

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОДУКЦИИ MMP-9 и TIMP-1 РАЗЛИЧНЫМИ ПОДТИПАМИ МАКРОФАГОВ

© 2019 г. А. А. Янковская, Л. В. Сахно, Е. Я. Шевела

*E-mail: shevelak@mail.ru*

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

Поступила: 15.03.2019. Принята: 27.03.2019

В работе приведена сравнительная характеристика продукции MMP-9 и TIMP-1 различными подтипами макрофагов (Мф), дифференцированными в присутствии ГМ-КСФ и поляризованными в М1, М2а и М2с клетки. Было показано, что все исследуемые подтипы Мф продуцировали как MMP-9, так и TIMP-1. В то же время соотношение MMP-9/TIMP-1 было достоверно выше у М2с Мф по сравнению с М1 и М2а, что может указывать на важную роль М2с макрофагов в процессах ремоделирования и ограничения фиброза.

**Ключевые слова:** макрофаги, металлопротеиназа-9 (MMP-9), тканевой ингибитор металлопротеиназ-1 (TIMP-1)

DOI: 10.31857/S102872210006493-7

Адрес: 630091 Новосибирск, ул. Ядринцевская 14 ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клеточной иммунотерапии, Янковская Александра Александровна. Тел./факс: +7(383) 2282101

**E-mail:** shevelak@mail.ru

**Авторы:**

**Янковская А. А.**, аспирант 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

Макрофаги (Мф) играют важную роль в фиброгенезе. Одним из механизмов, которыми они опосредуют свои анти- и профибротические свойства, является продукция металлопротеиназ (MMPs) и их тканевых ингибиторов (TIMPs) [1]. Однако данные о продукции MMPs и TIMPs различными подтипами Мф немногочисленны и противоречивы.

**Целью** данной работы явилась сравнительная характеристика М1, М2а и М2с Мф по продукции MMP-9 и TIMP-1.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 9 здоровых доноров в возрасте 22–49 лет. Макрофаги получали из адгезивной фракции мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови доноров путем культивирования в обогащенной среде RPMI-1640 в присутствии 50 нг/мл ГМ-КСФ с добавлением 10% сыворотки плодов коровы в течение 7 дней. Поляризирующие стимулы (10 мкг/мл LPS для М1, 20 нг/мл IL-4 для М2а, 50 нг/мл дексаметазона (Dex) для М2с) добавляли на 5-й день. Уровень продукции MMP-9 и TIMP-1 определялся в 7-суточных супернатантах Мф с использованием соответствующих ELISA kit (R&D Systems Inc., USA) в соответствии с инструкцией производителя. Статистическую обработку данных проводили при помощи программного обеспечения STATISTICA 6.0. Полученные результаты представлены в виде медианных значений (Me) с указанием интерквартильных диапазонов (IQR); различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ содержания MMP-9 в супернатантах, полученных от различных подтипов ГМ-КСФ-дифференцированных Мф, показал, что уровень MMP-9 в культурах М2а и М2с макрофагов пре-

вышал таковой в культурах М1 (4,3 нг/мл, IQR 3,5–6,1). При этом наибольшее содержание MMP-9 выявлялось в культурах М2а (5,5 нг/мл, IQR 3,9–7,4), а М2с продуцировали сопоставимые количества MMP-9 (5,2 нг/мл, IQR 3,8–7,2) ( $p > 0.05$ ).

Уровень TIMP-1 был максимальным в культурах М2а (0,67 нг/мл, IQR 0,28–0,68) и сопоставимым – в культурах М1 Мф (0,62 нг/мл, IQR 0,47–1,05), в то время как М2с Мф отличались наименьшей продукцией (0,49 нг/мл, IQR 0,09–0,74) ( $p > 0.05$ ).

Анализ соотношения MMP-9/TIMP-1 показал, что наибольшие значения MMP-9/TIMP-1 были характерны для М2с Мф (9,7; IQR 4,7–43,1), в то время как М1 и М2а Мф отличались достоверно наименьшими значениями: 7,42 (IQR 3,6–7,2) для М1 ( $p = 0,045$ ) и 9,0 (IQR 4,2–16,8) для М2а ( $p = 0,045$ ).

MMPs отвечают за разрезание компонентов внеклеточного матрикса, преимущественно, коллагена, а TIMPs, связываясь с активными сайтами MMPs, ингибируют их действие. Баланс этих молекул в организме регулирует процессы синтеза и деградации соединительной ткани, а его нарушение может приводить к развитию фиброза – избыточной продукции и отложению

внеклеточного матрикса [2]. В настоящем исследовании показано, что все исследуемые подтипы GM-CSF-дифференцированных Мф (М1, М2а, М2с) способны к продукции как MMP-9, так и TIMP-1, то есть проявляют как про-, так и антифибротическую активность. В то же время М2с Мф отличались наименьшей продукцией TIMP-1 и, соответственно, наибольшим значением соотношения MMP-9/TIMP-1. Считается, что М2с Мф появляются преимущественно на последней стадии физиологической репарации тканей (фазе ремоделирования) [3], поэтому значительное преобладание MMP-9 над TIMP-1 может говорить о способности этих клеток ограничивать процесс фиброза, препятствуя тем самым развитию патологической репарации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Braga T., Agudelo J., Camara N.* Macrophages During the Fibrotic Process: M2 as Friend and Foe. *Front Immunol.* 2015, 25; 6, 602.
2. *Robert S., Gicquel T., Victoni T., Valença S., Barreto E., Bailly-Maitre B, Boichot E., Lagente V.* Involvement of matrix metalloproteinases (MMPs) and inflammasome pathway in molecular mechanisms of fibrosis. *Biosci Rep.* 2016, 36, 4; e00360.
3. *Gensel J. C., Zhang B.* Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury. *Brain Res.* 2015, 4; 1619, 1–11.

### COMPARATIVE CHARACTERIZATION OF MMP-9 AND TIMP-1 PRODUCTION BY DIFFERENT MACROPHAGES SUBSETS

© 2019 А. А. Янковская, Л. В. Сакхно, Е. Я. Шевила

*E-mail: shevelak@mail.ru*

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

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 27.03.2019

The paper presents a comparative characterization of the MMP-9 and TIMP-1 production by various subsets of macrophages (Mφ) differentiated in the presence of GM-CSF and polarized into M1, M2a and M2c cells. It was shown that all the studied Mφ subtypes produced both MMP-9 and TIMP-1. At the same time, the MMP-9 / TIMP-1 ratio was significantly higher in M2c Mφ compared to M1 and M2a, which may indicate the important role of M2c macrophages during tissue remodeling and restriction of fibrosis.

**Key words:** macrophages, metalloproteinase-9 (MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1)

#### Authors:

**Yankovskaya A. A.**, ☒ graduate student of the Laboratory of Cellular Immunotherapy Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** shevelak@mail.ru;

**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.