

СУБПОПУЛЯЦИИ МАКРОФАГОВ И МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В РЕГУЛЯЦИИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

© *Е. Э. Иванюк*,¹ *С. В. Надеждин*,² *Л. А. Покровская*,³ *В. В. Шуплецова*,⁴
О. Г. Хазиахматова,⁴ *К. А. Юрова*,⁴ *В. В. Малащенко*,⁴
Л. С. Литвинова,⁴ *И. А. Хлусов*^{3–6, *}

¹ *Лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины
Научно-исследовательского института биологии и биофизики
Томского государственного университета, Томск, 634050,*

² *Кафедра биологии Института инженерных технологий и естественных наук
Белгородского государственного национального исследовательского
университета, Белгород, 308015,*

³ *Лаборатория полимеров и композиционных материалов
Томского государственного университета, Томск, 634050,*

⁴ *Базовая лаборатория иммунологии и клеточных биотехнологий
Балтийского федерального университета им. И. Канта, Калининград, 236041,*

⁵ *Кафедра морфологии и общей патологии Сибирского государственного
медицинского университета, Томск, 634050, и*

⁶ *Кафедра экспериментальной физики Томского политехнического университета,
Томск, 634050;*

* *электронный адрес: khlusov63@mail.ru*

В обзоре обсуждаются клеточно-молекулярная характеристика субпопуляций макрофагов (МФ), их взаимодействие с мезенхимными стволовыми клетками (МСК) и трехмерными скаффолдами в ремоделировании костной ткани. Описаны макрофагальный контроль остеогенной дифференцировки и созревания МСК и, напротив, поляризация МФ в субпопуляциях М1 и М2 при их сокультивировании с МСК. Рассмотрена роль субпопуляций МФ костного мозга в структурно-функциональной регуляции микро-территорий (ниш) для гемопоэтических стволовых клеток. Предложено схематическое представление о кооперации МФ и МСК в ремоделировании кровяных и стромальных микро-территорий костного мозга в условиях физиологической и репаративной регенерации костной ткани.

Ключевые слова: подтипы макрофагов М1 и М2, остеомacroфаги, поверхностные маркеры, цитокины, стволовые клетки костного мозга, ниши, биодеградируемые скаффолды.

Принятые сокращения: ГАП — гидроксипатит, ГМКИТ — гигантские многоядерные клетки инородных тел, ГСК — гемопоэтические стволовые клетки, МСК — мезенхимные стволовые клетки, Arg1 — аргиназа 1, BMP2 — морфогенетический белок кости 2, CAR — ретикулярные клетки, обогащенные CXCL12 (хемокином подсемейства CXC), CCL — хемокиновый лиганд (C-C мотив), iNOS — индуцибельная форма синтазы оксида азота, IL — интерлейкин(ы), IFN- γ — интерферон гамма, IL-1ra — антагонист рецептора IL-1, IL-12p40 — компонент (субъединица) IL-12 и IL-23, M-CSF — моноцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, MHCII — молекула главного комплекса гистосовместимости класса II, PLA — полимолочная кислота, PLGA — сополимер(ы) PLA и полигликолиевой кислот, TGF- β — трансформирующий фактор роста β , VEGF — фактор роста эндотелия сосудов, Ym1 — фактор хемотаксиса эозинофилов.

Костная ткань является динамичной структурой и находится в постоянном процессе ремоделирования (Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil et al., 2006; Crockett et al., 2011) на основе процессов физиологической или репаративной регенерации, морфологические аспекты которых достаточно подробно изучены. В цикле физиологического ремоделирования кости выделяют следующие этапы: активация—резорбция—реверсия—формирование—покой (Parfitt, 1998). При репаративной регенера-

ции фазе ремоделирования кости предшествуют периоды посттравматического воспаления и репарации (Kalfas, 2001; Gerstenfeld et al., 2003).

