross-gain); phenomenon of reciprocal suppression of alternative phenotypes; phenomenon of cascade activation for mechanisms of reprogramming and the phenomenon of positive and negative feedbacks. The formation of these phenomena provide the intracellular signaling pathways, such as JNK-; PI3K/Akt-; Notch-; JAK/STAT-; TGF- β -; TLR/NF- κ B- and hypoxia-dependent signaling pathways. Analysis of the signaling mechanisms of reprogramming led to several conclusions: 1. There is a relative specialization of signaling pathways in macrophages reprogramming on action of different components of the microenvironment; 2. signaling pathways that are involved in reprogramming of macrophages can be divided in the way that program M1 phenotype and the way that program M2 phenotype; 3. Understanding the signaling pathways helps to explain the basic phenomena of reprogramming. Thus, the phenomenon of the gain response of reprogrammed macrophages is provided by convergence signaling pathways at specific protein; phenomenon of reciprocal suppression alternative macrophage phenotype is provided by that the formation of one phenotype is accompanied by increased synthesis of molecules that inhibit an alternative phenotype; at the

heart of the phenomenon of cascade activation of signaling pathways is the ability one way to transmit signals over a different path and the basis for the phenomenon of positive and negative feedback is the ability to increase the synthesis of the activators and inhibitors of this pathway. 4. Signalling pathways that transmit the signal from the proinflammatory factors and programm proinflammatory M1 phenotype of macrophages are often branching, which, when activated, may increase the production of anti-inflammatory M2 cytokines; and vice versa. Since the violation reprogramming of macrophages plays an important role in the development of many diseases, understanding the signaling mechanisms of reprogramming, will assist in the selection of effective therapeutic targets to develop new ways of correction of impaired immunity.

Key words: *macrophages; the immune system; reprogramming; cytokines; signaling pathways; transcription factors*

Каждый день на человека действуют разные патогенные факторы. Это микробы, канцерогены и переданные от родителей мутации. Для организма жизненно важно быстро уничтожить патогенный фактор и восстановить нарушенный гомеостаз. Поэтому в ходе эволюции была выработана иммунная система, которая решает эти задачи. В этой системе за обнаружение и удаление патогенных клеток отвечают макрофаги. В зависимости от тканевого микроокружения, они приобретают долгосрочный уникальный тканевой фенотип «резидентных» макрофагов, например, фенотип Купфферовских клеток в печени или клеток Лангерганса в коже. Тканевые макрофаги могут быстро менять свой функциональный фенотип. Например, в начале воспаления они имеют провоспалительный M1 фенотип, а в конце — противовоспалительный M2 [1]. Процесс смены функционального фенотипа клетки называется «репрограммированием». Этот процесс играет центральную роль в иммунном ответе, и поэтому его нарушение провоцирует развитие разных болезней.

На фенотип макрофагов влияют иммунные факторы, такие, как цитокины; паттоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП), такие, как липополисахарид (ЛПС), которые распознаются паттерн-распознающими рецепторами (ПРР) макрофагов, например, Toll-like receptors (TLR); и физико-химические факторы, такие, как гипоксия, температура и рН. Факторы, которые сдвигают фенотип макрофага в сторону провоспалительного M1, например IFN- γ , обозначают как RF (reprogramming factor)-M1, а в сторону противовоспалительного M2, например IL-4 — как RF-M2 [2]. В обзоре будут рассмотрены ключевые феномены и сигнальные механизмы репрограммирования фенотипа макрофагов.

Роль разных фенотипов макрофагов в иммунном ответе

При встрече с вирусами или бактериями, макрофаги продуцируют воспалительные цитокины, такие, как IL-12 и TNF- α и кемокины [3]. Кемокины при-

влекают в фокус воспаления нейтрофилы, природные киллеры (ПК), Th- и T-лимфоциты. IL-12 и TNF- α действуя на ПК и макрофаги, увеличивают секрецию IFN- γ . IFN- γ еще больше стимулирует продукцию IL-12 и TNF- α макрофагами и таким образом усиливает их бактерицидные, противовирусные и антиопухолевые свойства.

Когда макрофаги встречаются с паразитами — грибами или гельминтами, они секретируют много противовоспалительных цитокинов, таких, как IL-4, IL-10, IL-13 и TGF- β и другие кемокины [3]. Эти кемокины привлекают Th-лимфоциты, эозинофилы и базофилы, продуцирующие IL-4 и IL-13 [4]. IL-4 и IL-13 еще больше стимулируют макрофаги к секреции IL-10 [4], который снижает продукцию воспалительных цитокинов [5], активных форм кислорода (АФК) и NO, и таким образом, снижает бактерицидные свойства макрофагов.

Реакции макрофагов, ПК, нейтрофилов, базофилов и эозинофилов на микробы или опухолевые клетки знаменуют собой развитие сенсорного и лимфоцит-независимого эффекторного звена иммунного ответа и первую волну программирования макрофагов [2]. При этом провоспалительный фенотип, формирующийся при действии ЛПС и/или IFN- γ , получил название M1, а противовоспалительный фенотип, формирующийся при действии IL-4, IL-13 и IL-10 — M2 [6, 7]. Маркерами M1 являются TLR-4, MAPK рецептор, CD25 и CD80, а маркерами M2 — маннозный рецептор, SR-A, CD163, CD209 и FIZZ1 [7].

Для эффективного уничтожения патогенных клеток, макрофаги и АПК запускают формирование лимфоцит-зависимого эффекторного звена иммунного ответа по клеточному или гуморальному типу.

При клеточном типе антиген-презентирующие клетки (АПК) и M1 макрофаги стимулируют дифференцировку Th0 клеток в Th1 клетки, а T клеток в CTL (Cytotoxic T Lymphocytes). M1 клетки вместе Th1 и CTL клетками убивают бактерии, вирусы, инфицированные и опухолевые клетки. Однако избыточная продукция провоспалительных медиаторов M1

фенотипом может приводить к повреждению тканей и развитию болезней. Механизмы переключения с M1 на M2 фенотип могут защитить организм от избыточного воспаления. Вместе с тем, известно, что опухолевые клетки и некоторые микробы сами индуцируют в макрофагах такое переключение, для того чтобы избежать своего уничтожения воспалительными медиаторами [1].

При гуморальном типе ответа, АПК и M2 макрофаги потенцируют развитие Th0 клеток в Th2 [8]. M2 макрофаги вместе с Th2 клетками обезвреживают паразитов и токсины, за счет высвобождения IL-4, который способствует усилению продукции антител В-клетками. [9]. Кроме того, M2 макрофаги участвуют в репарации тканей, ангиогенезе и фагоцитозе апоптотических клеток [10]. Однако избыточная активация M2 макрофагов может спровоцировать аллергические и астматические Th2 реакции [11] и рост опухоли [12].

Интересно, что Th1 клетки и CTL продуцируют провоспалительные цитокины, которые еще больше программируют макрофаги на M1 фенотип, а Th2 клетки — противовоспалительные цитокины, которые еще больше программируют макрофаги на M2 фенотип [7]. Так происходит вторая, возвратная волна программирования макрофагов.

Феномены репрограммирования макрофагов

Для репрограммированных макрофагов характерны четыре феномена.

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 провоспалительных цитокинов, но как правило, еще подавляет продукцию противовоспалительных 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 уничто-

жить патогенный вирус, бактерию или опухолевую клетку. Механизмы отрицательной обратной связи предупреждают чрезмерную активацию функционального фенотипа, которая, в случае репрограммирования M1 фенотипа, может привести к неконтролируемому воспалению, повреждению здоровых тканей и развитию провоспалительных заболеваний.

Формирование этих феноменов обеспечивают разные внутриклеточные сигнальные пути.

Сигнальные механизмы репрограммирования

В репрограммирование макрофагов вовлечены внутриклеточные сигнальные JNK-, PI3K/Akt-, Notch-, JAK/STAT-, TGF- β /SMAD-/nonSMAD-, TLR/NF- κ B- и гипоксия-зависимые пути [13].

