

## РЕГУЛЯЦИЯ mTOR-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В МАКРОФАГАХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЯХ

© С. Г. Зубова,<sup>1</sup> Т. В. Быкова

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;*

<sup>1</sup>электронный адрес: *egretta\_julia@mail.ru*

Макрофаг является ключевой клеткой иммунной системы, он участвует в противовирусной, противомикробной и противоопухолевой защите организма, в посттравматической регенерации и репарации тканей. Макрофаг координирует функции различных звеньев иммунной системы, участвует в прогрессии опухолевого роста. Процесс воспаления состоит из двух стадий. В первой стадии реализуется цитотоксический потенциал иммунокомпетентных клеток, чтобы избежать бактериального заражения. Вторая стадия воспалительного процесса ассоциирована с репарацией и ранозаживлением. В процессе воспаления и в соответствии с его стадиями макрофаги сменяют функциональное состояние, переключаясь с цитотоксического состояния M1 на состояние M2, ассоциированное с репарацией. Мы предполагаем, что рапамицин, негативный регулятор mTOR, принципиально по-разному действует на ассоциированные с опухолью тканевые макрофаги и клетки микроглии. Тканевые макрофаги он переводит в функциональное состояние M1, чем способствует регрессии опухоли, а в случае действия на микроглиальные клетки центральной нервной системы индуцирует состояние M2, облегчая течение нейродегенеративных заболеваний и замедляя процесс старения.

Ключевые слова: mTOR, макрофаг, рапамицин, опухолевый рост.

### Роль макрофагов в воспалительном процессе

Воспалительная реакция состоит из двух взаимосвязанных фаз. В первой реализуется цитотоксическая реакция иммунокомпетентных клеток, в частности макрофагов, которые уничтожают вирусы и бактерии, а в воспалительном очаге элиминируются гибнущие и разрушенные клетки. Это катаболическая часть воспалительного процесса. Но через некоторое время цитотоксическая фаза ответа сменяется фазой, стимулирующей регенерацию. Воспалительная реакция переходит в ростостимулирующую (анаболическую) фазу, и ростовые и ангиогенные факторы способствуют заживлению раны и восстановлению органа или ткани.

В литературе последних лет различают два функциональных состояния макрофагов — M1 и M2, которые некоторые авторы рассматривали как разные популяции (Martinez et al., 2006). На основании результатов давних собственных исследований мы предполагали, что в активированных макрофагах согласно стадиям воспалительного процесса имеет место смена цитотоксической активности на ростостимулирующую (Okulov et al., 1988, 1992; Громов и др., 1989; Зубова и др., 1996). В настоящее время эти результаты нашли подтверждение. M1-макрофаги активно стимулируют воспаление, тогда как M2 — регенерацию. Сейчас считается, что существуют переходные состояния макрофага между функциональными состояниями M1 и M2. Функциональное состояние M1 способно переходить в M2 в зависимости от времени, которое прошло после активации макрофага внешними

стимулами; иными словами, это стадии дифференцировки макрофага (Harris, 2014). В первой фазе реакции на активацию функциональное состояние макрофага связано с воспалением. Макрофаги фагоцитируют бактерии, клеточные фрагменты, генерируют свободные радикалы. По прошествии некоторого времени после активации макрофаги переключаются в фазу M2, согласно принципу течения воспалительных процессов. В этой фазе макрофаги секретируют иммуносупрессивные медиаторы (TGF- $\beta$ , IL10 и простагландин E2), факторы выживания и ростовые факторы (EGF и CXCL8), ангиогенные факторы (VEGF и TGF- $\alpha$ ), продуцируют металлопротеазы (MMPs), которые деградируют матрикс и способствуют метастазированию. Кроме того, макрофаги с фенотипом M2 способны подавлять адаптивный иммунитет, ингибируя T-хелперы1 (Eiro, Vizoso, 2012).

### Роль макрофагов в опухолевом росте

Основной проблемой онкологии считается ускользание опухолевых клеток от иммунного надзора. Иммунная система такие клетки «не видит» и принимает их за собственные клетки организма. Поэтому непосредственно иммунная реакция на опухоль начинается только после начала распада ее центральных участков.

Развитие опухоли на поздних стадиях часто сопровождается воспалением, которое может быть вызвано продуктами распада опухоли или вторичной инфекцией вне зависимости от специфического распознавания опухоли (Dvorak, 1986). Воспалительный процесс для опухо-

ли зачастую является провоцирующим фактором для ее прогрессии, так как любой воспалительный процесс состоит из анаболических и катаболических реакций. Макрофаги в течение воспаления сменяют цитотоксическую реакцию на ростостимулирующую. Нет сомнений в том, что такая филогенетически закрепленная стадийность ответа макрофага должна прослеживаться при опухолевом росте. По определению Дворака (Dvorak, 1986), опухоль во многом похожа на незаживающую рану. Развитие опухоли сопровождается распадом гибнущих и поврежденных клеток, особенно в центральных участках, на поздних стадиях развития опухоли. Поэтому в начале ответа макрофаг реагирует на опухоль по цитотоксическому принципу, а позднее способствует ускорению ее роста.