Известно, что остеокласты имеют принципиальное значение для ремоделирования костной ткани, регулируют активность мезенхимных стволовых клеток (МСК) и остеобластов, в том числе в условиях остеосинтеза при переломах, при эндопротезировании суставов с помощью биосовместимых материалов и конструкций (Ratner et al.,

Распределение материалов III Национального конгресса по регенеративной медицине (Москва, 15—18.11.2017)^a по основным ключевым словам и словосочетаниям

Ключевые слова и их сочетания	Число публикаций
Биосовместимость и свойства матриксов в приложении к костной ткани	14
Матриксы и мезенхимные стволовые клетки (МСК) в плане активности клеток в приложении к регенерации костной ткани	10
Матриксы и МФ	0
МСК и МФ in vitro	3
Матриксы и биологически активные вещества (факторы роста)	4
Получение полимерных матриксов для биоинженерии кости	1
Клетки (нейтрофильные лейкоциты) и микрокапсулы	1
Трансплантация МСК для регенерации кости	4
Биологически активные вещества для регенерации кости	3
Интерфероны, морфогенетический белок кости и МСК или МФ	2
Молекулы и факторы роста, секретируемые МСК	3

^a Опубликовано в: Гены и клетки. 12 (3): 279 с.

2004). Обсуждается происхождение резидентных макрофагов и остеокластов моноцитарное (Риггз, Мелтон, 2000) и непосредственно из кроветворной клетки-предшественника миелопоэза (Sheng et al., 2015). Моноцитам (макрофагам) до недавнего времени отводили известную морфофункциональную роль в процессах воспаления и фагоцитоза погибших клеток и отломков кости (Риггз, Мелтон, 2000).

С одной стороны, популяцию макрофагов разделяют на резидентные (тканевые) и рекрутируемые производные моноцитов, регулирующие иммунные реакции. При этом кость и костный мозг содержат различные субпопуляции макрофагов (Batoon et al., 2017), описанные ниже. В зависимости от общего фенотипического характера макрофаги разделили на классически активированные (M1) или альтернативно активированные (M2) (Goerdts et al., 1999).

Макрофаги M1 выделяют большое количество провоспалительных цитокинов и эффективно разрушают микроорганизмы, тогда как макрофаги M2 выделяют много противовоспалительного интерлейкина-10 (IL-10), обладают высокой фагоцитарной активностью, способствуют ангиогенезу и ремоделированию (репарации) тканей, а также модулируют иммунную систему (Mantovani et al., 2004).

В недавних исследованиях было показано переключение фенотипа макрофагов из провоспалительного (M1) в противовоспалительный подтип M2 во время процесса заживления кости (Tasso et al., 2013; Wu et al., 2015), что предполагает роль субпопуляций макрофагов и секретируемых ими цитокинов в регуляции активности МСК (Guihard et al., 2012; Zivkovic et al., 2015).

Считается, что использование трехмерных матриц в травматологии и ортопедии при остеосинтезе в сочетании с факторами роста и МСК должно обеспечить эффективное течение процессов регенерации костной ткани (Giannoudis et al., 2007). При этом активное участие моноцитов (макрофагов), гигантских многоядерных клеток инородных тел (ГМКИТ) (Ratner et al., 2004; Shishatskaia et al., 2006) в биологической интеграции имплантатов неизбежно поднимает вопросы взаимодействия макрофагов и МСК в трехмерных условиях тканевой инженерии.

Несмотря на растущий массив информации о кооперации макрофагов и МСК в двухмерных (при стандартном культивировании) и трехмерных (на скаффолдах) условиях, в материалах недавно прошедшего Национального конгресса по регенеративной медицине удалось обнаружить только 3 публикации по изучению *in vitro* культуры МСК и макрофагов из более чем 400 сообщений ведущих российских и зарубежных специалистов в области тканевой инженерии, клеточных технологий и регенеративной медицины (Материалы III Национального конгресса по регенеративной медицине, Москва, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 15—18 ноября 2017 г.). Результаты мета-анализа материалов конгресса по основным ключевым словам и их сочетаниям (композитные матрицы (скаффолды), капсулы, биодеградируемые, полимерные, полилактогликолид (сополимер лактида и гликолида), гидроксиапатит, получение (производство), биосовместимость, биологически активные вещества (факторы роста), стромальные стволовые клетки (мезенхимные стволовые клетки), макрофаги, трехмерное культивирование, клеточная терапия (трансплантация клеток), биоинженерия (регенерация) костной ткани) представлены в таблице.