1. JNK-сигнальный путь

в репрограммировании макрофагов

JNK (C-Jun N-terminal kinase)-сигнальный путь может быть активирован с рецепторов факторов роста, рецепторов цитокинов и рецепторов, сопряженных с G-белками. Роль JNK-пути в репрограммировании макрофагов была продемонстрирована на макрофагах жировой ткани (МЖТ). МЖТ нормальных мышей имеют M2 фенотип, тогда как МЖТ мышей с ожирением — M1 фенотип [14]. M1 фенотип МЖТ содействуют развитию инсулин-резистентности [14].

JNK-путь играет ключевую роль в репрограммировании МЖТ с противовоспалительного M2 на провоспалительный M1 фенотип и развитии резистентности к инсулину (рис. 1). При ожирении насыщенные жирные кислоты через активацию MLK3 (mixed-lineage kinase 3) активируют JNK, которая активирует

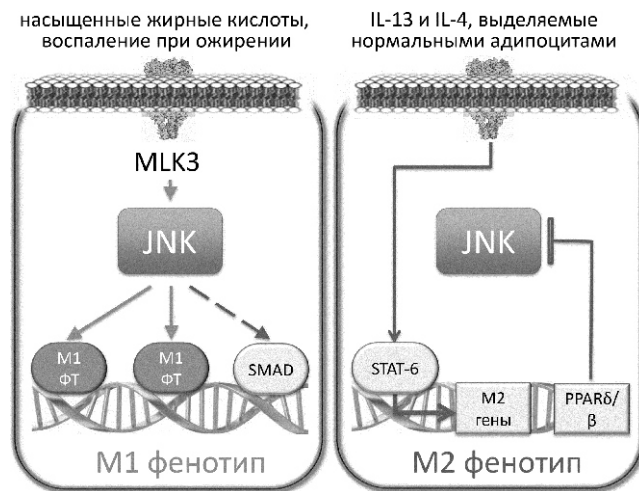


Рис. 1. JNK-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов жировой ткани при ожирении и в норме; ФТ — фактор транскрипции.

экспрессию провоспалительных генов, и благодаря этому репрограммирует макрофаги на M1 фенотип [13].

Вместе с тем, JNK может активировать и факторы транскрипции M2 фенотипа, например, SMAD3 [15]. Это позволяет предположить, что при определенных условиях JNK может быть вовлечен в формирование M2 фенотипа макрофагов.

Поддержание M2 фенотипа MЖТ в организме без ожирения связано с тем, что нормальные адипоциты продуцируют RF-M2: IL-13 и IL-4. Эти цитокины активируют в макрофагах фактор транскрипции STAT (signal transducers and activators of transcription)-6, который активирует экспрессию генов M2 фенотипа и гена PPARδ/β (macrophage peroxisome proliferator-activated receptor), который блокирует активацию JNK [17]. Оба эффекта поддерживают M2 фенотип MЖТ (рис. 1).

Таким образом, JNK-зависимый сигнальный путь:

1. Обеспечивает реакцию макрофагов на факторы роста, цитокины, жирные кислоты и лиганды рецепторов, сопряжённых с G-белками;
2. Вовлечен в репрограммирование макрофагов на M1 фенотип;
3. Содержит ответвление на SMAD3, что может ограничивать избыточную продукцию провоспалительных цитокинов.

2. PI3K/Akt-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов

Фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K) активируется с рецепторов цитокинов и TLR. PI3K катализирует продукцию фосфатидилинозитол 3,4,5-трифосфата (PIP3), который активирует протеинкиназу Akt. Семейство Akt объединяет три киназы Akt1, Akt2, и Akt3.

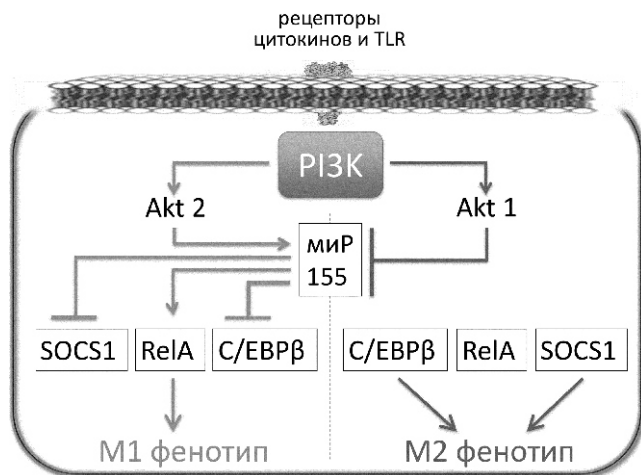


Рис. 2. PI3K/Akt-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов.

PI3K/Akt-сигнальный путь играет важную роль в активации и репрограммировании макрофагов [17]. При этом, интересно, что Akt1 способствует формированию M2, а Akt2 — M1 фенотипа [18; 19] (рис. 2). В Akt-зависимом репрограммировании макрофагов ключевую роль играет микроРНК-155 (miR-155) и ее мишень C/EBPβ (CAAT/enhancer-binding proteins β) [18; 20]. Akt2 увеличивает экспрессию miR-155, который активирует фактор транскрипции RelA/NF-κB и ингибирует SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1). Благодаря этому, Akt2 увеличивает экспрессию генов M1 фенотипа, таких, как iNOS и TNF-α. Akt1 напротив ингибирует miR-155, что приводит к увеличению C/EBPβ и увеличению экспрессии генов M2 фенотипа, таких как Arg1 и IL-10 [21].

A. Arranz et al. [18] и A. Androulidaki et al. [2] показали, что ЛПС может активировать Akt1. В результате формируется фенотип, который на провоспалительный фактор (ЛПС) может увеличивать продукцию противовоспалительных медиаторов. Такой фенотип можно назвать как «switch».

Таким образом, PI3K/Akt-зависимый сигнальный путь:

1. Обеспечивает реакцию макрофагов на цитокины и лиганды TLR;
2. Способствует репрограммированию макрофагов на M1 фенотип, благодаря активации Akt2, и на M2 фенотип, благодаря активация Akt1;
3. Может сформировать switch фенотип макрофага, который на провоспалительные стимулы будет отвечать продукцией противовоспалительных медиаторов. Возможность переключения трансляции сигнала между Akt1 и Akt2 в switch фенотипе является одним из механизмов высокой пластичности макрофагов.

3. Notch-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов

Млекопитающие имеют четыре трансмембранных Notch рецептора (Notch-1, -2, -3 и -4) и пять трансмембранных лигандов Delta-like1 (Dll1), Dll3, Dll4, Jagged-1 и Jagged-2 [22]. Лигирование Notch запускает расщепление Notch с помощью (ADAM)-протеиназы и γ-секретазы (рис. 3) с образованием домена NICD, который затем переносится в ядро [23]. В ядре NICD связывается с RBP-J и активирует экспрессию разных генов [23].

Notch-сигнальный путь вовлечен в репрограммирование макрофагов [23]. Так, показано, что в ответ на ЛПС на поверхности макрофагов увеличивалось количество Dll4 [24]. Это увеличение было опосредовано TLR4/NF-κB-сигнальным путем. Инкубация интактных макрофагов с макрофагами, которые

экспрессировали Dll4 запускала протеолиз Notch в интактных макрофагах (рис. 3). Это приводило к увеличению активности генов M1 фенотип, таких как IL-12, NOS и активации Akt и NF-κB сигнальных путей.

ЛПС/TLR4/NF-κB путь является одним из путей репрограммирования M1 фенотипа макрофагов (см. ниже), который продуцирует лиганды для Notch сигнального пути. Подключение дополнительных путей обеспечивает быстрое репрограммирование M1 фенотипа макрофагов и эффективное удаление патогенных микробов. Это пример феномена каскадной активации путей репрограммирования макрофагов.

Кроме того, Xu et al. [23] показали, что активация Notch1 усиливает образование RBP-J, который увеличивает экспрессию фактора транскрипции IRF8 (interferon regulatory factor 8) в репрограммируемых макрофагах. IRF8 содействует активации воспалительных генов, включая IL-12 [25]. IRF8 вовлечен не только в IFN-γ- и Notch-сигнальные пути, но также и в TLR4-сигнальный путь активации провоспалительных M1 цитокинов [26]. Поэтому последующее действие провоспалительных лигандов через TLR4 на репрограммированный макрофаг с увеличенным содержанием IRF8 будет вызывать больший воспалительный ответ, по сравнению с нерепрограммированными макрофагами. Эта ситуация отражает механизм формирования феномена усиления провоспалительного M1 ответа макрофагов после репрограммирования, в основе которого лежит конвергенция Notch1-RBP-J-, IFN-γ- и TLR4-сигнальных путей на уровне белка IRF8 (рис. 3).

