

**IL-6, ПРОДУЦИРУЕМЫЙ МИКРОГЛИЕЙ, ВАЖЕН ДЛЯ
ФОРМИРОВАНИЯ ГИППОКАМП-ЗАВИСИМОЙ
ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ**

Намаканова О. А.¹,
Гоголева В. С.¹,
Туховская Е. А.³,
Шайхутдинова Э. Р.³,
Слащева Г. А.³,
Исмаилова А. М.³,
Хоцкин Н. В.⁴,
Друцкая М. С.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта
Российской академии наук, Москва, Россия

² АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная
территория «Сириус», Краснодарский край, Россия

³ Филиал ГНЦ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Пущино, Россия

⁴ ФГБУН Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и
генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск,
Россия

MICROGLIA-DERIVED IL-6 IS REQUIRED FOR HIPPOCAMPUS-DEPENDENT LONG-TERM SPATIAL MEMORY FORMATION

Namakanova O. A. ^a,
Gogleva V. S. ^a,
Tukhovskaya E. A. ^c,
Shaykhutdinova E. R. ^c,
Slashcheva G. A. ^c,
Ismailova A. M. ^c,
Khotskin N. V. ^d,
Drutskaya M. S. ^{a, b}

^a Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^b Sirius University of Science and Technology, Krasnodar Region, Russian Federation

^c Branch of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

^d Institute of Cytology and Genetics, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Резюме

Влияние иммунной системы на функции центральной нервной системы (ЦНС) и поведение в основном изучается в контексте воспаления и патологий. Однако в последнее время появляется все больше данных о том, что цитокины поддерживают функциональное состояние ЦНС и участвуют в формировании различных аспектов когнитивных функций. При этом пока остаются не до конца выясненными клеточные источники цитокинов, обуславливающих такие эффекты. Известно, что повышенная продукция IL-6 может быть связана с развитием состояния, сопровождающегося когнитивными нарушениями. В настоящем исследовании рассматривается роль IL-6, продуцируемого резидентными иммунными клетками ЦНС, в поддержании поведенческих функций в гомеостазе. Для ответа на вопрос может ли IL-6-опосредованный сигнальный путь играть роль в поддержании нормальных поведенческих функций были использованы мыши с тамоксифен-индуцибельным удалением IL-6 в CX3CR1⁺ клетках микроглии. Так, было установлено, что удаление IL-6 из микроглии не приводило к изменениям в тревожном поведении в тесте «Черно-белая камера», что говорит об отсутствии связи продукции IL-6 тканерезидентными макрофагами и тревожным расстройством. В то же время, тесты «Лабиринт Барнс» и «Водный лабиринт Морриса» выявили ухудшение формирования долговременной пространственной памяти, что проявлялось в сокращении времени пребывания в целевом секторе у мышей с дефицитом IL-6 в микроглии. Нарушение формирования долговременной пространственной памяти у мышей с генетической инактивацией *Il6* в клетках микроглии также коррелировало с изменением экспрессии генов *C1qa* и *C1qb* в гиппокампе, ответственных за комплемент-зависимый синаптический прунинг. При этом у мышей с инактивацией IL-6 в микроглии не было обнаружено нарушений пространственной ориентации и краткосрочной памяти. Таким образом, у мышей с дефицитом IL-6 в клетках микроглии установлен фенотип ухудшения гиппокамп-зависимой долговременной пространственной памяти, но не наблюдается нарушения в кратковременной памяти и тревожном поведении.

Ключевые слова: Нейроиммунология, цитокины, центральная нервная система, микроглия, поведение.

Abstract

The influence of the immune system on the functions of the central nervous system (CNS) and behavior is mainly studied in the context of inflammation and pathology. However, recent findings highlight the crucial role of cytokines in maintaining functional state of the CNS and participating in the formation of various aspects of cognitive functions. At the same time, the cellular sources of the cytokines that mediate these effects remain unclear. It is known that elevated production of IL-6 may be associated with the development of a condition accompanied by cognitive impairments. This study examines the role of IL-6, resident immune cells of the CNS, in maintaining behavioral function in homeostasis. To examine whether IL-6-mediated signaling plays a role in maintaining normal behavioral functions, mice with tamoxifen-dependent inactivation of IL-6 in CX3CR1⁺ microglia were used. It was found that deletion of IL-6 from microglia did not lead to changes in anxiety behavior in the "Black-White Box" test, indicating the absence of a connection between IL-6 production by tissue-resident macrophages and anxiety disorder. At the same time, "Barnes Maze" and "Morris Water Maze" tests revealed impaired long-term spatial memory formation, manifested by reduced time spent in target sector in mice with IL-6 deficiency in microglia. Impaired long-term spatial memory formation in mice with microglial genetic inactivation of *Il6* also correlated with altered expression of *C1qa* and *C1qb* genes in the hippocampus, responsible for complement-dependent synaptic pruning. However, mice with IL-6 inactivation in microglia showed no impairments in spatial orientation or short-term memory. Thus, mice with IL-6 deficiency in microglia exhibited a phenotype of impaired hippocampus-dependent long-term spatial memory, but no impairments were observed in short-term memory and anxiety behavior.

Keywords: Neuroimmunology, cytokines, central nervous system, microglia, behavior.