### Регуляция тканевых макрофагов киназой mTOR

mTOR (target of rapamycin) представляет собой эволюционно консервативную серин-треониновую протеинкиназу, которая образует два комплекса — mTORC1 и mTORC2 (Sarbasov et al., 2005). Название mTOR объясняется способностью этой киназы снижать активность комплекса mTORC1 в ответ на рапамицин (циклическое соединение), который синтезируется бактериями (Heitman et al., 1991). mTOR определяет соотношение анаболических и катаболических процессов в клетке (Soliman, 2013). Она экспрессируется во всех клетках организма, включая иммунокомпетентные, т. е. и в макрофагах, принимающих участие в воспалении и регенерации ткани (Katholnig et al., 2013).

Рапамицин ранее использовали как иммуносупрессант для подавления реакции «хозяин против трансплантата» и предотвращения отторжения трансплантата (Sehgal, 2003). Известно, что он эффективен и для терапии опухолей (Eng et al., 1984). Было показано, что он не только подавляет иммунный ответ, но и тормозит реакции заживления ран (Morrisett et al., 2002; Meiser et al., 2011). На основании этого можно предположить, что рапамицин снижает интенсивность анаболической фазы воспалительной реакции. При этом подавление регенеративной ветви воспалительного процесса оказывается наиболее эффективным для терапии опухоли.

Рапамицин подавляет именно макрофаги с фенотипом M2. В пользу этого наблюдения говорят способность рапамицина замедлять заживление ран, а также данные о том, что рапамицин, ингибируя mTOR, тормозит прогрессию фиброза почек, снимает воспаление и восстанавливает функции почек (Chen et al., 2012a). В этот процесс также вовлечены макрофаги. Их активность является одним из определяющих факторов в развитии фиброза. Фиброз по своему определению еще больше, чем опухоль, отвечает свойствам незаживающей раны. В его онтогенезе также огромную роль играют персистирующие ростовые факторы, выделяемые макрофагами, что приводит к неограниченному разрастанию соединительной ткани.

Непосредственными мишенями mTORC1, фосфорилирование которых свидетельствует о его активации, являются рибосомная киназа S6K, а также белки, ингибирующие факторы инициации элонгации 4E-BP1,2. Есть данные о том, что увеличение активности pS6K свидетельствует об активации mTORC1 в процессе прогрессии фиброза и что применение рапамицина снижает инфиль-

трацию интерстициальных тканей при фиброзе почки макрофагами и Т-лимфоцитами (Chen et al., 2012a).

Недавно вышла работа, показывающая, что рапамицин, снижая уровень активности mTORC1, изменяет баланс между популяциями макрофагов M1 и M2 в крови. У пациентов, получавших рапамицин, этот баланс значительно сдвигался в сторону M1, что предполагает повышение цитотоксического и, следовательно, противоопухолевого потенциала макрофагов (Mecalli et al., 2013). Этот парадоксальный результат противоречит данным об иммуносупрессивном действии рапамицина. Более того, макрофаги с фенотипом M2 при применении рапамицина и вовсе подвергались апоптозу. Как уже говорилось выше, макрофаги M1 определяют устойчивость к патогенам и ассоциированы с разрушением тканей, в то время как макрофаги M2 ориентированы на тканевое ремодулирование и заживление. Эта работа объясняет многие факты при применении рапамицина в терапии заболеваний, ассоциированных с участием в них M2-макрофагов. В первую очередь это касается терапии опухолей, когда важную роль играют опухолеассоциированные макрофаги, которые, как считается, принадлежат к популяции M2 (Chen et al., 2012b). По мнению авторов, количество и функции M1- и M2-макрофагов зависят от метаболического статуса микроокружения. Авторы предполагают, что если питательных веществ и энергии достаточно, mTOR «позволяет» макрофагам M2 выживать, ремодулировать и заживлять повреждения и регенерировать ткани. Если доступность питательных веществ и энергии ограничена, mTORC1 жертвует популяцией M2, предпочитая устойчивость к патогенам в очаге воспаления (Mecalli et al., 2013). Ситуацию с низким содержанием питательных веществ моделирует рапамицин. Полученные авторами данные объясняют причины успеха терапии фиброзов с помощью рапамицина и замедление заживления ран при его применении. На основании приведенных фактов можно заключить, что регуляцию цитокинов при помощи сигнального пути mTOR можно рассматривать только отдельно в популяциях макрофагов M1 и M2.