Y.C.Wang et al. [27] показали, что при Notch/RBP-J-зависимом репрограммировании M1 фенотипа макрофагов увеличивается экспрессия SOCS3, ингибитора фактора транскрипции M2 генов STAT3 (рис. 3). Эти данные позволяют понять феномен сопряжения усиления продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов.

Вместе с тем, другие исследователи на макрофагах мышей с системной красной волчанкой показали, что Notch1-сигнальный путь может быть вовлечен и в формирование патогенетического M2 фенотипа [28]. В этом случае активированный патогенными факторами системной красной волчанки Notch1 путь транслировал сигнал через PI3K- и MAPK-пути и ускорял транслокацию NF-κB p50 в ядро. Поскольку димер p50/p50 активирует гены M2 фенотипа [29], Notch1/NF-κBp50-путь репрограммировал макрофаги на M2 фенотип.

Таким образом, Notch-зависимый сигнальный путь:

1. Обеспечивает реакцию макрофагов на Delta-like и JAG лиганды и опосредованно на лиганды TLR4 — ЛПС;

2. Репрограммирует M1 фенотип макрофагов, через активацию NICD, RBP-J и IRF8. При патологии Notch путь может быть вовлечен в формирование M2 фенотипа. В этом случае трансляция сигнала осуществляется через PI3K- и MAP-киназные пути и транслокацию NF-κB p50 в ядро;

3. Благодаря наличию M1-репрограммирующих NICD/RBP-J/IRF8 путей и M2-репрограммирующих PI3K-/MAPK-/NF-κBp50 путей, запускающихся с Notch, Notch-сигналинг, вероятно, может участвовать в формировании switch фенотипа, который вовлечен в патогенез системной красной волчанки [28];

4. Может участвовать:

1) в феномене усиления ответа M1 макрофагов на провоспалительные стимулы, благодаря конвергенции Notch1-RBP-J-, IFN-γ- и TLR4- путей на уровне IRF8;

2) в феномене сопряжения усиления продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов, благодаря тому, что Notch/RBP-J-зависимое репрограммирование M1 фенотипа макрофагов увеличивает экспрессию SOCS3, ингибитора фактора транскрипции M2 генов STAT3;

3) в феномене каскадной активации, благодаря тому, что TLR4/NF-κB-путь M1 репрограммирования, увеличивает количество Dll4, лигандов Notch-пути M1 репрограммирования.

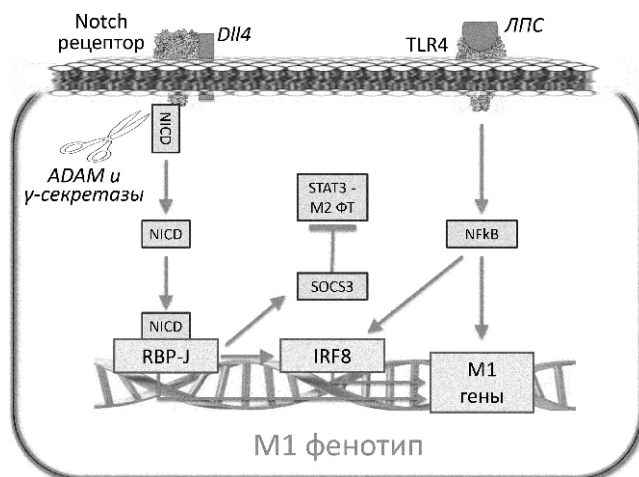


Рис. 3. Notch-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов и взаимодействие с TLR-зависимым сигнальным путем. M2 ФТ — фактор транскрипции генов, вовлеченных в формирование M2 фенотипа.

4. JAK/STAT-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов

В иммунных клетках JAK/STAT путь передает сигналы от IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15 и IL-21 с цитокиновых рецепторов [30]. JAK/STAT-путь использует четыре JAK (just another kinase или Janus kinase) JAK1, JAK2, JAK3, и Tyk2 и семь факторов транскрипции STAT: STAT1-4, 5A, 5B and 6 [31]. Интересно, что лигандами рецепторов JAK/STAT пути могут быть как RF-M1, например, IFN- γ , так и RF-M2, например, IL-4 (рис. 4) [31].

IFN- γ использует JAK/STAT путь для активации STAT1, который увеличивает продукцию провоспалительных цитокинов и программирует M1 фенотип макрофагов [32] (рис. 4). IFN- γ /JAK/STAT1 путь регулируется IRF5 и IRF4 [33]. IRF5 активируется провоспалительными [34], а IRF4 — противовоспалительными факторами [35]. IRF5 усиливает IFN- γ /JAK/STAT1-зависимую активацию продукции M1 цитокина IL-12 [36], а IRF4 угнетает активирующее влияние IRF5 [35]. Таким образом IRF4 и IRF5 имеют противоположное влияние на IFN- γ /JAK/STAT1 путь и фенотип макрофагов.

IFN- γ /JAK/STAT1 путь вовлечен в феномен усиления ответа макрофагов на TLR лиганды после преколонирования с IFN- γ . В основе этого феномена лежит конвергенция IFN- γ /JAK- и TLR4-сигнальных путей на уровне STAT1 [37]. Поэтому, увеличенная активность STAT1 в IFN- γ -репрограммированных макрофагах обеспечивает более интенсивный ответ на последующее действие лигандов TLR4.

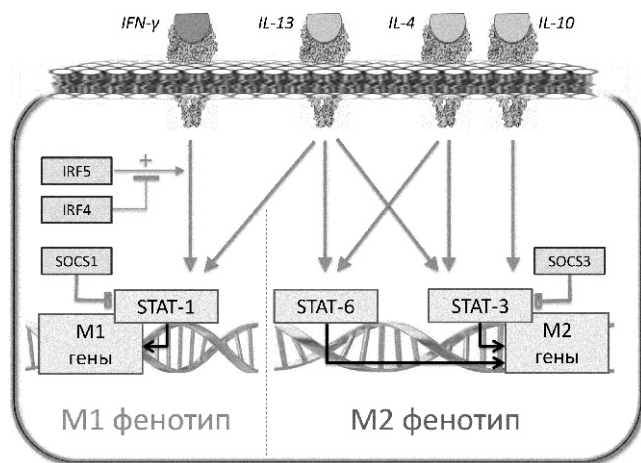


Рис. 4. JAK/STAT-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов.

IL-4, IL-13 и IL-10, которые репрограммируют макрофаги на M2 фенотип, также используют JAK/STAT сигнальный путь (рис. 4).

Связывание IL-4 с рецептором приводит к активации JAK, но дальше в отличие от IFN- γ , происходит фосфорилирование и активация факторов транскрипции генов M2 фенотипа — STAT3 и STAT6 [38]. В макрофагах IL-4 также индуцирует экспрессию c-Myc, который увеличивает экспрессию генов M2 фенотипа, таких как Scarb1 и Mrc1, а также увеличивает активность STAT6 и PPAR- γ [39].

Связывание IL-13 с рецептором активирует JAK1, JAK2 и Tyk2 киназы, с последующей активацией STAT1 (через Tyk2 киназу), STAT3 (через JAK2 киназу) и STAT6 (через Tyk2 киназу) [38]. Дальше STAT3 и STAT6 активируют экспрессию генов M2 фенотипа, таких как гены маннозного рецептора, Fizz1, Ym1 и противовоспалительных цитокинов [40], а STAT1 активирует провоспалительные цитокины (рис. 4). IL-13 является цитокином с хорошо доказанным M2-репрограммирующим действием. Вероятно, суммарный противовоспалительный ответ макрофагов на IL-13 определяется превалированием активации STAT3 и STAT6 над STAT1. Можно, однако, предположить, что блокирование STAT3 и STAT6 может привести к формированию switch фенотипа макрофага, который на действие противовоспалительного цитокина IL-13 может отвечать продукцией провоспалительных цитокинов.