1 Введение

Нервная и иммунная системы являются основными сенсорными системами организма, способными к восприятию информации, интеграции сигналов и реакции на изменения среды. Нейроиммунные взаимодействия основаны на клеточных контактах и растворимых факторах, действующих на клетки-мишени локально или дистально. В число молекул, обеспечивающих коммуникацию нервной и иммунной систем, входят нейромедиаторы, нейропептиды, хемокины и цитокины [1]. Интересно, что, с одной стороны, компоненты ЦНС могут экспрессировать рецепторы к провоспалительным цитокинам [2], с другой стороны, иммунные клетки экспрессируют рецепторы к нейромедиаторам, а также способны к их продукции [3]. Такая двусторонняя координация на уровне лиганд-рецептор в нервной и иммунной системах даёт основание предположить, что функциональные нейроиммунные взаимодействия могут играть роль в физиологии ЦНС. Несмотря на то, что взаимодействие нервной и иммунной систем в основном описано в контексте патологии, в настоящее время появляется все больше данных о важности нейроиммунных взаимодействий и в нормальной физиологии организма.

Известно, что повышенный уровень интерлейна-6 (IL-6) может быть ассоциирован с состояниями, характеризующимися когнитивными нарушениями [4]. Более того, блокировка рецептора IL-6 обладает антидепрессантной активностью [5], что может свидетельствовать о вкладе IL-6 как в гомеостаз ЦНС, так и в патогенез состояний, связанных с нарушением когнитивных функций. Однако до сих пор не определены клеточные источники IL-6, ответственные за поддержание такого функционального гомеостаза в ЦНС.

Специализированные иммунные клетки в ЦНС – клетки микроглии могут как получать сигнал от цитокинов за счет экспрессии высокоаффинных рецепторов, так и продуцировать цитокины, такие как IL-6 [4]. Было показано, что IL-6-опосредованный сигнальный путь может участвовать в активации микроглии *in vitro* [6], а также в поддержании фенотипа микроглии [7]. При этом низкий уровень IL-6 присутствует в ЦНС в нормальном физиологическом состоянии [7]. Для ответа на вопрос, играет ли IL-6, продуцируемый клетками микроглии, роль в поддержании поведенческих функций были созданы мыши с тамоксифен-индуцибельным удалением IL-6 в CX3CR1⁺ клетках микроглии. В настоящей работе рассматривается вопрос о том, приводит ли инактивация IL-6 в микроглии к изменению поведенческих особенностей таких мышей в норме.

2 Материалы и методы

Мыши

Мышей с дефицитом IL-6 в микроглии (*Il6^{ΔMG}*) получали путем скрещивания мышей *Cx3cr1^{CreER}*, экспрессирующих тамоксифен-зависимую Cre-рекомбиназу под контролем промотора гена *Cx3cr1* [8], и мышей с «флксированным» геном *Il6* (*Il6^{fl/fl}*) [9]. Все манипуляции по скрещиванию животных и их содержанию до возраста 7 месяцев, а также часть

поведенческих тестов проводили на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023). Часть мышей в возрасте 7 месяцев была передана в испытательный центр Филиала ГНЦ ИБХ РАН, Пущино, для независимого когнитивного исследования. Все манипуляции с мышами в испытательном центре Филиала ГНЦ ИБХ РАН, Пущино были выполнены в соответствии с EU Directive 2010/63/EU и одобрены протоколом заседания Институтской Комиссии по контролю за использованием и содержанием лабораторных животных Филиала ГНЦ ИБХ РАН, Пущино (Протокол номер 987/23 от 12.04.2024). В работе были использованы самцы в возрасте 9-12 недель.

Введение тамоксифена

Для тканеспецифичной инактивации IL-6 исключительно в клетках микроглии мышам с генотипом $Cx3cr1^{CreER} : Il6^{fl/fl}$ и контрольным мышами дикого типа ($Il6^{fl/fl}$) внутрибрюшинно вводили тамоксифен (T5648, Sigma Aldrich) в виде раствора в кукурузном масле в дозе 75 мг/кг в течение 5 дней, а через 14 дней после введения тамоксифена делеция IL-6 происходила как в моноцитах, так и в дендритных клетках, а также в микроглии (рис. 1А). После полной репопуляции $CX3CR1^+$ миелоидных клеток из костного мозга, т. е. через 28 дней после введения тамоксифена, такие мыши сохраняли делецию IL-6 только в популяции долгоживущих тканерезидентных макрофагов, в том числе в клетках микроглии.

Поведенческие тесты

Черно-белая камера. Для определения уровня тревожности на мышах с удалением IL-6 из микроглии был поставлен тест «Черно-белая камера». Эта система представляла собой двухкамерную коробку, состоящую из светлой и черной камер, разделенных между собой черной стенкой с автоматически поднимающейся дверцей. В начале животное помещали в светлую камеру при закрытой дверце между двумя камерами, после чего через 45 секунд дверца между камерами автоматически открывалась. В течение 5 минут после открывания дверцы регистрировались количество заходов и время нахождения в светлой камере.

Лабиринт Барнс. Для тестирования долговременной пространственной памяти мышей в течение 4 последовательных дней обучали находить истинное убежище в специальной установке, оснащенной плоской ареной с 40 отверстиями. Истинное убежище помещалось под одним из отверстий, его расположение оставалось постоянным для каждого животного. Внешние визуальные ориентиры помещались в комнате с установкой до начала теста. Ежедневное обучение животных включало 3 попытки в день с интервалом 10 минут, в ходе которых животное последовательно помещали в различные секторы и определяли латентное время освобождения (с), в течение которого животное находило убежище. На 5-й день проводили проверку пространственной памяти. Для этого убежище убирали, животное 3 раза с

интервалом 10 минут помещали в центр арены и в течение 1 минуты трассировали его движения, после чего определяли среднее время нахождения в целевом секторе.