Свойства субпопуляций макрофагов и их взаимодействие с МСК представляют несомненный интерес для понимания фундаментальных основ остеогенеза, остеопарации и остеоинтеграции в процессе биоинженерии костной ткани, в том числе с использованием костнопластических материалов и трехмерных скаффолдов.

Цель данного обзора — клеточно-молекулярная характеристика субпопуляций макрофагов, их кооперации с МСК в процессе остеогенеза и влияния на биодеградируемые материалы, используемые в биоинженерии костной ткани.

Клеточно-молекулярная характеристика субпопуляций макрофагов

Результаты исследований последних лет внесли значительный вклад в расширение представлений о роли макрофагов в обеспечении тканевого гомеостаза и физиологического ремоделирования тканей. Тканевая травма,

ответ на инородное тело, воспаление, аутоиммунные реакции, опухолевый рост индуцируют морфофункциональную реакцию этих клеток. Тканевый гомеостаз зависит от способности макрофагов приобретать иммунофенотип M1 или M2 в ответ на различные раздражители (Abumaree et al., 2013).

Субпопуляция макрофагов M1 относится к провоспалительному типу и первой обнаруживается в участке повреждения. Показано, что M1 активируются бактериальными липополисахаридами (LPS) и интерфероном-гамма (IFN- γ). M1 экспрессируют высокие уровни хемокинового рецептора 7-го типа (CCR7), индуцибельную форму NO-синтазы (iNOS), лейкоцитарный антиген главного комплекса гистосовместимости у человека (HLA-DR) и ряд провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-12) (Luz-Stawford et al., 2015), индуцируют клеточную пролиферацию в очаге воспаления, тем самым обеспечивая дальнейшее развитие процесса репарации.

Во второй фазе воспаления преобладают альтернативно активированные макрофаги M2, которые могут образовываться из макрофагов M1 в условиях воздействия IL-4 и IL-13 (Gratchev et al., 2005; Gu et al., 2017). Напротив, реверсия иммунофенотипа M2 в подтип M1 возникает при их стимуляции LPS и IFN- γ , что подчеркивает пластичность макрофагов в различных условиях регенерации тканей (Gu et al., 2017).

Субпопуляция макрофагов M2 обладает противовоспалительной активностью и отвечает за тканевое ремоделирование, экспрессируя кластеры дифференцировки CD163, CD206, лектин Ym1 (фактор хемотаксиса эозинофилов), хемокиновые лиганды CCL1, CCL18, FIZZ1 (обогащенный цистеином секретлируемый протеин, обнаруживаемый в зоне воспаления), аргиназу 1 (Arg1) и ChT (хитиназу) (Chazaud, 2014). Макрофаги M2 характеризуются активацией сигнального пути транскрипционного фактора STAT6, а также экспрессией эндоцитотических мультифункциональных сквенджер-рецепторов stabilin-1 (Kzhyshkowska et al., 2004) и маннозного рецептора CD206 (Koh, DiPietro, 2011). Они выделяют противовоспалительные цитокины и хемокины, такие как IL-10, IL-1ra и CCL18 (Gordon, Martinez, 2010).