Связывание IL-10 с рецептором через активацию JAK1 и STAT3 индуцирует экспрессию генов M2 фенотипа, таких, как TGF- β и IL-10 [40] и генов, вовлеченных в ингибирование продукции M1 цитокинов, таких, как TNF- α [41]. Кроме того, IL-10 увеличивает транслокацию p50/p50 в ядро, где p50/p50 блокирует экспрессию провоспалительных генов [42].

В конструкции JAK/STAT сигнального пути встроены два важных регулятора перекрестного M1/M2 репрограммирования макрофагов. Это SOCS1 и SOCS3 белки [43]. Так, IL-4 активирует синтез SOCS1, который блокирует STAT1, и таким образом препятствует формированию M1 фенотипа. IFN- γ и лиганды TLR4 активируют синтез SOCS3, который блокирует STAT3, и таким образом препятствует формированию M2 фенотипа [44] (рис. 4). При этом, синтез SOCS1 активирует STAT6, фактор транскрипции M2 фенотипа, а синтез SOCS3 — STAT1, фактор транскрипции M1 фенотипа. Такие взаимодействия между SOCS и STAT, дополнительно объясняют механизмы феномена сопряжения увеличения продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов при репрограммировании на M1 фенотип, и наоборот.

Таким образом, JAK/STAT-зависимый сигнальный путь:

1. Обеспечивает реакцию макрофагов на цитокины IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, и IL-21, а также IFN- γ .

2. Может транслировать в ядро сигналы как от M1 цитокина IFN- γ и через STAT1 репрограммировать макрофаги на M1 фенотип, так и от M2 цитокинов IL-4, IL-10 и IL-13 и через STAT3 и STAT6 репрограммировать на M2 фенотип. Это позволяет макрофагу интегрировать репрограммирующий эффект микроокружения с разными цитокинами.

3. Благодаря наличию M1-репрограммирующего Tyc2/STAT1 пути и M2-репрограммирующих JAK2/STAT3 и Tyc2/STAT6 путей, запускающихся с рецепторов IL-13, JAK/STAT-зависимый сигналинг, вероятно, может формировать switch фенотип, который при угнетении M2-репрограммирующих путей будет в ответ на RF-M2 IL-13 увеличивать продукцию M1 цитокинов и формировать M1 фенотип.

4. Участвует:

1) в феномене усиления провоспалительного ответа макрофагов на разные воспалительные стимулы после репрограммирования, благодаря конвергенции IFN- γ /JAK- и TLR4- путей на уровне STAT1;

2) в феномене сопряжения увеличения продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов при программировании M1 фенотипа, и наоборот, благодаря взаимодействиям между SOCS и STAT.

5. TGF- β -сигнальный путь в репрограммировании макрофагов

TGF- β продуцируется фибробластами, макрофагами, лимфоцитами, а также опухолевыми клетками. Семейство секреторных белков TGF- β включает TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, активины, факторы роста и дифференцировки и др. Иммунные клетки продуцируют преимущественно TGF- β 1.

TGF- β передает сигнал в клетку через гетеротетрамерный рецептор, который состоит из двух трансмембранных субъединиц I типа (T β RI) и двух II типа (T β RII) с цитоплазматическими киназными доменами. В рецепторном комплексе, который образуется после связывания TGF- β , T β RII аутофосфорилируется и фосфорилирует T β RI. В результате киназный домен T β RI связывается с факторами транскрипции SMAD2 и SMAD3 (рис. 5). Белок SARA (SMAD Anchor for Receptor Activation) помогает привлечь SMAD2/3 к T β RI [45]. После этого T β RI фосфорилирует, и таким образом, активирует SMAD2/3. Активированный SMAD2/3 связывает SMAD4 и SMAD2/3/4 комплекс транслицируется в ядро.

TGF- β -активируемые SMAD-зависимые пути [15] увеличивают активность генов M2 фенотипа, такие, как *arg1* и *mgl2* [46.] и репрограммируют макрофаг в сторону M2 фенотипа.

TGF- β -зависимое программирование M2 фенотипа контролирует ингибиторный SMAD7. SMAD7 может связываться с T β RI, предупреждая фосфорилирование SMAD2/3 или может индуцировать протеосомальную деградацию SMAD2/3. IFN- γ и TNF- α могут увеличивать экспрессию SMAD7, приводя к ингибированию TGF- β /SMAD пути и снижению продукции противовоспалительных цитокинов в ответ на TGF- β . Этот механизм помогает понять природу феномена сопряжения усиления продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов.

Кроме SMAD-зависимого пути, TGF- β может активировать SMAD-независимые Ras/MAPK/Erk-, PI3K/Akt-, p38- и JNK- и Rho like GTPases- [15] зависимые пути. В SMAD-независимых путях важную роль ретранслятора сигнала от TGF- β на активацию MAP киназных путей (JNK, p38) и NF- κ B играет белок TAK1 (TGF- β activated kinase 1) [47] (рис. 5). Можно предположить, что SMAD-независимые сигнальные пути, которые активирует провоспалительные белки и факторы транскрипции, такие, как JNK, p38 и NF- κ B, могут репрограммировать макрофаги на M1 фенотип, особенно в условиях, когда заблокирован SMAD-зависимый путь, например, в результате активации SMAD7.

Таким образом, TGF- β -зависимый сигнальный путь:

1. Обеспечивает реакцию макрофагов на лиганды семейства TGF- β ;

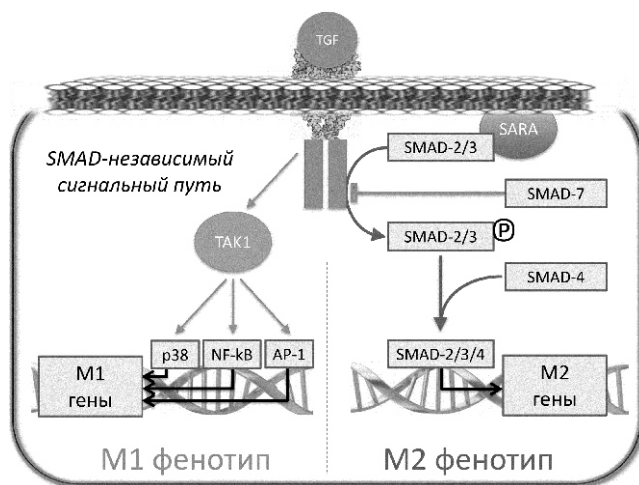


Рис. 5. TGF- β -сигнальный путь в репрограммировании макрофагов.

2. Транслирует в ядро сигналы от TGF-β через SMAD2/3/4-зависимый путь и таким образом, репрограммирует макрофаги на M2 фенотип.

3. Благодаря наличию SMAD-независимых путей, TGF-β-зависимый сигналинг, через TAK1/JNK/ρ38/NF-κB, вероятно, может участвовать в формировании switch фенотипа, который при угнетении SMAD-репрограммирующих путей будет в ответ на RF-M2 TGF-β увеличивать продукцию M1 цитокинов и формировать M1 фенотип.

4. Участвует в формировании феномена сопряжения увеличения продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов в M1 фенотипе. Это связано с тем, что программирование M1 фенотипа с помощью IFN-γ или TNF-α повышает экспрессию SMAD7, который блокирует образование SMAD2/3/4 и продукцию противовоспалительных M2 цитокинов.

6. TLR/NF-κB-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов

Toll-like рецепторы (TLR) относятся к семейству трансмембранных PRR, которые распознают специфические консервативные ПАМПП на молекулах микробов. Связывание ПАМПП с TLR-ами запускает сигнальные каскады, которые индуцируют экспрессию провоспалительных цитокинов. У человека идентифицированы шесть TLR (TLR1, 2, 4, 5, 6 и 10), которые экспрессируются на поверхности макрофагов. Каждый TLR имеет лиганд-чувствительный домен на экстраклеточном N-конце, трансмембранный домен и TIR домен на цитоплазматическом C-конце [48].