Водный лабиринт Морриса. Формирование долговременной пространственной памяти также оценивали путем обучения мышей запоминать расположение платформы. В течение 4 дней мышей обучали находить скрытую под водой платформу в круглом бассейне. Ежедневное обучение проводили в качестве 3 попыток с интервалом 30 с между ними. В ходе каждой попытки животное последовательно запускали их разных секторов бассейна и фиксировали движение в течение 60 секунд. В результате теста было зарегистрировано латентное время освобождения (с), затраченное животным на поиск и восхождение на платформу. **Если животное не находило платформу, то латентное время фиксировали как 60 секунд.** Для каждого дня вычисляли средние значения латентного времени по всем попыткам. На 5-й день проводили контрольное тестирование, в ходе которого удаляли платформу и животное трижды помещали в центр бассейна с интервалом 30 с. В результате тестирования определяли время нахождения в каждом секторе (%) и вычисляли средние значения для 3 попыток.

Открытое поле. Для возможности адаптироваться мышью перемещали в тихое слабо освещенное место не менее чем за 60 минут до начала тестирования, после чего животных помещали в центр арены диаметром (диаметром 50 см на 50 и высотой 38 см). Животным предоставлялась возможность свободно перемещаться по соответствующему квадратному лабиринта в течение 10 минут, в течение которых регистрировалась двигательная активность. В результате тестирования измеряли общее расстояние передвижения (см).

Y-образный лабиринт. Для обнаружения нарушений пространственной ориентации животное помещали в один из рукавов и оставляли на 8 минут свободно перемещаться по лабиринту, состоящему из трех рукавов и соединенных друг с другом под углом 120 градусов. Для облегчения ориентации животных в пространстве с трех сторон были размещены визуальные метки. В тесте регистрировали триплеты – последовательные заходы животного в три рукава. Если животное заходило в три разных рукава, это считалось «правильным» триплетом, или чередованием (alternation). Триплеты считали начиная с первого захода в рукав и затем после захода в каждый последующий рукав (например каждый рукав называем А, Б и В, животное заходит в рукава в последовательности АБВБАВ – триплеты этой последовательности считаются так – АБВ (правильный), БВБ (неправильный), ВБА (правильный), БАВ (правильный)). Процент чередований («правильных» триплетов) считали от общего числа триплетов за 8 минут.

Распознавание нового объекта. Тестирование эпизодической памяти проводилось в конфигурации «Спонтанное распознавание нового объекта», которое длилось последовательно в течение 3 дней. В первый день животное помещали у стенки круглой арены и позволяли свободно исследовать

пространство в течение 5 минут. Во второй день на арене размещали 2 идентичных объекта, после чего каждому животному предоставляли возможность ознакомиться с этими объектами в течение 5 минут. В последний день один из объектов был заменен на новый, который отличался по цвету и форме, после чего, животному на ознакомление с изменившимися условиями давалось 5 минут. В результате теста были зарегистрированы пройденный путь и время нахождения животного вблизи каждого объекта.

Измерение экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени

РНК образцов легких подвергали обратной транскрипции для синтеза кДНК с использованием набора для синтеза кДНК RevertAid First Strand (Thermo, США). Измерение экспрессии генов проводили с использованием qPCRmix-HS SYBR («Евроген»). Анализ экспрессии генов проводили с использованием 7500 Real Time PCR System Amplificator (Applied Biosystems) и следующего набора праймеров (табл. 1). Для определения относительной экспрессии генов применяли сравнительный метод $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 9. При соответствии данных нормальному распределению по всем критериям дальнейший анализ осуществляли с помощью t-теста, при несоответствии по одному из этих критериев использовали критерий Манн-Уитни. Различия считали достоверными при * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$, ns (non-significant) – нет разницы.

3 Результаты и обсуждение

IL-6 – многофункциональный цитокин, играющий важную роль не только в функционировании иммунной системы, но и в физиологии ЦНС. Исследования на мышах показали, что генетическая инактивация IL-6 может приводить к формированию депрессивно-подобного поведения [10], а также к нарушениям в формировании гиппокамп-зависимой и независимой памяти [11]. Роль IL-6 в регуляции поведения подтверждается и в клинических исследованиях. Так, у людей с диагностированным тревожным расстройством продемонстрировано повышение системного уровня IL-6 в крови, что может коррелировать с тяжестью тревожного расстройства [12]. Однако конкретный клеточный источник IL-6, ответственный за данную функцию, остается невыясненным.

Микроглия, тканерезидентные макрофаги ЦНС, играет важную роль в нормальном функционировании ЦНС, в том числе за счет взаимодействий с нейронами, астроцитами и олигодендроцитами. Ранее была показана роль IL-6, продуцируемого микроглией, в поддержании функционирования ЦНС в норме и патологии [13]. Так, мыши с делецией IL-6 в микроглии оказались частично устойчивыми к развитию заболевания и характеризовались более мягкими симптомами течения экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ) по сравнению с мышами дикого типа. Кроме того, инактивация IL-6 в микроглии приводила к снижению количества В-, Т-клеток и ILC3 в ЦНС, что свидетельствует о том, что IL-6, продуцируемый

микроглией, необходим для поддержания этих резидентных иммунных клеток в гомеостазе.