Теми же авторами показано, что mTOR регулирует способность макрофагов индуцировать ангиогенез (Chen et al., 2012b). Рапамицин снижает секрецию интерлейкина IL-10, что приводит к усилению продукции VEGF. Согласно данным этой работы, рапамицин снижает уровень IL-10 именно в M2-макрофагах, популяцией которых и представлены опухолеассоциированные макрофаги, способствующие росту опухоли, ее васкуляризации и развитию. При применении рапамицина увеличивается секреция IL-12, но снижается таковая IL-10, чем замедляется васкуляризация. Установлено, что рапамицин служит причиной дифференцировки опухолеассоциированных макрофагов в макрофаги с фенотипом M1 (Chen et al., 2012b). Комплекс TSC1—TSC2 является непосредственным негативным регулятором mTOR. Инактивация гена этого комплекса при помощи нокаута вызывает дифференцировку моноцитов в M2-фенотип с меньшей секрецией IL-12 и большей секрецией IL-10 (Chen et al., 2012b).

Говоря о влиянии рапамицина на образование стромы, уместно обсудить и его эффекты на опухолевую инвазию и метастазирование, поскольку эти процессы реализуются за счет одних и тех же механизмов — клеточного движения, активации протеолитических ферментов, повышения проницаемости тканевых структур.

Рапамицин, угнетая макрофаги в функциональном состоянии M2, может способствовать замедлению про-

цессов инвазии и метастазирования, поскольку именно M2-макрофаги отвечают за нее. Помимо металлопротеаз, деградирующих матрикс, они секретируют фактор, стимулирующий миграцию, который увеличивает подвижность опухолевых клеток, а также является маркером функционального состояния макрофагов M2 (Solinas et al., 2010). Считается, что преимущественная дифференцировка опухолеассоциированных макрофагов в макрофаги с функциональным состоянием M2 объясняется тем, что внутри опухоли отсутствует IFN- $\gamma$  или бактериальные компоненты, которые вызывают функциональное состояние M1. M2-состояние моноцитов индуцируют M-CSF, IL-4, IL-13 или IL-10 и глюкокортикоиды, которые могут присутствовать в строме опухоли (Solinas et al., 2010).

На клетках базально-клеточной карциномы человека (BCC) было показано, что число инфильтрирующих опухолей макрофагов коррелирует с глубиной инвазии, плотностью сосудов и экспрессией циклооксигеназы-2 (Tjui et al., 2009). Необходимо отметить, что строма опухоли часто служит «топливом» для опухолевых клеток. Процессы аутофагии, протекающие в строме опухоли, служат источником питания для опухолевых клеток и часто являются причиной большей злокачественности заболевания. Поэтому применение рапамицина как возможного активатора процессов аутофагии для терапии опухолей должно быть осторожным.

### Действие рапамицина на микроглию

Можно предполагать несколько иной принцип действия рапамицина на микроглиальные клетки головного и спинного мозга. Считается, что рапамицин обладает нейротропными свойствами, редуцируя провоспалительную активацию микроглии и увеличивая число выживших нейронов в очаге повреждения (Erlich et al., 2007). Рапамицин ингибирует фосфорилирование p70S6K (маркера активности mTORC1) и инактивирует провоспалительную активность микроглии (Erlich et al., 2007). Можно предположить, что подавление провоспалительной активности микроглии и подавление mTOR служит причиной ее перехода в состояние M2. Кроме того, повышение mTOR в глиальных клетках мозга наблюдается при таких заболеваниях, как эпилепсия и аутизм. Применение рапамицина при этих патологиях также дает позитивный эффект (Kaeberlein, 2013).

Есть сведения о том, что с возрастом увеличивается M1-активация микроглии, а M2-активация снижается (Lee et al., 2013). Можно предполагать, что активность mTOR возрастает в микроглии с возрастом. Тогда становится понятным герпротекторное действие рапамицина, если допустить, что в микроглии он подавляет фазу активности M1-микроглиальных клеток и таким образом снижает повреждающее действие их цитотоксических продуктов на нейроны.

Провоспалительная активность микроглии значительно возрастает при таких нейродегенеративных процессах, как болезнь Альцгеймера и Паркинсона (Perry, Teeling, 2013). Непосредственно болезнь Альцгеймера характеризуется воспалительным ответом на  $\beta$ -амилоид, индуцирующий активацию микроглии и ее накопление в местах расположения амилоида. В течение многих лет нервная система считалась привилегированным местом для иммунных реакций, поскольку она не подвержена

воспалению и инфекциям, и это давало право полагать, что иммунные реакции в ней отсутствуют. В последнее время установлено, что неврологические заболевания запускают образование очагов воспаления и активируют локальный иммунный ответ. Болезнь Альцгеймера тому яркий пример (Solito, Sastre, 2012).