После связывания лиганда TLR формируют димеры или меняют свою конформацию. В результате происходит сближение TIR доменов, и они начинают

взаимодействовать с разными адапторными белками, и прежде всего с MyD88 (myeloid differentiation primary-response gene 88) [49]. В TLR-индуцированных путях, MyD88 связывается с членами IRAK (IL-1R associated kinase) семейства с образованием олигомерного комплекса Myddosome [50] (рис. 6). В Myddosome происходит фосфорилирование IRAK. Далее фосфорилированные IRAK привлекают к мембране TRAF6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor-6) [51], а TRAF6 привлекает комплекс TAK1.

TAK проводит сигналы от TLR и рецепторов TGF-β, TNF-α и IL-1 [47]. Конвергенция сигналов на TAK от про- (TNF-α) и противовоспалительных (TGF-β) цитокинов, означает, что в макрофагах заложена возможность в ответ на провоспалительные факторы (RF-M1), например, TNF-α отвечать продукцией противовоспалительных цитокинов, и наоборот, в ответ на противовоспалительные факторы (RF-M2), например, TGF-β отвечать продукцией провоспалительных цитокинов. Очевидно, что в первом случае, этот механизм поможет ограничить избыточное воспаление, а во втором — предупредить критическое снижение свойств макрофагов при развитии Th2 ответа. И в том и другом случае, можно говорить, что TAK может формировать switch фенотип макрофагов.

Привлечение комплексов TAK к TRAF6 сопровождается сближением киназных доменов TAK друг к другу. Это вызывает аутофосфорилирование и активацию TAK1 киназы, которая в свою очередь активирует молекулярный комплекс, содержащий IκB киназу (IKK) [52] (рис. 6)

IKK комплекс состоит из двух каталитических субъединиц, IKKα и IKKβ и регуляторной субъединицы, NEMO (IKKγ) [52]. IKK фосфорилирует ингибиторную субъединицу IκB, которая связана с фактором транскрипции NF-κB в цитоплазме неактивного макрофага. Фосфорилирование IκB приводит к его деградации в протеосомах. В результате высвобождается NF-κB [53]. Свободный NF-κB транспортируется в ядро, где он активирует транскрипцию генов, вовлеченных в воспаление, иммунные ответы и клеточный рост [53]. Провоспалительные цитокины, продуцируемые NF-κB-зависимым образом, могут повторно активировать NF-κB-зависимый путь. Так формируется положительная обратная связь, которая может обеспечить быстрое формирование провоспалительного фенотипа. NF-κB также активирует гены IκB. Этот механизм ограничивает чрезмерное вхождение NF-κB в ядро и представляет собой классический механизм отрицательной обратной связи, который предупреждает чрезмерное воспаление.

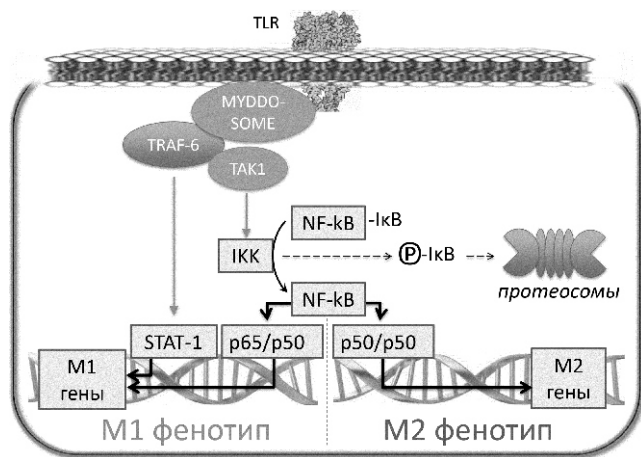


Рис. 6. TLR/NF-κB-сигнальный путь в репрограммировании макрофагов.

Семейство факторов транскрипции NF-κB объединяет несколько белков. RelA (p65), RelB, c-Rel, p50 (p105 precursor), p52 (p100 precursor) и Relish. RelA (p65), RelB, и c-Rel могут, а p50 (p105 precursor), p52 (p100 precursor), и Relish не могут активировать экспрессию провоспалительных генов.

TLR/NF-κB сигналинг играет ключевую роль репрограммировании макрофагов в ответ на микробную инвазию. TLR/NF-κB сигналинг преимущественно вовлечен в M1- репрограммирование макрофагов. В TLR/NF-κB-зависимом репрограммировании интересны и важны три момента.

Во-первых, при ЛПС-зависимом репрограммировании макрофагов на M1 фенотип активация NF-κB происходит в форме p65/p50. p65/p50 увеличивает продукцию провоспалительных цитокинов. Одновременно ЛПС увеличивает экспрессию генов ядерных IκBζ [54]. IκBζ блокирует p50/p50 форму NF-κB, которая стимулирует продукцию противовоспалительных цитокинов [55]. Это пример еще одного механизма феномена сопряжения усиления продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов в M1 фенотипе.

Во-вторых, TLR/NF-κB путь за счет изменения субъединичного состава NF-κB может переключать репрограммирование фенотипа. Если в результате связывания лигандов с TLR, активация NF-κB происходит в форме p50/p65, то увеличивается продукция провоспалительных медиаторов [56] и формируется M1 фенотип макрофагов. Если активация NF-κB происходит в форме p50/p50, то формируется M2 фенотип, как это происходит, в опухолево-ассоциированных макрофагах и ЛПС-толерантных макрофагах [55]. По сути это один из важных механизмов пластичности макрофагов, который позволяет быстро реагировать на изменившуюся инфекцию и микроокружение. Возможность переключения между образованием p50/p50 (фактор транскрипции M2 генов) и p65/p50 (фактор транскрипции M1 генов) в ответ на действие одного и того же лиганда — ЛПС, который является RF-M1, означает возможность формирования switch фенотипа макрофагов, который в ответ на действие RF-M1 (ЛПС) будет продуцировать противовоспалительные факторы и формировать M2 фенотип.

В-третьих, выяснилось, что связывание ЛПС к TLR4 индуцирует фосфорилирование фактора транскрипции STAT1 [57]. Эти данные означают, что в TLR-зависимом репрограммировании макрофагов STAT1 может играть важную роль. Было показано, что фосфорилирование STAT1 зависило от MyD88 и TRAF6, но не зависило от IRF-3, IRF7 и

рецепторов IFN-γ. Это означало, что активация STAT1 связана с TLR сигналингом, а не опосредуется аутокринной активацией через IFN-γ [57]. После активации, STAT1 транслоцируется в ядро и активирует провоспалительные гены, такие, как TNF-α.

Эти результаты демонстрируют возможность передачи сигнала между сигнальными путями, в данном случае с TLR- на STAT-зависимый путь через TRAF6 на активацию STAT1. Этот механизм отражает феномен каскадной активации путей репрограммирования макрофагов и может участвовать в феномене усиления продукции провоспалительных цитокинов после репрограммирования на M1 фенотип, например, в усилении продукции TNF-α в ответ на лиганды JAK/STAT-пути после TLR-зависимого репрограммирования.

Таким образом, TLR-зависимый сигнальный путь:

1. Обеспечивает реакцию и репрограммирование макрофагов на лиганды TLR разнообразные ПАМПС;

2. Транслирует в ядро сигналы через факторы транскрипции NF-κB и STAT1 и таким образом, увеличивает продукцию провоспалительных генов и репрограммирует макрофаги на M1 фенотип;

3. Благодаря возможности формирования NF-κB в разной форме, p65/p50 — провоспалительной M1, или p50/p50 — противовоспалительной M2, TLR-зависимый путь, может программировать switch фенотип, который будет в ответ на RF-M1, например, ЛПС, увеличивать продукцию M2 цитокинов;

4. Участвует в формировании феноменов репрограммирования. Во-первых, в феномене сопряжения увеличения продукции провоспалительных цитокинов со снижением продукции противовоспалительных цитокинов в M1 фенотипе. Это связано с тем, что репрограммирование M1 фенотипа с помощью ЛПС усиливает экспрессию ядерных IκBζ, которые блокируют p50/p50 противовоспалительную форму NF-κB. Во-вторых, в феномене усиления продукции провоспалительных цитокинов на лиганды JAK/STAT-пути после TLR-зависимого программирования M1 фенотипа. В основе феномена лежит активация фактора транскрипции JAK/STAT-пути, STAT1 с TLR, в-третьих, в феномене каскадной активации путей репрограммирования, благодаря передаче сигнала с TLR-зависимого пути на STAT-зависимый путь через TRAF6 и в-четвертых, в феномене положительных и отрицательных обратных связей, благодаря возможности провоспалительных цитокинов повторно активировать NF-κB и благодаря NF-κB-зависимому синтезу ингибитора IκB соответственно.