Для ответа на вопрос может ли IL-6-опосредованный сигнальный путь играть роль в поддержании нормальных поведенческих функций были проведены поведенческие тесты на мышах с тамоксифен-индуцибельным вырезанием IL-6 в CX3CR1⁺ микроглии (рис. 1А). Так, для определения уровня тревожности на мышах с удалением IL-6 в микроглии был поставлен тест «Черно-белая камера», а для оценки формирования долговременной памяти – тест «Лабиринт Барнс» (сухопутный аналог водного лабиринта Морриса). Тест «Черно-белая камера» (ЧБК) проводили в приборе Multiconditioning, TSE. В начале животное помещали в светлую камеру при закрытой дверце между двумя камерами, после чего через 45 секунд дверца между камерами автоматически открывалась. В течение 5 минут после открывания дверцы регистрировались количество заходов и время нахождения в светлой камере, поскольку эти показатели служат признаком тревожного поведения у мышей [14]. Оказалось, что у мышей с удалением IL-6 в микроглии не изменялось время нахождения в светлом отсеке ЧБК по сравнению с контрольными мышами (рис. 1Б). Эти результаты свидетельствуют о том, что удаление IL-6 из микроглии не приводило к изменениям в тревожном поведении.

Тестирование долговременной пространственной памяти у мышей с инактивацией IL-6 в микроглии проводили в тесте «Лабиринт Барнс», определяя после четырехдневного обучения, способность к запоминанию расположения «убежища» путем определения времени нахождения животного в целевом секторе (где находилось «убежище») относительно общего времени пребывания животного на платформе лабиринта. Было установлено, что самцы с удалением IL-6 в микроглии имели тенденцию к сокращению времени, проведенного в целевом секторе, то есть к ухудшению пространственной ориентации и запоминания (рис. 1В). При этом аналогичный эксперимент на смешанных группах показал статистически достоверную разницу (данные не представлены). Для подтверждения фенотипа нарушенной пространственной памяти было проведено дополнительное независимое исследование – тест «Водный лабиринт Морриса». Так, у мышей с инактивацией IL-6 в клетках микроглии наблюдалось достоверное уменьшение времени, проведенного в целевом секторе (рис. 1Г). Полученные результаты свидетельствуют о том, что мыши с удалением IL-6 из микроглии запоминали убежище хуже, чем контрольная группа. Примечательно, что тест «Открытое поле», оценивающий двигательную активность, установил схожую способность к передвижению как мышей с удалением IL-6 в микроглии, так и мышей дикого типа (рис. 1Д), а именно не было выявлено статистической разницы в общем пройденном расстоянии. Таким образом, инактивация IL-6 в клетках микроглии затрагивает конитивные нарушения, но без сопутствующих изменений в двигательной активности.

Известно, что микроглия участвует в синаптическом прунинге, физиологическое значение которого заключается в формировании памяти и

обучаемости. Нарушение прунинга ассоциировано с такими патофизиологическими состояниями, как шизофрения и аутизм [15]. Один из механизмов синаптического прунинга включает в себя участие белков системы комплемента – происходит за счет взаимодействия CR3 (CD11b) на поверхности микроглии и белка C3 в участке синапса [16]. Синаптический прунинг также может зависеть от взаимодействия характеристического рецептора микроглии CX3CR1 с CX3CL1, продуцируемым нейронами [17]. Для изучения состояния синаптического прунинга был проведен анализ экспрессии соответствующих генов в гиппокампе мозга мышей с инактивацией IL-6 в микроглии. Показано, что удаление IL-6 в микроглии приводило к изменению экспрессии генов в гиппокампе, таких как *C1qa* и *C1qb*, ответственных за комплемент-зависимый синаптический прунинг (рис. 1Е). Таким образом, мыши с дефицитом IL-6 демонстрируют фенотип ухудшения гиппокамп-зависимой долговременной пространственной памяти, что опосредованно изменением экспрессии генов *C1qa* и *C1qb* в гиппокампе.

Для дальнейшего изучения поведенческих особенностей мышей с удалением IL-6 из микроглии были поставлены дополнительные тесты, оценивающие формирование кратковременной рабочей памяти. Так, с помощью теста «У-образный лабиринт» была оценена пространственная рабочая память. Было показано, что у мышей с удалением IL-6 в микроглии не изменялся процент чередований («правильных триплетов») по сравнению с мышами дикого типа, что говорит об отсутствии нарушений в формировании пространственной рабочей памяти (рис. 2А).

Тестирование эпизодической памяти проводилось в тесте «Распознавание нового объекта» в конфигурации «Спонтанное распознавание нового объекта». Было установлено, что разница в пройденном пути отсутствовала во всех экспериментальных группах (рис. 2Б). При этом, мыши с дефицитом IL-6 в микроглии не демонстрировали изменений во времени нахождения вблизи как старого, так и нового объектов по сравнению с мышами дикого типа (рис. 2Б). Суммируя, вышеописанные результаты свидетельствуют о том, что удаление IL-6 в микроглии ассоциировано только с изменениями в формировании долговременной пространственной памяти, но не с изменениями в кратковременной памяти (рис. 2В).

4 Заключение

В настоящей работе показано, что удаление IL-6 в клетках микроглии не приводило к изменениям в тревожном поведении. Это дает основание предположить, что, скорее всего, повышение системного уровня IL-6 в крови у людей с тревожным расстройством не связано с продукцией IL-6 тканерезидентными макрофагами. Недавнее исследование [18] показало, что нарушение функции менингеальных лимфатических сосудов приводит к активации микроглии и повышению экспрессии IL-6, что сопровождается смещением баланса возбуждающих и тормозных синапсов в коре и ухудшением когнитивных функций. В нашей модели с клеточно-специфичной инактивацией *Il6* в микроглии, напротив, наблюдается

нарушение формирования пространственной памяти. Таким образом, как гиперэкспрессия, так и дефицит IL-6 ассоциированы с когнитивными нарушениями, предположительно обусловленными синаптическими изменениями, реализуемыми через различные механизмы.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-24-00389).