Недавно было показано, что при ишемическом инсульте применение рапамицина предотвращает переход макрофагов в M1-тип. Он блокирует продукцию провоспалительных хемокинов и цитокинов макрофагами и микроглией (Xie et al., 2014).

Недавно опубликованы данные, свидетельствующие о переходе одних и тех же макрофагов на другой профиль активности (Kjell et al., 2014). Речь идет о повреждении спинного мозга крысы, при котором наблюдается бифазный уровень активации mTORC1, связанный с макрофагами и микроглией. Активность mTOR оценивали в астроцитах, предшественниках олигодендроцитов и активированной микроглии методом иммуногистохимии по фосфорилированию белка S6, который служит опосредованной мишенью mTORC1 (Kjell et al., 2014). Наблюдение проводили в течение 119 сут после повреждения спинного мозга и показали, что накопление pS6 имеет двухфазный характер. Оно возрастало в 1-е сут после повреждения и падало практически до контрольного уровня на 7-е сут после повреждения. Вторичное повышение активности pS6 начиналось на 21-е сут, достигало максимума через 42 сут и возвращалось к контрольному уровню на 119-е сут. Было установлено, что доминирующую роль в накоплении фосфорилированного S6 играют именно микроглии. Известно, что активированная микроглия и макрофаги изменяют профиль экспрессии цитокинов, функциональную активность и поляризацию в зависимости от уровня активности mTOR. Авторы делают вывод о том, что в процессе повреждения спинного мозга одна фаза активности сменяет другую, т. е. фаза активности M1 переходит в M2, ассоциированную с регенерацией (Kjell et al., 2014).

Возникает парадокс, заключающийся в том, что на опухоли-ассоциированные макрофаги на периферии и микроглиальные клетки центральной нервной системы рапамицин действует принципиально различным способом. Возможно, что различен рецепторный аппарат этих клеток. Возможно, что функциональную активность макрофагов и микроглии определяет не один mTOR. Кроме того, может быть, что в нейротропных свойствах рапамицина играет роль аутофагия, которую он активирует. Рапамицин увеличивает уровень экспрессии белков LC3 и Beclin1, являющихся маркерами аутофагии, при повреждении спинного мозга мыши (Sekiguchi et al., 2012).

В процессе развития микроглии необходима для очистки внутрисинаптического пространства и удаления апоптозирующих нейронов. Было выдвинуто предположение, что фагоцитоз (механизм самоочистки и удаления чужеродного клеточного материала) является критическим для нормального развития мозга и его функций и что нарушение баланса между очисткой и регенерацией может способствовать большому числу аномалий развития — синдрому Ретта, аутизму и нейродегенеративным заболеваниям (Schwartz et al., 2013). Можно также предположить, что многое в этих заболеваниях определяет соотношение между функциональным состоянием микроглии M1 и M2.

В M1-состоянии, которое может быть вызвано стимуляцией липополисахаридом, микроглия, так же как и мак-

рофаги, обладает провоспалительными свойствами и секретирует IL1 и TNF- $\alpha$ , а также обладает высокой способностью к фагоцитозу и протеолизу. Кроме того, для этого состояния характерна высокая экспрессия рецептора *Lu6C*. В состоянии M2 у микроглии низкий уровень экспрессии рецептора *Lu6C*, и она, как и макрофаги, продуцирует VEGF, хемокины и белки экстраклеточного матрикса (Schwartz et al., 2013).

Есть заболевание, симптомы которого похожи на аутизм и в котором микроглия принимает активное участие. Эффективность модуляции mTOR при этом заболевании еще не изучали. Речь идет о так называемом синдроме Ретта. Это заболевание центральной нервной системы, связанное с X-хромосомой. При этом заболевании мутирует ген *MeCP2*, который в норме функционирует как активатор и репрессор определенных генов. Например, он регулирует гены *FoxP3* и *IFN- $\gamma$* , которые влияют на работу иммунной системы. *MeCP2* интенсивно экспрессируется в нейронах, но также экспрессируется в микроглии. Предполагается, что при нокауте гена *MeCP2* микроглия может быть непосредственной причиной повреждения нейрональных дендритов за счет повышенной продукции глутамата. Кроме того, анализ такой микроглии показал, что снижена ее фагоцитарная способность по сравнению с контролем. Последующие исследования ткани мозга показали, что в микроглии с отсутствующим геном *MeCP2* наблюдается недостаточная очистка от дебриса, что может быть ключевым фактором, содействующим патологии синдрома Ретта. Еще один возможный сценарий этой болезни заключается в том, что микроглия производит недостаточно ростовых факторов, необходимых для поддержания нейронов (Derecki et al., 2014).

В ткани мозга должен поддерживаться баланс между выживанием клеток и их разрушением. Нарушение своевременного удаления мертвых и поврежденных клеток приводит к накоплению дебриса, что способствует заболеваниям и ускоряет старение (Derecki et al., 2014).