7. Гипоксия-зависимый путь в репрограммировании макрофагов

Ключевую роль в гипоксическом репрограммировании фенотипа макрофагов играет внутриклеточный белковый комплекс сенсора кислорода [58]. Функцию такого сенсора выполняет молекулярный комплекс, состоящий из кислородо-чувствительного фермента пролил-4-гидроксилазы PHD (prolyl-4-hydroxylase domain enzymes) и гипоксического фактора транскрипции HIF (hypoxia-inducible factor). HIF состоит из двух субъединиц: конститутивной HIF-β и кислородо-чувствительной HIF-1α, -2α или -3α. При нормальном содержании кислорода HIF-β постоянно присутствует в клетке. HIF-α постоянно синтезируется, но не накапливается, потому что в условиях нормоксии, к HIF-α с помощью PHD присоединяется гидроксильная группа [59] и такой HIF-α попадает в протеасомы и расщепляется.

В условиях гипоксии, активность PHD снижается. В результате HIF-α накапливается, соединяется с HIF-β и образует HIF-α/HIF-β димер, активную форму фактора транскрипции генов. Этот димер проникает в ядро и активирует гены [58], которые повышают устойчивость макрофагов к гипоксии и репрограммируют его фенотип.

В макрофагах в зависимости от степени гипоксии происходит активация или HIF-1α или HIF-2α. HIF-1α активирует синтез индуцибельной NOS и способствует формированию M1 фенотипа, тогда как HIF-2α активирует аргиназу 1 и способствует формированию M2 фенотипа [60, 61].

Таким образом, гипоксия-зависимый сигнальный путь в зависимости от интенсивности гипоксии, транслирует сигналы в ядро или через HIF-1α, или через HIF-2α. HIF-1α способствует формированию M1 фенотипа, тогда как HIF-2α — M2 фенотипа макрофагов.

Заключение.

Ключевые положения и выводы о сигнальных механизмах репрограммирования макрофагов

1. Существует относительная специализация сигнальных путей в репрограммировании макрофагов на действие разных компонентов микроокружения. Так,

- факторы роста, жирные кислоты и лиганды рецепторов, сопряженных с G белками, репрограммирует макрофаги с помощью JNK-зависимого пути,
- микробная инвазия, и более конкретно ПАМП, репрограммирует макрофаги, с помощью TLR-, PI3K/Akt- и Notch-зависимых путей,

- изменение на клетках в микроокружении содержания Delta-like и JAG лигандов репрограммирует макрофаги с помощью Notch-зависимых путей,

- изменение цитокинового микроокружения репрограммирует макрофаги с помощью JNK-, PI3K/Akt- и JAK/STAT-зависимых сигнальных путей,

- изменение содержания TGF-β в микроокружении репрограммирует макрофаги с помощью SMAD-зависимых и SMAD-независимых путей,

- изменение содержания кислорода в микроокружении репрограммирует макрофаги с помощью гипоксия/HIF-зависимых путей.

2. Сигнальные пути, которые вовлечены в репрограммирование макрофагов можно разделить на две группы: пути, которые преимущественно программируют M1 фенотип, такие, как JNK-, Notch-,

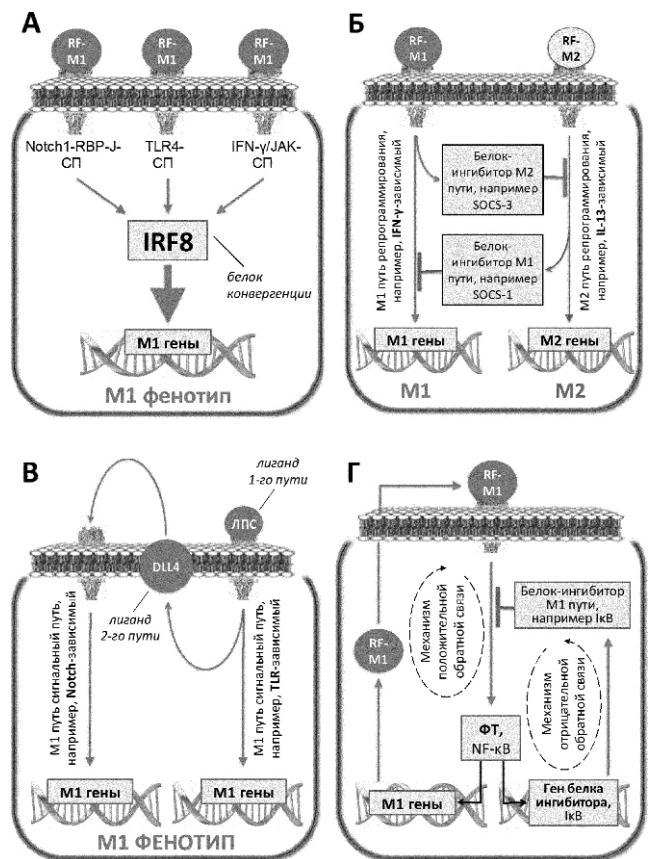


Рис. 7. Основные феномены репрограммирования макрофагов: А — феномен усиления ответа макрофагов как на репрограммирующий фактор (прямое усиление), так и на другой фактор (перекрестное усиление); Б — феномен реципрокного подавления альтернативного фенотипа; В — феномен каскадной активации механизмов репрограммирования; Г — феномен положительных и обратных связей в механизмах репрограммирования.

TLR/NF-κB(ρ65/ρ50)-, ρ13K/Akt2-, JAK/STAT1- и HIF1α- пути и пути, которые преимущественно программируют M2 фенотип, такие, как ρ13K/Akt1-, JAK/STAT3/6-, TGF-β/SMAD-, TLR/NF-κB(ρ50/ρ50) и HIF2α- пути.

3. Понимание механизмов репрограммирования позволяет объяснить четыре главных феномена репрограммирования.

В основе феномена усиления ответа репрограммированных макрофагов на фактор, с помощью которого репрограммируется макрофаг (прямое усиление) или на другой фактор (перекрестное усиление), лежит конвергенция сигнальных путей (рис. 7,А) на уровне определенного белка. Поэтому предварительное репрограммирование макрофагов с помощью одного сигнального пути, которое увеличивает активность или содержание этого белка усиливает ответ макрофагов на лиганды другого сигнального пути. Для M1-репрограммирующих Notch1-RBP-J-, IFN-γ- и TLR4- путей таким белком конвергенции является белок IRF8, для IFN-γ/JAK- и TLR4- путей — STAT1.

В основе феномена реципрокного подавления альтернативного фенотипа макрофагов лежит то, что формирование одного фенотипа сопровождается усилением синтеза молекул, которые подавляют формирования альтернативного фенотипа (рис. 7,Б). Так, при программировании M1 фенотипа с помощью:

- 1) Notch/RBP-J-пути увеличивается экспрессия SOCS3, который подавляет активность фактора транскрипции M2 генов STAT3;
- 2) IFN-γ- и TLR4 путей увеличивается синтез SOCS3, который блокирует фактор транскрипции M2 генов STAT3;
- 3) IFN-γ- и TNF-α путей усиливается экспрессия SMAD7, который блокирует активацию фактора транскрипции M2 генов SMAD2/3/4;
- 4) TLR/NF-κB(ρ65/ρ50) пути усиливается экспрессия ингибиторов, которые блокируют активацию M2 генов.

При программировании M2 фенотипа с помощью IL-4/JAK/STAT пути увеличивается синтез SOCS1, который блокирует фактор транскрипции M1 генов STAT1.

В основе феномена каскадной активации сигнальных путей репрограммирования лежит способность одного пути передавать сигналы на другой путь. Так ЛПС/TLR4/NF-κB- путь M1 репрограммирования увеличивает также количество Dll4, лигандов Notch другого пути M1 репрограммирования, TLR-зависимый путь через TRAF6 передает сигнал на STAT-зависимый путь (рис. 7,В).