ТАБЛИЦЫ

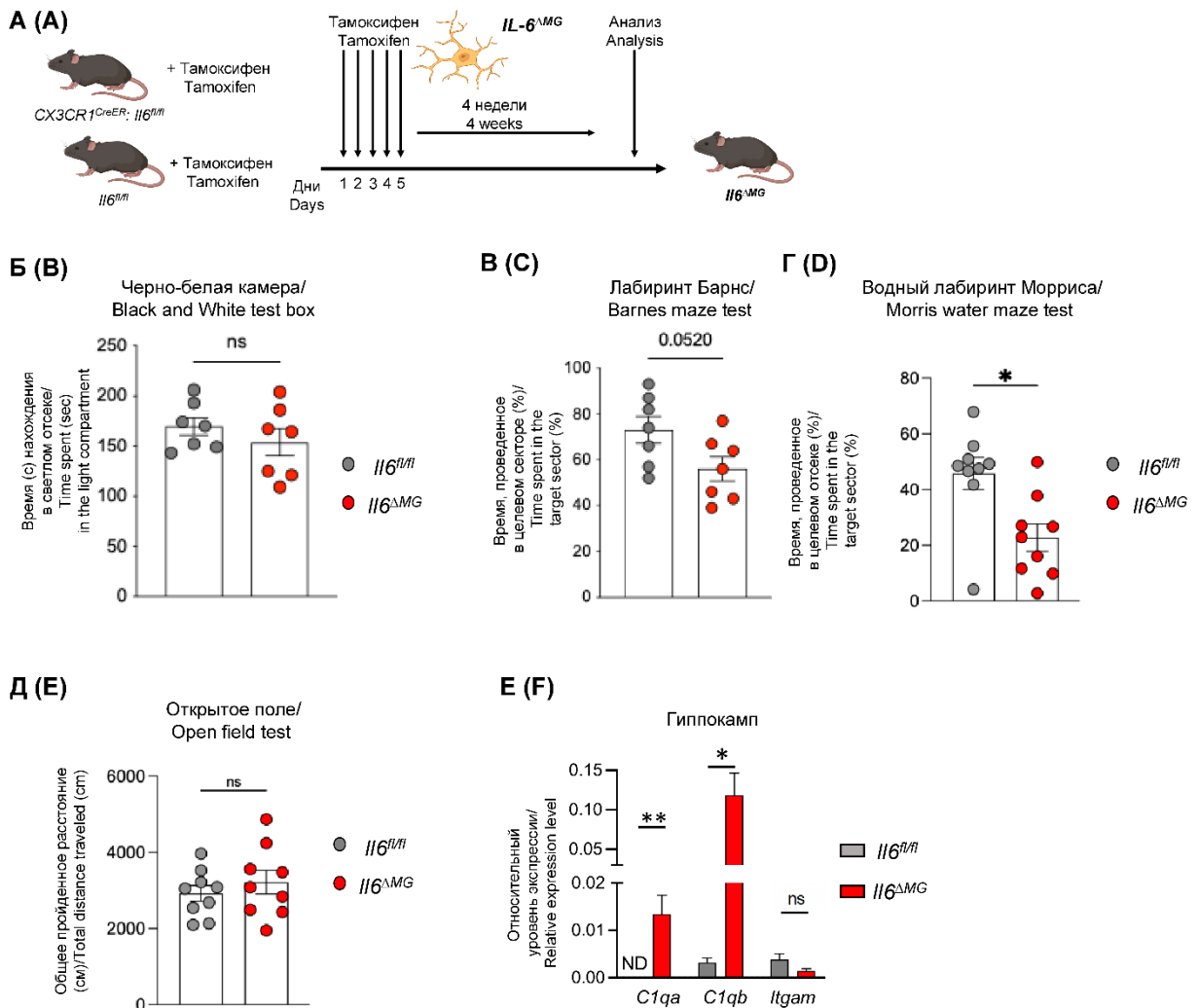
Таблица 1. Последовательности праймеров для анализа экспрессии генов
Table 1. Nucleotide sequences of primers for analysis of gene expression

Ген Gene	Прямая последовательность Forward sequence	Обратная последовательность Reverse sequence
<i>Actb</i>	CTCCTGAGCGCAAGTACTCT GTG	TAAAACGCAGCTCAGTAACAG TCC
<i>C1qa</i>	GACTGAAGGGCGTGAAAGG	CGTGTGGTTCTGGTATGGAC
<i>C1qb</i>	CTCTACTACTTCACCTATCAT GCC	TGCTCTAGCTTCAAGACTACC
<i>Itga</i> <i>m</i> (<i>CR3</i>)	CGCTACGTAATTGGGGTG	GTA

РИСУНКИ

Рисунок 1. Удаление IL-6 в микроглии ассоциировано с нарушением в формировании долгосрочной пространственной памяти, но не в тревожном поведении.

Figure 1. IL-6 depletion in microglia is associated with changes in long-term spatial memory formation but not in anxious behavior.