Происхождение клетки определяет ее функции, и микроглия имеет такое же предназначение, как и другие тканеспецифические макрофаги. Однако природа ткани, окружающей микроглию, накладывает отпечаток на ее фенотип, так как микроглия должна поддерживать нейроны. В свою очередь факторы, продуцируемые нейронами, модулируют функции микроглии. Например, TGF- $\beta$  играет значительную роль в модуляции продукции цитокинов микроглией, и отсутствие этого фактора ассоциировано с гибелью нейронов (Brionne et al., 2003; Derecki et al., 2014). У мышей с ограниченной продукцией TGF- $\beta$  наблюдаются аутоиммунный фенотип и уменьшение числа клеток микроглии в центральной нервной системе (Derecki et al., 2014).

Считается, что микроглия более разнообразна, чем макрофаги с фенотипом M1 или M2 (Butovsky et al., 2014). Авторы полагают, что TGF- $\beta$  является главным фактором дифференцировки для микроглии как *in vitro*, так и *in vivo*. TGF- $\beta$  обладает ярко выраженным противовоспалительным эффектом (Espevik et al., 1987). Мыши, дефектные по гену *tgf- $\beta$* , живут несколько недель, до тех пор пока не израсходуется весь запас этого цитокина, полученный из материнского организма (Kulkarni et al., 1993). Показано, что TGF- $\beta$  способен снижать провоспалительную активность макрофагов (Bogdan, Nathan, 1993). По мере нарастания его продукции самими макрофагами уменьшается цитотоксическая активность макрофагов. Можно предположить, что в результате этого M1-фенотип макрофагов переходит в M2. По-видимому, этот

процесс имеет место и в микроглии. Многие исследования показывают, что TGF- $\beta$  обладает защитным действием при различных нейрональных повреждениях (Butovsky et al., 2014). В данной работе показано, что именно TGF- $\beta$  определяет дифференцировку микроглии, которая позволяет отличить ее от миелоидных клеток, инфильтрующих центральную нервную систему при повреждениях. Возможно, рапамицин по-разному регулирует именно TGF- $\beta$  в центральной нервной системе и на периферии.

В настоящее время такие данные о микроглии пока неизвестны, но показано, что при сокультивировании клеток аденокарциномы легких и иммортализованных астроцитов обработка рапамицином индуцирует более активную пролиферацию опухолевых клеток по сравнению с контролем и повышает экспрессию в них TGF- $\beta$ . В то же время в отсутствие астроцитов рапамицин цитотоксичен для опухолевых клеток. Эта клеточная система модулирует ситуацию с метастазированием легочной аденокарциномы в головной мозг. В этом случае микроокружение и рапамицин могут способствовать метастазированию (Kim et al., 2013).

### Роль макрофагов в устойчивости к инсулину

Макрофаги принимают участие в патологическом процессе формирования устойчивости к инсулину, а также играют роль в ожирении (Jiang et al., 2014). И глюкоза, и инсулин активируют mTORC1. mTORC1 активирует S6-киназу, которая в свою очередь приводит к фосфорилированию и деградации субстрата IRS. Это нарушает прохождение сигнала от инсулина (Blagosklonny, 2013a). В недавно вышедшей работе было показано, что прерывание mTOR-сигналинга в макрофагах спасает мышей от воспаления в тканях печени и жировых тканях и от устойчивости к инсулину, которая была связана с ожирением (Jiang et al., 2014). Хроническое воспаление в жировых тканях является этиологическим механизмом, связывающим второй тип диабета с ожирением (McNelis, Olefsky, 2014). Иммунная система и метаболизм — тесно интегрированные системы. Макрофаги — важные клетки-эффекторы, которые играют роль в начале воспаления и могут определять устойчивость к инсулину. Недавно было показано, что ожирение ассоциировано с накоплением макрофагов в жировых тканях. Макрофаги M1 в жировых тканях, как известно, являются основными источниками медиаторов воспаления TNF- $\alpha$  и IL-6. Данные большинства исследований говорят о том, что воспаление приводит к устойчивости к инсулину, ингибируя прохождение сигнала от инсулина. Воспаление также затрагивает действие инсулина опосредованно, модулируя различные метаболические пути, приводя к продукции вторичных посредников, таких как жирные кислоты, которые определяют устойчивость к инсулину (McNelis, Olefsky, 2014). В то же время длительная терапия рапамицином может приводить к особому типу устойчивости к инсулину — «диабету голодания» (Blagosklonny, 2013a).

