

## ВЛИЯНИЕ КОНДИЦИОННЫХ СРЕД МАКРОФАГОВ НА ФЕНОТИП И ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК ЛИНИИ НЕЙРОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА SH-SY5Y

©2019 г. И. М. Рашупкин\*, М. А. Тихонова, Т. В. Тыринова, Л. В. Сахно, Е. Я. Шевела

\*E-mail: [iwwwanbets@mail.ru](mailto:iwwwanbets@mail.ru)

ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии»,  
Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 03.04.2019

В работе исследовано влияние кондиционных сред M1 и M2 макрофагов на фенотип и пролиферацию клеток линии нейробластомы человека SH-SY5Y. Установлено, что кондиционные среды M2-макрофагов, генерируемых в присутствии ГМ-КСФ в условиях дефицита ростовых факторов, оказывают выраженный стимулирующий эффект на пролиферацию клеток линии SH-SY5Y. Уровень экспрессии CD271, низкоаффинного рецептора к фактору роста нервов (NGF), коррелирует с морфологией клеток: в культурах с преобладанием нейроноподобных клеток («N-type») количество CD271<sup>+</sup> клеток значительно больше по сравнению с культурами, где преобладают клетки с морфологией мезенхимальных/стромальных клеток («S-type»). Получены предварительные данные, свидетельствующие о выраженных гуморальных нейропротективных эффектах M2 макрофагов.

**Ключевые слова:** M1 и M2 макрофаги, кондиционные среды, линия нейробластомы человека SH-SY5Y

DOI: 10.31857/S102872210006548-7

Адрес: 630091 Новосибирск, ул. Ядринцевская 14 ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, лаборатория клеточной иммунотерапии, Рашупкин Иван Михайлович.  
Тел./факс: +7(383) 2282101  
E-mail: [iwwwanbets@mail.ru](mailto:iwwwanbets@mail.ru)

### Авторы:

**Рашупкин И. М.**, ординатор 2-го года обучения ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Тихонова М. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Тыринова Т. В.**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Сахно Л. В.**, к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Шевела Е. Я.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Клетки микроглии и макрофаги (Мф) играют важную роль в регуляции нейрорегенеративных процессов, при этом регенеративным потенциалом обладают Мф 2 типа (M2), характеризующиеся противовоспалительными нейропротективными эффектами, в то время как M1 макрофаги могут проявлять нейродеструктивные свойства [1]. В качестве одного из ведущих механизмов регенеративной активности макрофагов рассматривается их способность продуцировать широкий спектр цитокинов и ростовых / трофических факторов.

Целью данной работы явилась оценка влияния кондиционных сред M1 и M2 макрофагов на фенотип и пролиферативную активность клеток линии нейробластомы человека SH-SY5Y.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клетки линии SH-SY5Y культивировали в среде DMEM/F12 с 15% FCS, обновляя сре-

ду каждые 3–4 дня. Для оценки пролиферативной активности клетки линии культивировали в плоскодонных 96-луночных планшетах в концентрации  $10^4$ /луночку в течение 24, 48 и 72 ч в условиях, модулирующих *in vitro* ишемию (2% FCS). Кондиционную среду (КС) М1 и М2 макрофагов добавляли в лунки в количестве 50% (v/v). В качестве М1 использовали ГМ-КСФ-дифференцированные Мф, генерированные из моноцитов крови здоровых доноров в течение 7 сут; М2 получали при культивировании моноцитов в течение 7 сут в условиях дефицита ростовых факторов [2]. Пролиферативную активность клеток SH-SY5Y оценивали по включению  $^3\text{H}$ -тимидина. Относительное содержание  $\text{CD271}^+$  клеток определяли при помощи проточной цитометрии.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Через 72 ч культивирования в условиях, модулирующих ишемию, т.е., с 2% FCS, уровень пролиферативного ответа клеток линии SH-SY5Y снижался на 44% по сравнению с нормальным содержанием сыворотки (15% FCS) – в среднем с 4460 до 3080 имп/мин. Культивирование клеток SH-SY5Y в присутствии КС М1 и М2 макрофагов в течение 72 ч приводило к увеличению пролиферативного ответа, уровень которого в результате превышал уровень пролиферации в культурах с 15% FCS. При этом стимулирующий эффект КС М2 макрофагов превышал таковой у КС М1 – индекс стимуляции 4,6 vs 2,3. Исследование временной динамики стимулирующего эффекта КС М2 макрофагов показало, что увеличение уровня пролиферации клеток SH-SY5Y наблюдалось уже через 24 ч культи-