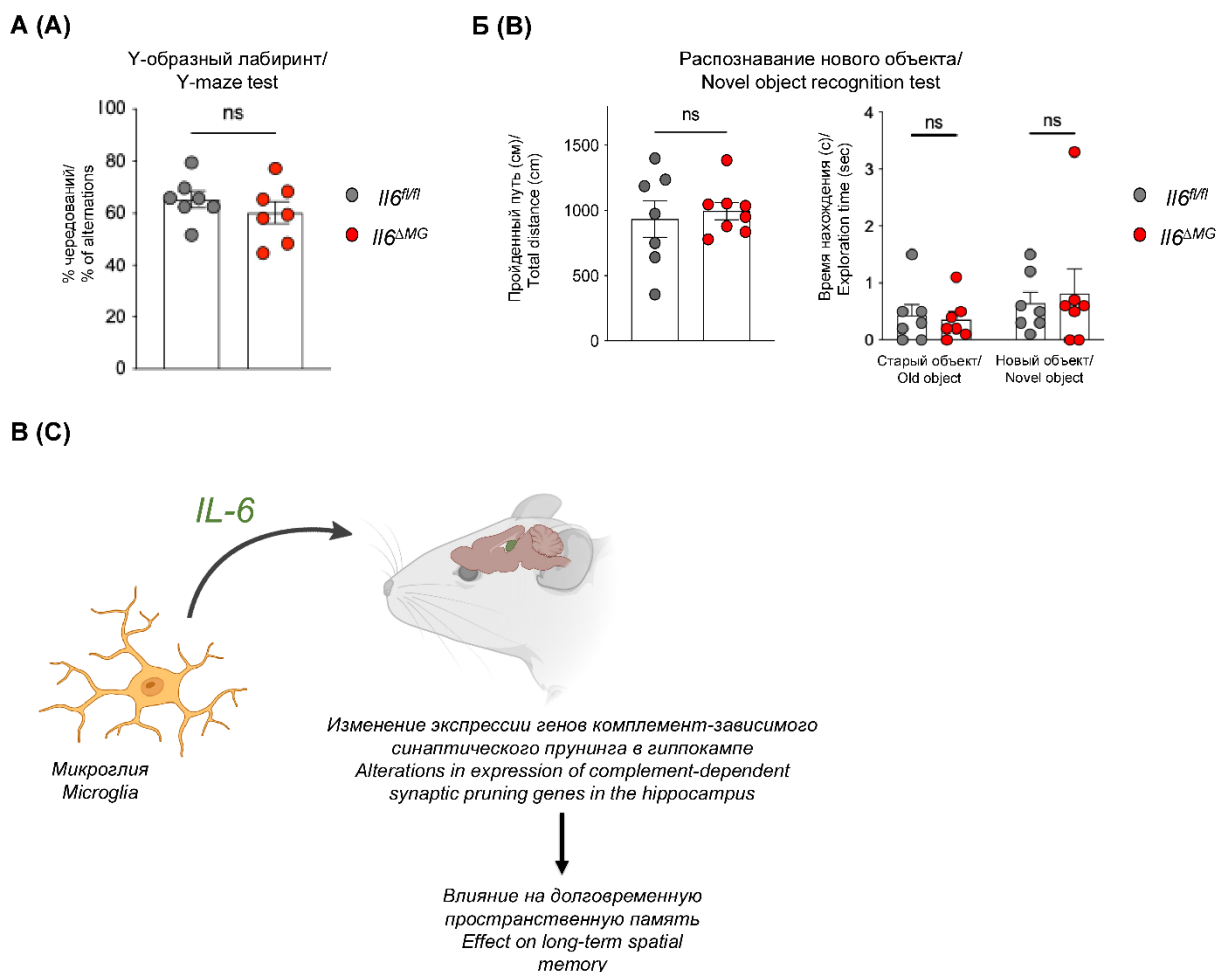
А - Схема эксперимента. Мышам вводили тамоксифен из расчета 75 мкг/г в течение 5 дней. Далее, через 7-14 дней после курса тамоксифена вырезание *IL-6* детектировали как в тканерезидентных *CX3CR1⁺* макрофагах, так и в *CX3CR1⁺* моноцитах и дендритных клетках, но уже через 28 дней происходило обновление пула клеток из костного мозга и дефицит *IL-6* сохранялся только в тканерезидентных макрофагах, в том числе в микроглии. **Б** - Время нахождения в светлом отсеке (с) в тесте «Черно-белая камера». **В** - Доля времени (%), проведенного в целевом секторе платформы на 5-й день после обучения нахождению убежища в тесте «Лабиринт Барнс». **Г** - Доля времени (%), проведенного в целевом секторе платформы на 5-й день после обучения нахождению убежища в тесте «Водный лабиринт Морриса». **Д** - Общее пройденное расстояние (см) в течение 10 минут в тесте «Открытое поле». **Е** - Уровень относительной экспрессии генов *C1qa*, *C1qb* и *Cr3* относительно

Actb в гиппокампе *Il6^{fl/fl}* или *Cx3cr1^{CreER} : Il6^{fl/fl} (*Il6^{ΔMG}*)* мышей на 28 день после введения тамоксифена. Статистический анализ проведен с помощью t-test или критерия Манн-Уитни. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ns – нет различий.