Показано (Novak, Koh, 2013), что посредством секреции IL-4 и IL-13 макрофаги могут приобрести фенотип M2a, характеризующийся экспрессией низких уровней костимуляторных молекул с преобладанием активности Arg1, высоким уровнем CD206 и повышением секреции эндотелиального фактора роста (VEGF). В совокупности все эти факторы, секретлируемые субпопуляцией макрофагов M2a, обеспечивают профибротический и ранозаживляющий эффект. Выявлено, что M2b-подтип макрофагов образуется при воздействии LPS и способен к секреции провоспалительных цитокинов IL-6, TNF- α и IL-1 β (Kondo et al., 2016). Подтип, классифицируемый как M2c, образуется в условиях секреции IL-10 и трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β) и характеризуется противовоспалительным эффектом за счет продукции IL-10 (Wynn, Vannella, 2016). Дальнейшие исследования функциональных свойств макрофагов расширили спектр секретлируемых ими молекул, в который вошел, например, PGE2 (Jia et al., 2016). Таким образом, альтернативно активированная субпопуляция макрофагов M2 ответственна за дифференцировку прогениторных клеток и их таксис в очаг воспаления.

Макрофаги способны продуцировать моноцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF,

CSF1) — цитокин, который диффундирует в кровь и действует системно как мощный мобилизующий агент для гемопоэтических клеток-предшественников костного мозга, их дифференцировки и созревания в моноциты. M-CSF, действуя через соответствующий рецептор CSF1R, способствует ремоделированию тканей в ряде органов и систем. Так, блокировка сигнального пути, опосредованного CSF1R, приводит к ограничению образования остеокластов (Jou et al., 2013).

Согласно данным литературы последних лет, выделена еще одна популяция макрофагов, называемая остеомакрофагами (osteomacs) (Batoon et al., 2017). Считается, что остеомакрофаги обеспечивают проанаболическую поддержку остеобластов и стимулируют образование кости. Так, добавление остеомакрофагов к очищенным остеобластам усиливало минерализацию кости. Показано, что остеомакрофаги поддерживают созревание остеобластов *in vivo*. При истощении популяции остеомакрофагов снижается созревание остеобластов и уменьшается образование кости. На модели большеберцовой кости мышей показано, что остеомакрофаги могут обнаруживать повреждение кости и реагировать продукцией коллагена I типа (Gu et al., 2017).

Макрофаги костного мозга сосредоточены в основном либо вблизи центральной оси костного мозга длинных трубчатых костей, либо на линии кости (вблизи эндоста). В отличие от остеокластов макрофаги — одноядерные клетки, которые не экспрессируют тартрат-резистентную кислотную фосфатазу, способствуют в большей степени формированию, чем резорбции костной ткани (McCabe, MacNamara, 2016), что сближает их морфофункциональную активность с субпопуляцией макрофагов M2. Характеристика поверхностных антигенов и функциональной активности макрофагов костного мозга представлена в обзоре (McCabe, MacNamara, 2016) и включает в себя следующие субпопуляции.

1. F4/80^{hi}, CD11b⁻, маннозил/фукозил рецептор⁺, CD169⁺, FcR⁺ (IgG2a, IgG2b) — фагоцитирующие клетки в составе незрелых гемопоэтических островков.

2. F4/80⁺, CD68⁺ (микросалин), Mac-2^{lo}, Mac-3⁺ — остеомакрофаги (osteomacs), локализующиеся в эндосте и поддерживающие функции остеобластов, продуцирующие коллаген I типа, способствующие заживлению костных дефектов и минерализации костного матрикса.

3. F4/80⁺, Ly6G⁺, VCAM-1⁺, CD169⁺, CD11b⁺ — макрофаги в составе эритробластических островков; поддерживают функции остеобластов, ограничивают число гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), обеспечивают сохранение популяции ГСК.

4. F4/80⁺, CD68⁺, Gr-1⁻, CD115^{int}, CD106⁺(VCAM-1⁺), MHCII⁺, CD169⁺, CD11b^{int/lo} — макрофаги; они обнаружены в составе эритробластических островков проксимально (от оси костномозговой полости) по отношению к нестин-позитивным МСК; поддерживают функции нестин-позитивных МСК, экспрессируют факторы сохранения популяции ГСК; снижают число ГСК за счет увеличения длительности фазы покоя («молчашие» ГСК); мобилизуют кроветворные прекурсоры, фагоцитируют нейтрофилы, поддерживают эритропоз.