В основе феномена положительных и отрицательных обратных связей лежит способность сигнального пути увеличивать синтез как активаторов этого пути, так и ин-

гибиторов. Так, NF-κB-зависимый путь M1 репрограммирования увеличивает количество провоспалительных цитокинов, которые активируют этот путь и таким образом формируют положительную обратную связь, так и IκB, который ингибирует NF-κB и таким образом формирует отрицательную обратную связь (рис. 7,Г).

Эти феномены обеспечивают, с одной стороны, быстрое формирование M1 макрофагов при необходимости обезвредить бактерии или вирусы или M2 макрофагов при необходимости уничтожить паразитов, усилить ангиогенез и репарировать ткань, а с другой стороны — предупреждают избыточную активацию того или иного фенотипа.

4. Сигнальные пути, которые передают сигнал от RF-M1 и программируют провоспалительный M1 фенотип макрофагов, часто имеют ответвление, которое при его активации может увеличить продукцию противовоспалительных M2 цитокинов; и наоборот. Так JNK-зависимые пути активируют факторы транскрипции M1 фенотипа, но могут активировать и фактор транскрипции M2 генов — SMAD3; ρ13K/Akt-зависимый путь через Akt2 программирует M1 фенотип, а через Akt1 — M2; Notch путь через NICD/RBP-J/IRF8 увеличивает продукцию M1 цитокинов, а через ρ13K-/MAPK-/NF-κBρ50 — продукцию M2 цитокинов; IL-13 через JAK2/STAT3- и Tyc2/STAT6- пути формирует M2 фенотип, а через Tyc2/STAT1 путь M1 фенотип; TGF-β через SARA/SMAD2/3/4-зависимый путь программирует M2 фенотип макрофагов, а через TAK1/JNK/ρ38/NF-κB может программировать M1 фенотип и наконец, TLR-зависимый путь через ρ65/ρ50 программирует M1, а через ρ50/ρ50 — M2 фенотип.

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

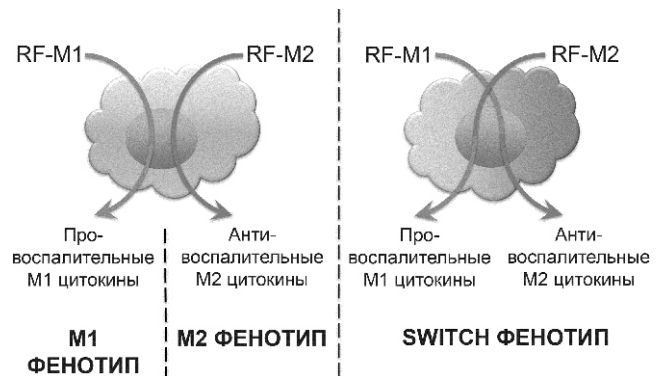


Рис. 8. Схематическое представление M1 и M2 фенотипа макрофагов и фенотипа переключения («switch»).

бактерицидной активности макрофагов и возможность развития аутомунных процессов при формировании M2 фенотипа (при необходимости уничтожить внеклеточных паразитов). Фенотип макрофага, который на провоспалительный RF-M1 отвечает продукцией противовоспалительных медиаторов, или на противовоспалительные RF-M2 отвечает продукцией провоспалительных медиаторов можно назвать как фенотип «переключения» или как «switch» фенотип (рис. 8).

5. Поскольку нарушение репрограммирования макрофагов играет важную роль в развитии многих заболеваний, детальное понимание ключевых звеньев, белков, ферментов механизма репрограммирования, несомненно, окажет помощь в выборе эффективных терапевтических мишеней при разработке новых способов коррекции нарушенного иммунитета.

Обзор написан при финансовой поддержке Минобрнауки России (Соглашение от 17 июня 2014 г. №14.604.21.0020, Уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEF160414X0020).

References

1. Benoit M., Desnues B., Mege J.L. Macrophage polarization in bacterial infections. *J Immunol.* 2008; 181 (6): 3733-9.
2. Malyshev I., Manukhina E., Malyshev Y. Physiological organization of immune response based on the homeostatic mechanism of matrix reprogramming: implication in tumor and biotechnology. *Med Hypotheses.* 2014; 82 (6): 754-65.
3. Mantovani A., Sica A., Locati A. New vistas on macrophage differentiation and activation. *Eur J Immunol.* 2007; 37 (1): 14-6.
4. Falcone F.H., Haas H., Gibbs B.F. The human basophil: a new appreciation of its role in immune responses. *Blood.* 2000; 96 (13): 4028-38.
5. D'Andrea A., Aste-Amezaga M., Valiante N.M., Ma X., Kubin M., Trinchieri G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits human lymphocyte interferon gamma-production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/IL-12 synthesis in accessory cells. *J Exp Med.* 1993; 178 (3): 1041-8.
6. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A.M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* 2000; 164 (12): 6166-73.
7. Sica A., Martinez F.O., Mantovani A., Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci.* 2008; 13: 453-61.
8. Sieling P.A., Abrams J.S., Yamamura M., Salgame P., Bloom B.R., Rea T.H., Modlin R.L. Immunosuppressive roles for IL-10 and IL-4 in human infection. In vitro modulation of T cell responses in leprosy. *J Immunol.* 1993; 150 (12): 5501-10.
9. Noël W., Raes G., Hassanzadeh Ghassabeh G., De Baetselier P., Beschin A. Alternatively activated macrophages during parasite infections. *Trends Parasitol.* 2004 Mar;20(3):126-33.
10. Mantovani A., Biswas S.K., Galdiero M.R., Sica A., Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling. *J Pathol.* 2013; 229 (2): 176-85.
11. Melgert B.N., ten Hacken N.H., Rutgers B., Timens W., Postma D.S., Hylkema M.N. More alternative activation of macrophages in lungs of asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127 (3): 831-3.
12. Chanmee T., Ontong P., Konno K., Itano N. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel).* 2014; 13; 6 (3):1670-90.
13. 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.
14. Weisberg S.P., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R.L., Ferrante A.W. Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112 (12): 1796-808.
15. Derynck R., Zhang Y.E. SMAD-dependent and SMAD-independent pathways in TGF-beta family signaling. *Nature.* 2003; 425 (6958): 577-84.
16. 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.
17. Luyendyk J.P., Schabbauer G.A., Tencati M., Holscher T., Pawlinski R., Mackman N. Genetic analysis of the role of the PI3K-Akt pathway in lipopolysaccharide-induced cytokine and tissue factor gene expression in monocytes/macrophages. *J Immunol.* 2008; 180 (6): 4218-26.
18. Arranz A., Doxaki C., Vergadi E., Martinez de la Torre Y., Vaporidi K., Lagoudaki E.D. et al. Akt1 and Akt2 protein kinases differentially contribute to macrophage polarization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109 (24): 9517-22.
19. Xu F., Kang Y., Zhang H., Piao Z., Yin H., Diao R. et al. Akt1-mediated regulation of macrophage polarization in a murine model of Staphylococcus aureus pulmonary infection. *J Infect Dis.* 2013; 208 (3): 528-38.
20. Androulidaki A., Iliopoulos D., Arranz A., Doxaki C., Schworer S., Zacharioudaki V. et al. The kinase Akt1 controls macrophage response to lipopolysaccharide by regulating microRNAs. *Immunity.* 2009; 21; 31 (2): 220-31.
21. Ruffell D., Mourkioti F., Gambardella A., Kirstetter P., Lopez R.G., Rosenthal N. et al. A CREB-C/EBPbeta cascade induces M2 macrophage-specific gene expression and promotes muscle injury repair. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106 (41):17475-80.
22. D'Souza B., Miyamoto A., Weinmaster G. The many facets of Notch ligands. *Oncogene.* 2008; 27 (38): 5148-67.
23. Xu H., Zhu J., Smith S., Foldi J., Zhao B., Chung A.Y. et al. Notch-RBP-J signaling regulates the transcription factor IRF8 to promote inflammatory macrophage polarization. *Nat Immunol.* 2012; 13 (7): 642-50.
24. Fung E., Tang S.M., Canner J.P., Morishige K., Arboleda-Velasquez J.F., Cardoso A.A. et al. Delta-like 4 induces notch signaling in macrophages: implications for inflammation. *Circulation.* 2007; 115 (23): 2948-56.
25. Liu J., Guan X., Tamura T., Ozato K., Ma X. Synergistic activation of interleukin-12 p35 gene transcription by interferon regulatory factor-1 and interferon consensus sequence-binding protein. *J Biol Chem.* 2004; 279 (53): 55609-17.
26. Zhao J., Kong H.J., Li H., Huang B., Yang M., Zhu C. et al. IRF-8/interferon (IFN) consensus sequence-binding protein is involved in Toll-like receptor (TLR) signaling and contributes to the cross-talk between TLR and IFN-gamma signaling pathways. *J Biol Chem.* 2006; 281 (15): 10073-80.
27. Wang Y.C., He F., Feng F., Liu X.W., Dong G.Y., Qin H.Y. et al. Notch signaling determines the M1 versus M2