A - Scheme of the experiment. Mice were administered Tamoxifen (75 μg/g) for 5 consecutive days. At 7-14 days after Tamoxifen injections, *Il-6* deletion was detected in both tissue-resident macrophages and monocytes/dendritic cells, but after 28 days, replenishment of the monocyte pool from the bone marrow occurred and *Il-6* deficiency was retained only in tissue-resident macrophages including microglia. **B** - Time spent (sec) in the light compartment in «Black and White test box». **C** - Time spent (%) in the target sector of the platform on day 5 after learning to find a refuge in «Barnes maze test». **D** - Time spent (%) in the target sector of the platform on day 5 after learning to find a refuge in «Morris water maze test». **E** – Total distance traveled (cm) during 10 minutes in «Open field test». **F** - Relative gene expression level of *C1qa*, *C1qb* and *Cr3* normalized to *Actb* in the hippocampus of *Il6^{fl/fl}* или *Cx3cr1^{CreER} : Il6^{fl/fl} (*Il6^{ΔMG}*)* mice on day 28 after Tamoxifen administration. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ns - non-significant (t-test or Mann-Whitney test was used).

Рисунок 2. IL-6, продуцируемый микроглией, не требуется для формирования кратковременной пространственной памяти.

Figure 2. Microglia-derived IL-6 is not required for short-term spatial memory formation.



А - Доля чередований (последовательных заходов в три разных рукава) от общего количества триплетов (последовательных заходов в три рукава) в тесте «Y-образный лабиринт». **Б** - Пройденный путь (см) и время (с) нахождения животного вблизи каждого объекта после 2-х дневного ознакомления объектов на арене в тесте «Распознавание нового объекта». **В** - IL-6, продуцируемый микроглией, необходим для формирования гиппокамп-зависимой долгосрочной пространственной памяти. Статистический анализ проведен с помощью t-test или критерия Манн-Уитни, ns – нет различий.

А - The percent of alternations (successive entries into three different arms) from the total number of triplets (successive entries into three arms) in the Y-maze test. **Б** - Total distance (cm) and time (sec) spent by the animal near each object after 2 days of familiarization with the objects in the arena in «Novel object recognition test». **В** - Microglia-derived IL-6 is required for Hippocampus-dependent long-term spatial memory formation. ns – non-significant (t-test or Mann-Whitney test was used).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Намаканова О.А. –младший научный сотрудник Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия;

адрес: Ул. Вавилова, 32, Москва, Россия, 119334;

телефон: +79025202499;

e-mail: olga.namakanova@gmail.com

Namakanova Olga A. - Junior Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

address: 119334. 32, Vavilov st., Moscow, Russia;

телефон: +79025202499;

e-mail: olga.namakanova@gmail.com

Блок 2. Информация об авторах

Гоголева В.С. – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия;

Gogoleva V.S. – PhD, junior Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

Туховская Е.А. – кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник Филиала Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН;

Tukhovskaya E.A. – PhD, senior researcher, Branch of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia;

Шайхутдинова Э.Р. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Филиала Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН;

Shaykhutdinova E.R. - PhD, senior researcher, Branch of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia;

Слащева Г.А. - кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Филиала Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН;

Slashcheva G.A. - PhD, senior researcher, Branch of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia;

Исмаилова А.М. – младший научный сотрудник Филиала Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН;

Ismailova A.M. – junior researcher, Branch of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia;

Хоцкин Н.В. - к.б.н. Научный сотрудник Сектора генетических коллекций нейропатологий. ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН Новосибирск, Россия;

Khotskin N.V. - Ph.D, Research Officer, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

Друцкая М.С. – д.б.н., ведущий научный сотрудник Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва; доцент, Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия;

Drutskaya M.S. - PhD, MD, Leading Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow; Assistant Professor, Sirius University of Science and Technology, Krasnodar Region, Russian Federation.

Блок 3. Метаданные статьи

IL-6, ПРОДУЦИРУЕМЫЙ МИКРОГЛИЕЙ, ВАЖЕН ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ
ГИППОКАМПИ-ЗАВИСИМОЙ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ
ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ
MICROGLIA-DERIVED IL-6 IS REQUIRED FOR HIPPOCAMPUS-
DEPENDENT LONG-TERM SPATIAL MEMORY FORMATION

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

IL-6 В МИКРОГЛИИ И ПОВЕДЕНИЕ
IL-6 IN MICROGLIA AND BEHAVIOR

Ключевые слова: Нейроиммунология, цитокины, центральная нервная система, микроглия, поведение.

Keywords: Neuroimmunology, cytokines, central nervous system, microglia, behavior.

Краткие сообщения.

Количество страниц текста – 7,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 2.

25.10.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
[1]	Veiga-Fernandes H, Mucida D. Neuro-Immune Interactions at Barrier Surfaces. Cell. 2016 May 5;165(4):801-11.	-	https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(16)30484-6?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867416304846%3Fshowall%3Dtrue DOI: 10.1016/j.cell.2016.04.041
[2]	Salvador AF, de Lima KA, Kipnis J. Neuromodulation by the immune system: a focus on cytokines. Nat Rev Immunol. 2021 Aug;21(8):526-541.	-	https://www.nature.com/articles/s41577-021-00508-z DOI: 10.1038/s41577-021-00508-z .
[3]	Hodo TW, de Aquino MTP, Shimamoto A,	-	https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles

	Shanker A. Critical Neurotransmitters in the Neuroimmune Network. Front Immunol. 2020 Aug 21;11:1869.		/10.3389/fimmu.2020.01869/full DOI: 10.3389/fimmu.2020.01869
[4]	Gruol DL. IL-6 regulation of synaptic function in the CNS. Neuropharmacology. 2015 Sep;96(Pt A):42-54.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S028390814003980?via%3Dihub DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.10.023
[5]	Kappelmann N, Lewis G, Dantzer R, Jones PB, Khandaker GM. Antidepressant activity of anti-cytokine treatment: a systematic review and meta-analysis of clinical trials of chronic inflammatory conditions. Mol Psychiatry. 2018 Feb;23(2):335-343. doi: 10.1038/mp.2016.167.	-	https://www.atsjournals.org/doi/10.1165/rcmb.2016-0121TR?url_ver=Z39.88-https://www.nature.com/articles/mp2016167 DOI: 10.1038/mp.2016.167
[6]	Krady JK, Lin HW, Liberto CM, Basu A, Kremlev SG, Levison SW. Ciliary neurotrophic factor and	-	https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.21620 DOI: 10.1002/jnr.21620

	interleukin-6 differentially activate microglia. J Neurosci Res. 2008 May 15;86(7):1538-47.		
[7]	Geirsdottir L, David E, Keren-Shaul H, Weiner A, Bohlen SC, Neuber J, Balic A, Giladi A, Sheban F, Dutertre CA, Pfeifle C, Peri F, Raffo-Romero A, Vizioli J, Matiassek K, Scheiwe C, Meckel S, Mätz-Rensing K, van der Meer F, Thormodsson FR, Stadelmann C, Zilkha N, Kimchi T, Ginhoux F, Ulitsky I, Erny D, Amit I, Prinz M. Cross-Species Single-Cell Analysis Reveals Divergence of the Primate Microglia Program. Cell. 2019 Dec 12;179(7):1609-1622.e16.	-	https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(19)31231-0?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867419312310%3Fshowall%3Dtrue DOI: 10.1016/j.cell.2019.11.010
[8]	Yona S, Kim KW, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, Strauss-Ayali	-	https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(12)00548-

	D, Viukov S, Guilliams M, Misharin A, Hume DA, Perlman H, Malissen B, Zelzer E, Jung S. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. Immunity. 2013 Jan 24;38(1):79-91.		1? returnUrl=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761312005481%3Fshowall%3Dtrue DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.001
[9]	Quintana A, Erta M, Ferrer B, Comes G, Giralt M, Hidalgo J. Astrocyte-specific deficiency of interleukin-6 and its receptor reveal specific roles in survival, body weight and behavior. Brain Behav Immun. 2013 Jan;27(1):162-73.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889159112004734?via%3Dihub DOI: 10.1016/j.bbi.2012.10.011
[10]	Chourbaji S, Urani A, Inta I, Sanchis-Segura C, Brandwein C, Zink M, Schwaninger M, Gass P. IL-6 knockout mice exhibit resistance to stress-induced development of depression-	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096999610600115X?via%3Dihub DOI: 10.1016/j.nbd.2006.05.001

	like behaviors. Neurobiol Dis. 2006 Sep;23(3):587-94.		
[11]	Baier PC, May U, Scheller J, Rose-John S, Schiffelholz T. Impaired hippocampus-dependent and -independent learning in IL-6 deficient mice. Behav Brain Res. 2009 Jun 8;200(1):192-6.		https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166432809000370?via%3Dihub DOI: 10.1016/j.bbr.2009.01.013
[12]	Vogelzangs N, de Jonge P, Smit JH, Bahn S, Penninx BW. Cytokine production capacity in depression and anxiety. Transl Psychiatry. 2016 May 31;6(5):e825.		https://www.nature.com/articles/tp201692 DOI: 10.1038/tp.2016.92
[13]	Gogoleva VS, Nguyen QC, Drutskaya MS. Microglia and Dendritic Cells as a Source of IL-6 in a Mouse Model of Multiple Sclerosis. Biochemistry (Mosc). 2024 May;89(5):904-911.		http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v89/full/89050904.html DOI: 10.1134/S0006297924050109
[14]	Takao K, Miyakawa T. Light/dark transition test for mice. J Vis Exp. 2006 Nov 13;(1):104.		https://app.jove.com/t/104/lightdark-transition-test-for-mice DOI: 10.3791/104

[15]	Sellgren CM, Gracias J, Watmuff B, Biag JD, Thanos JM, Whittredge PB, Fu T, Worringer K, Brown HE, Wang J, Kaykas A, Karmacharya R, Goold CP, Sheridan SD, Perlis RH. Increased synapse elimination by microglia in schizophrenia patient-derived models of synaptic pruning. Nat Neurosci. 2019 Mar;22(3):374-385.	https://www.nature.com/articles/s41593-018-0334-7 DOI: 10.1038/s41593-018-0334-7
[16]	Schafer DP, Lehrman EK, Kautzman AG, Koyama R, Mardinly AR, Yamasaki R, Ransohoff RM, Greenberg ME, Barres BA, Stevens B. Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. Neuron. 2012 May 24;74(4):691-705.	https://www.cell.com/neuron/fulltext/S0896-6273(12)00334-0?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0896627312003340%3Fshowall%3Dtrue DOI: 10.1016/j.neuron.2012.03.026
[17]	Paolicelli RC, Bolasco G, Pagani F, Maggi L, Scianni M, Panzanelli P, Giustetto M,	https://www.science.org/doi/10.1126/science.1202529

	Ferreira TA, Guiducci E, Dumas L, Ragozzino D, Gross CT. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. Science. 2011 Sep 9;333(6048):1456-8.		DOI: 10.1126/science.1202529
[18]	Kim K, Abramishvili D, Du S, Papadopoulos Z, Cao J, Herz J, Smirnov I, Thomas JL, Colonna M, Kipnis J. Meningeal lymphatics-microglia axis regulates synaptic physiology. Cell. 2025 May 15;188(10):2705-2719.e23.		https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(25)00210-7 DOI: 10.1016/j.cell.2025.02.022