### Заключение

Таким образом, приведенные выше данные свидетельствуют о том, что рапамицин, регулирующий уровень комплекса mTORC1, не всегда является иммуносуп-

рессантом. Как отмечал в своей статье Благодосклонный, рапамицин может выступать и как иммуностимулятор (Blagosklonny, 2013b). В то же время выглядит парадоксально его способность подавлять реакцию отторжения трансплантата и возможность перевода макрофагов в провоспалительное функциональное состояние M1. Именно с макрофагов начинается любая иммунная реакция или они как минимум вовлечены в нее на разных этапах. Поэтому сдвиг функциональной активности макрофагов в сторону фенотипа M1 можно рассматривать как иммуностимуляцию. С другой стороны, угнетение фенотипа M2 также может способствовать успеху иммунотерапии опухоли. В то же время, перевода макрофаги в состояние M1, рапамицин может стимулировать пролиферацию непосредственно самих опухолевых клеток, поскольку действие рапамицина на опухолевые клетки неоднозначно. Рапамицин способен индуцировать гены плюрипотентности, что позволяет клеткам избежать репликативного старения (Pospelova et al., 2013). Поэтому предпочтительно использование более специфических модуляторов активности макрофагов. Например, перспективным считается применение mTOR-киназных ингибиторов, которые способны не только глобально менять в клетке биогенез рибосом и белковый синтез, но и регулировать аутофагию и процессы клеточного старения (Shor et al., 2009).

По всей видимости, в центральной нервной системе рапамицин меняет свои эффекты на противоположные по отношению к клеткам микроглии. Согласно концепции Благодосклонного, противоопухолевые эффекты рапамицина можно объяснить снижением героконверсии и замедлением старения на клеточном и организменном уровнях (Blagosklonny, 2013b). Можно считать, что в этих процессах на уровне организма также не последняя роль принадлежит микроглии в центральной нервной системе. Как уже отмечалось выше, с возрастом увеличивается M1-активация микроглии, но подавляется M2-активация. Рапамицин сдвигает активацию в сторону M2 и этим замедляет старение. Поэтому регуляция mTOR в макрофагах может оказаться предпочтительной мишенью для терапии многих патологий, в особенности аутоиммунных заболеваний и опухолей различного гистогенеза. Кроме того, макрофаги могут быть мишенью для терапии фиброзов, ожирения, диабета и преждевременного старения (Chen et al., 2012a; Blagosklonny, 2013a, 2013b; Lee et al., 2013). Особое внимание заслуживают такие заболевания как болезнь Альцгеймера, аутизм и синдром Ретта. Возможно, что успех лечения этих и других заболеваний зависит от возможности регуляции активации M1- и M2-макрофагов и микроглии с учетом того, что на периферии и в центральной нервной системе можно ожидать противоположных эффектов при действии модуляторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда проект 14-50-00068 (С.Г.З.), а также Российского фонда фундаментальных исследований (проект 13-14-00552) и программы С.-Петербургского государственного университета 1.38.247.2014 (Т.В.Б.).

#### Список литературы

Громов С. А., Окулов В. Б., Войтенков Б. О. 1989. Оценка влияния иммунорегуляторов и цитостатиков на противоопухолевую активность макрофагов *in vitro*. Эксперим. онкол. 3 : 63—66. (Gromov S. A., Okulov V. B., Voitenkov B. O. 1989. Effect

of BCG and cyclophosphamide on the antitumor activity of mouse peritoneal macrophages. *Exp. Oncol.* 3 : 63—66.)

Зубова С. Г., Данилов А. О., Окулов В. Б., Кязулов Д. Ф., Стюф И. Ю., Зарицкий А. Ю. 1996. Синтез и экспрессия трансформирующего фактора роста-бета активированными макрофагами. *Вопр. онкол.* 42 (5) : 80—85. (Zubova S. G., Danilov A. O., Okulov V. B., Kiagulov D. F., Stiuif I. I., Zaritskii A. I. 1996. Synthesis and expression of transforming growth factor-beta in activated macrophages. *Voпр. Oncol.* 42 (5) : 80—85.)

Blagosklonny M. V. 2013a. TOR-centric view on insulin resistance and diabetic complications: perspective for endocrinologists and gerontologists. *Cell Death. Dis.* e964 : 506. Doi: 10.1038/cddis2013.506.

Blagosklonny M. V. 2013b. Immunosuppressants in cancer prevention and therapy. *Oncoimmunology.* 12 : e26961. Doi: 10.4161/onci26961.

Bogdan C., Nathan C. 1993. Modulation of macrophage function by transforming growth factor, interleukin-4, and interleukin-10. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 685 : 713—739.

Brionne T. C., Tesseur I., Masliah E., Wyss-Coray T. 2003. Loss of TGF-beta leads to increased neuronal cell death and microglialosis in mouse brain. *Neuron.* 40 : 1133—1145.