- polarization of macrophages in antitumor immune responses. *Cancer Res.* 2010; 70 (12): 4840-9.
28. Zhang W., Xu W., Xiong S. Blockade of Notch1 signaling alleviates murine lupus via blunting macrophage activation and M2b polarization. *J Immunol.* 2010; 184 (11): 6465-78.
29. Kono Y., Kawakami S., Higuchi Y., Yamashita F., Hashida M. In vitro evaluation of inhibitory effect of nuclear factor-kappaB activity by small interfering RNA on pro-tumor characteristics of M2-like macrophages. *Biol Pharm Bull.* 2014; 37 (1): 137-44.
30. Schindler C., Levy D.E., Decker T. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J Biol Chem.* 2007; 282 (28): 20059-63.
31. Murray P.J. The JAK-STAT signaling pathway: input and output integration. *J Immunol.* 2007; 178 (5): 2623-9.
32. Yeh C.H., Shih H.C., Hong H.M., Lee S.S., Yang M.L., Chen C.J. et al. Protective effect of wogonin on proinflammatory cytokine generation via Jak1/3-STAT1/3 pathway in lipopolysaccharide stimulated BV2 microglial cells. *Toxicol Ind Health.* 2013; Available at: <http://tih.sagepub.com/content/early/2013/04/16/0748233713485886.long>.
33. Satoh T., Kidoya H., Naito H., Yamamoto M., Take-mura N., Nakagawa K. et al. Critical role of Trib1 in differentiation of tissue-resident M2-like macrophages. *Nature.* 2013; 495 (7442): 524-8.
34. Seneviratne A., Cole J., Goddard M., Udalova I., Krams R., Monaco C. M1 macrophages and irf5 exacerbate atherosclerotic disease. *Heart.* 2013; 99: A103.
35. Eguchi J., Kong X., Tenta M., Wang X., Kang S., Rosen E.D. Interferon regulatory factor 4 regulates obesity-induced inflammation through regulation of adipose tissue macrophage polarization. *Diabetes.* 2013; 62 (10): 3394-403.
36. Krausgruber T., Blazek K., Smallie T., Alzabin S., Lockstone H., Sahgal N. et al. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses. *Nat Immunol.* 2011; 12 (3): 231-8.
37. Hu X., Herrero C., Li W.P., Antoniv T.T., Falck-Pedersen E., Koch A.E. et al. Sensitization of IFN-gamma Jak-STAT signaling during macrophage activation. *Nat Immunol.* 2002; 3 (9): 859-66.
38. Bhattacharjee A., Shukla M., Yakubenko V.P., Mulya A., Kundu S., Cathcart M.K. IL-4 and IL-13 employ discrete signaling pathways for target gene expression in alternatively activated monocytes/macrophages. *Free Radic Biol Med.* 2013; 54: 1-16.
39. Pello O.M., De Pizzol M., Mirolo M., Soucek L., Zammataro L., Amabile A. et al. Role of c-MYC in alternative activation of human macrophages and tumor-associated macrophage biology. *Blood.* 2012; 119 (2): 411-21.
40. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3 (1): 23-35.
41. Riley J.K., Takeda K., Akira S., Schreiber R.D. Interleukin-10 receptor signaling through the JAK-STAT pathway. Requirement for two distinct receptor-derived signals for anti-inflammatory action. *J Biol Chem.* 1999; 274 (23): 16513-21.
42. Driessler F., Venstrom K., Sabat R., Asadullah K., Schottelius A.J. Molecular mechanisms of interleukin-10-mediated inhibition of NF-kappaB activity: a role for p50. *Clin Exp Immunol.* 2004; 135 (1): 64-73.
43. Croker B.A., Kiu H., Nicholson S.E. SOCS3 regulation of the JAK/STAT signalling pathway. *Semin Cell Dev Biol.* 2008; 19 (4): 414-22.
44. Qin H., Holdbrooks A.T., Liu Y., Reynolds S.L., Yanagisawa L.L., Benveniste E.N. SOCS3 deficiency promotes M1 macrophage polarization and inflammation. *J Immunol.* 2012; 189 (7): 3439-48.
45. Massague J., Seoane J., Wotton D. SMAD transcription factors. *Genes Dev.* 2005; 19 (23): 2783-810.
46. Raes G., Brys L., Dahal B.K., Brandt J., Grooten J., Brombacher F. et al. Macrophage galactose-type C-type lectins as novel markers for alternatively activated macrophages elicited by parasitic infections and allergic airway inflammation. *J Leukoc Biol.* 2005; 77 (3): 321-7.
47. Landstrom M. The TAK1-TRAF6 signalling pathway. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010; 42 (5): 585-9.
48. Takeda K., Kaisho T., Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* 2003; 21: 335-76.
49. O'Neill L.A.J., Bowie A.G. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signaling. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7 (5): 353-64.
50. Motshwene P.G., Moncrieffe M.C., Grossmann J.G., Kao C., Ayaluru M., Sandercock A.M. et al. An oligomeric signaling platform formed by the Toll-like receptor signal transducers MyD88 and IRAK-4. *J Biol Chem.* 2002; 277 (37): 25404-11.
51. Ye H., Arron J.R., Lamothe B., Cirilli M., Kobayashi T., Shevde N.K. et al. Distinct molecular mechanism for initiating TRAF6 signalling. *Nature.* 2002; 418 (6896): 443-7.
52. Woronicz J.D., Gao X., Cao Z., Rothe M., Goeddel D.V. IκB kinase-β: NF-κB activation and complex formation with IκB kinase-α and NIK. *Science.* 1997; 278 (5339): 866-9.
53. Napetschnig J., Wu H. Molecular Basis of NF-κB Signaling. *Annu Rev Biophys.* 2013; 42: 443-68.
54. Kitamura H., Kanehira K., Okita K., Morimatsu M., Saito M. MAIL, a novel nuclear IκB protein that potentiates LPS-induced IL-6 production. *FEBS Lett.* 2000; 485 (1): 53-6.
55. Porta C., Rimoldi M., Raes G., Brys L., Ghezzi P., Di Liberto D. et al. Tolerance and M2 (alternative) macrophage polarization are related processes orchestrated by p50 NF-κB. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106 (35): 14978-83.
56. Bonizzi G., Karin M. The two NF-κB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.* 2004; 25 (6): 280-8.
57. Luu K., Greenhill C.J., Majoros A., Decker T., Jenkins B.J., Mansell A. STAT1 plays a role in TLR signal transduction and inflammatory responses. *Immunol Cell Biol.* 2014; 92 (9): 761-9.
58. Semenza G.L. Review Oxygen homeostasis. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2010; 2 (3): 336-61.
59. Ivan M., Kondo K., Yang H., Kim W., Valiando J., Ohh M. et al. HIF1α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. *Science.* 2001; 292 (5516): 464-8.
60. Takeda N., O'Dea E.L., Doedens A., Kim J.W., Weidemann A., Stockmann C. et al. Differential activation and antagonistic function of HIF-1α isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis. *Genes Dev.* 2010; 24 (5): 491-501.
61. Malyshev I.Yu. Hypoxia and reprogramming the immune response in the central role of the macrophages tumors: *Patogenez.* 2011;3: 44-5. (in Russian)

Received 06.04.15