вирования (11360 vs 8120 имп/мин в контроле), с последующим нарастанием эффекта через 48 ч (19650 vs 8200 имп/мин) и 72 ч (38580 vs 14480 имп/мин). Анализ экспрессии CD271, низкоаффинного рецептора к фактору роста нервов (NGF) [3], выявил низкий уровень экспрессии (4%) в культурах SH-SY5Y, большая часть которых имела морфологию «S-типа» (мезенхимальные/стромальные клетки). В культурах с преобладанием клеток «N-типа» (нейроноподобные) количество  $\text{CD271}^+$  клеток значительно возрастало (до 33%). Полученные данные позволяют заключить, что 1) КС М2 и М1 макрофагов оказывают стимулирующий эффект на пролиферацию клеток линии SH-SY5Y; 2) способность КС-М2 усиливать пролиферацию клеток линии SH-SY5Y превышает аналогичную активность М1 макрофагов; 3) стимулирующий эффект КС-М2 проявляется уже через 24 ч, достигая максимума через 72 ч культивирования; 4) экспрессия CD271 возрастает при увеличении доли нейроноподобных клеток, т.е. ассоциирована с морфологией клеток.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hu X., Leak R.K., Shi J., Suenaga J., Gao Y., Zheng P., Chen J. Microglial and macrophage polarization – new prospects for brain repair. *Nat Rev Neurol.* 2015,11(1), 56–64.
2. Sakhno L.V., Shevela E.Ya., Tikhonova M.A., Ostannin A.A., Chernykh E.R. *Scandinavian journal of Immunology.* 2015. 83, 151–159.
3. Ferlemann F.C., Menon V., Condurat A.L., Rößler J., Pruszkak J. Surface marker profiling of SH-SY5Y cells enables small molecule screens identifying BMP4 as a modulator of neuroblastoma differentiation. *Sci Rep.* 2017, 7(1), 1–14.

## EFFECT OF MACROPHAGE CONDITION MEDIA ON PHENOTYPE AND PROLIFERATION OF HUMAN NEUROBLASTOMA CELL LINE SH-SY5Y

© 2019 I. M. Rashchupkin\*, M. A. Tikhonova, T. V. Tyrinova,  
L. V. Sakhno, E. Ya. Shevela

\*E-mail: iwwwanbets@mail.ru

Federal Budget Institution of Science «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia;

Received: 15.03.2019. Accepted: 03.04.2019

The study investigated the effect of conditioned media of M1 and M2 macrophages on the phenotype and proliferation of the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. It has been established that conditioned media of M2 macrophages, generated in the presence of GM-CSF under deficiency of growth factors, have a pronounced stimulating effect on the SH-SY5Y cell proliferation. The expression of the low-affinity nerve growth factor receptor, CD271, correlates with cell morphology: in cultures with a predominance of N-type cells, the number of CD271<sup>+</sup> cells is significantly higher compared to cultures dominated by S-type cells.

*Key words:* M1 and M2 macrophages, macrophage-conditioned medium, neuroblastoma cell line SH-SY5Y

### Authors:

**Rashchupkin I. M.**, ✉ second year resident of the Laboratory of Cellular Immunotherapy of Federal Budget Institution of Science «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. E-mail: iwwwanbets@mail.ru;

**Tikhonova M. A.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Tyrinova T. V.**, PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Sakhno L. V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Shevela E. Ya.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.