Butovsky O., Jedrychowski M. P., Moore C. S., Cialic R., Lanzer A. J., Gabriely G., Weiner H. L. 2014. Identification of unique TGF-β dependent molecular and functional signature in microglia. *Nat. Neurosci.* 17 : 131—143.

Chen G., Chen H., Wang C., Peng Y., Sun L., Liu H., Liu F. 2012a. Rapamycin ameliorates kidney fibrosis by inhibiting the activation of mTOR signaling in interstitial macrophages and myofibroblasts. *PLoS ONE.* 7 : 1—14.

Chen W., Ma T., Shen X., Xia X., Xu G., Bai X., Liang T. 2012b. Macrophage-induced tumor angiogenesis is regulated by TSC2-mTOR pathway. *Cancer Res.* 72 : 1363—1372.

Derecki N., Katzmarski N., Kipnis J., Meyer-Luehmann M. 2014. Microglia as a critical player in both developmental and late-life CNS pathologies. *Acta Neuropathol.* 128 : 333—345.

Dvorak H. F. 1986. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *New England J. Med.* 315 : 1650—1659.

Eiro N., Vizoso F. J. 2012. Inflammation and cancer. *World J. Gastrointest. Surg.* 4 : 62—72.

Eng C. P., Sehgal S. N., Vezina C. 1984. Activity of rapamycin (AY-22,989) against transplanted tumors. *J. Antibiot. (Tokyo).* 37 : 1231—1237.

Erllich S., Alexandrovich A., Shohami E., Pinkas-Kramarski R. 2007. Rapamycin is a neuroprotective treatment for traumatic brain injury. *Neurobiol. Dis.* 26 : 86—93.

Espevik T., Figari I. S., Shalaby M. R., Lakides G. A., Lewis C. D., Shepard H. M., Palladino M. A. 1987. Inhibition of cytokine production by cyclosporine A and transforming growth factor-beta. *J. Exp. Med.* 166 : 571—576.

Jiang H., Westerterp M., Wang C., Zhu Y., Ai D. 2014. Macrophage mTORC1 disruption reduces inflammation and insulin resistance in obese mice. *Diabetologia.* 57 : 2393—2404.

Harris R. A. 2014. Spatial, temporal, and functional aspects of macrophages during «The Good, Bad, and Ugly» phases of inflammation. *Frontiers in Immunology.* V. 5. Doi: 10.3389/fimmu.2014.00612.

Kaerberlein M. 2013. mTOR inhibition: from aging to autism and beyond. *Scientifica (Cairo).* 2013 : 849186. Doi: 10.1155/2013/849186.

Katholnig K., Linke M., Pham H., Hengstschlager M., Weichhart T. 2013. Immune responses of macrophages and dendritic cells regulated by mTOR signaling. *Biochem. Soc. Trans.* 41 : 927—933.

Kim S. H., Lee J. E., Yang S., Lee S. W. 2013. Induction of cytokines and growth factors by rapamycin in the microenvironment of brain metastases of lung cancer. *Oncol. Lett.* 5 : 953—958.

Kjell J., Codeluppi S., Josephson A., Abrams M. 2014. Spatial and cellular characterization of mTORC1 activation after spinal cord injury reveals biphasic increase mainly attributed to microglia/macrophages. *Brain Pathol.* 24 : 557—567.

- Kulkarni A. B., Huh C., Becker D., Geiser A., Lyght M., Flanders K. C., Roberts A. B., Sporn M., Ward J. M., Karisson S. 1993. Transforming growth factor-beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90 : 770—776.
- Lee D., Ruiz C. R., Lebson L., Selenica M.-L. B., Rizer J., Rojiani R., Reid P., Kammath S., Nash K., Dickey C. A., Gordon M., Morgan D. 2013. Aging enhances classical activation but mitigates alternative activation in the CNS. *Neurobiol. Aging.* 34 : 1610—1620.
- Martinez F. O., Gordon S., Locati M., Mantovani A. 2006. Transcriptional profiling of the human monocyte to macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. *J. Immunol.* 177 : 7303—7311.
- McNelis J. C., Olefsky J. M. 2014. Macrophages, immunity, and metabolic disease. *Immunity.* 41 : 36—48.
- Meiser B., Buchholz S., Kaczmarek I. 2011. De-novo calcineurin-inhibitor-free immunosuppression with sirolimus and mycophenolate mofetil after heart transplantation: 5-year results. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 16 : 522—528.
- Mercalli A., Calavita I., Dugnani E., Citro A., Cantarelli E., Nano R., Melzi R., Maffi P., Secchi A., Sordi V., Piemonti L. 2013. Rapamycin unbalances the polarization of human macrophages to M1. *Immunology.* 140 : 179—190.
- Morrisett J. D., Abdel-Fattah G., Hoogveen R., Mitchell E., Ballantyne C. M., Pownall H. J., Opekun A. R., Jaffe J. S., Oppermann S., Kahan B. D. 2002. Effects of sirolimus on plasma lipids, lipoprotein levels, and fatty acid metabolism in renal transplant patients. *J. Lipid Res.* 43 : 1170—1180.
- Okulov V. B., Voytenkov B. O., Gromov S. A. 1988. Modulation of growth-stimulating and antitumor activity of macrophages by BCG and cyclophosphamide. *APMIS Suppl.* 2 : 130—135.
- Okulov V. B., Voytenkov B. O., Ushmorov A. G., Polischuk N. D., Gromov S. A. 1992. Growth-stimulating phase of macrophage response to activation: the phenomenon and its implication for tumor growth and immunotherapy. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 118 : 537—541.
- Perry V. H., Teeling J. 2013. Microglia and macrophages of the central nervous system: the contribution of microglia priming and systemic inflammation to chronic neurodegeneration. *Semin Immunopathol.* 35 : 601—612.
- Pospelova T. V., Bykova T. V., Zubova S. G., Katolikova N. V., Yartzeva N. M., Pospelov V. A. 2013. Rapamycin induces pluripotent genes associated with avoidance of replicative senescence. *Cell Cycle/* 12 : 3841—3851.
- Sarbasov D. D., Ali S. M., Sabatini D. M. 2005. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17 : 596—603.
- Schwartz M., Kipnis J., Rivest S., Prat A. 2013. How do immune cells support and shape the brain in health, disease, and aging? *J. Neurosci.* 33 : 17 587—17 596.
- Sehgal S. N. 2003. Sirolimus: its discovery, biological properties, and mechanism of action. *Transplant. Proc.* 35 : 7S—14S.
- Sekiguchi A., Kanno H., Ozawa H., Yamaya S., Itoi E. 2012. Rapamycin promotes autophagy and reduces neural tissue damage and locomotor impairment after spinal cord injury in mice. *J. Neurotrauma* 29 : 946—956.
- Shor B., Gibbons J. J., Abraham R. T., Yu K. 2009. Targeting mTOR globally in cancer. *Cell Cycle.* 8 : 3831—3837.
- Soliman G. A. 2013. The role of mechanistic target of rapamycin (mTOR) complexes signaling in the immune responses. *Nutrients.* 5 : 2231—2257.
- Solinas G., Schiarea S., Liguori M., Fabbri M., Pesce S., Zammataro L., Pasqualini F., Nebuloni M., Chiabrando C., Mantovani A., Allavena P. 2010. Tumor-conditioned macrophages secrete migration-stimulating factor: a new marker for M2-polarization, influencing tumor cell motility. *J. Immunol.* 185 : 642—652.
- Solito E., Sastre M. 2012. Microglia function in Alzheimer's disease. *Frontiers Pharmacol.* 3 : 1—10.
- Tjiu J. W., Chen J. S., Shun C. T., Lin S. J., Liao Y. H., Chu C. Y., Tsai T. F., Chiu H. C., Dai Y. S., Inoue H., Yang P. C., Kuo M. L., Jee S. H. 2009. Tumor-associated macrophage-induced invasion and angiogenesis of human basal cell carcinoma cells by cyclooxygenase-2 induction. *J. Invest. Dermatol.* 129 : 1016—1025.
- Xie L., Sun F., Wang J., Mao X., Xie L., Yang S. H., Su D. M., Simpkins J. W., Greenberg D. A., Jin K. 2014. mTOR signaling inhibition modulates macrophage/microglia-mediated neuroinflammation and secondary injury via regulatory T cells after focal ischemia. *J. Immunol.* 192 : 6009—6019.

Поступила 25 VIII 2015

#### REGULATION OF THE mTOR SIGNALING PATHWAY IN MACROPHAGES IN VARIOUS PATHOLOGIES

S. G. Zubova, T. V. Bykova

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064;  
e-mail: egretta\_Julia@mail.ru

Macrophage is a key cell of immune system, it participates in antiviral, antimicrobial and antitumor defense of the organism, also in regeneration and reparation of tissues. Macrophage coordinates functioning of immune system, participates in tumor growth progression. The process of inflammation consists of two stages. Cytotoxic potential of immunocompetent cells will be realized in the first stage, to avoid a bacterial infection. The second stage of inflammatory process is associated with reparation and regeneration. During inflammation, according to stages, macrophages change functional state, switching from cytotoxic M1 to M2, that associated with reparation. We suppose, that rapamycin, a suppressor of mTOR, causes completely different effects on tumor associated macrophages and cells of microglia. Rapamycin transforms tissue macrophages into M1 phenotype, promoting the tumor regression. While in microglial cells of the central nervous system it induces transformation into M2 phenotype, facilitating the course of the neurodegenerative disease and slowing down the aging.

Key words: mTOR, macrophage, rapamycin, tumor growth.