5. CX3CR1⁺, GR-1^{lo} — резидентные моноциты (макрофаги); осуществляют опосредованную гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (G-CSF) мобилизацию кроветворных прекурсоров из костного мозга в кровь. Топографическая локализация не определена.

Интересной особенностью костномозговых макрофагов является их участие в поддержании структурно-функционального состояния ниши ГСК, сформированной нестин-позитивными МСК (Chow et al., 2011). С точки зрения топографии костного мозга МСК и остеобласты формируют эндостальную нишу для ГСК (Yin, Li, 2006). В свою очередь субэндотелиальные (вблизи синусоидных капилляров костного мозга) CD146⁺ стромальные клетки-предшественники остеобластов считаются претендентами на формирование периваскулярной (сосудистой) ниши для ГСК (Sacchetti et al., 2007). Другими специфическими микротерриториями (нишами) для ГСК являются ретикулярные клетки (CAR), обогащенные CXCL12 (хемокиновым С-Х-С-мотивом лиганда 12) (Sacchetti et al., 2007) и экспрессирующие антиген F4/80. Наряду с макрофагами (Chasis, 2006) они образуют гемопоэтические островки (Notsu et al., 2007), способствующие дифференцировке и созреванию ГСК в эритроидные и (или) гранулоцитарные клетки (Crocker, Gordon, 1985). Таким образом, макрофаги могут быть как компонентами, так и модуляторами ниш для ГСК.

В связи с недавними экспериментальными исследованиями, постулирующими существование остеогенной ниши для самих МСК (Khlusov et al., 2013), формированию которой способствуют остеокласты, рассмотрим взаимодействие субпопуляций макрофагов с МСК.

Взаимодействие макрофагов и МСК в процессе остеогенеза

Макрофаги играют важную роль в процессе заживления костей как на начальном, так и на заключительном этапах. Экспериментально доказано на модели остеотомии у мышей, что индукция популяции макрофагов M2 во время процесса заживления переломов усиливает образование костей (Schlundt et al., 2018). Показано, что МСК способны вступать во взаимодействие с макрофагами, что значительно меняет потенциал стволовых клеток. Так, моноциты (макрофаги) продуцируют морфогенетический белок кости (BMP2) — один из ключевых факторов, регулирующих костеобразование (Batoon et al., 2017). Фактически морфогенетические белки кости индуцируют дифференцировку МСК по линии остеобластов *in vitro* и *in vivo* (Zaidi, 2007).

Изучение влияния субпопуляций M1 и M2 мышечных макрофагов на остеогенез *in vitro* при сокультивировании их с клетками-предшественниками остеобластов линии MC3T3-E1 показало, что в любой из культур с какой-либо субпопуляцией макрофагов остеогенная дифференцировка клеток MC3T3-E1 повышена; переключение фенотипа макрофагов с M1 на M2 через добавление IL-4 улучшало остеогенную способность клеток MC3T3-E1 (Loi et al., 2016). В другом исследовании изучали совместные культуры моноцитов (макрофагов) периферической крови и МСК костного мозга человека. Оказалось, что МСК из совместных культур обладали более высокой пролиферативной способностью и более высокой активностью щелочной фосфатазы по сравнению с монокультурами МСК (Pirgaso et al., 2013).

При взаимодействии МСК и субпопуляции M1 снижалась секреция TNF- α и NO-синтазы M1-макрофагами с переключением на фенотип M2 и последующей секрецией IL-10, CD206 и Arg1 (Maggini et al., 2010). Субпопуляция макрофагов M1 способствует остеогенной индук-

ции МСК, которая усиливается при переключении фенотипа M1 на M2 при сокультивировании с МСК в течение 72—96 ч (Glenn, Whartenby, 2014). Применение антител против IL-10 приводит к потере переключения фенотипов макрофагов (Nemeth et al., 2009).

В результате межклеточного взаимодействия макрофагов и МСК, зависящего от присутствия CXCR4 (рецептора 4-го типа хемокина С-Х-С) для стромального фактора 1 (SDF-1), происходит ограничение воспалительного процесса (Cao et al., 2014). Кроме того, показано, что инъекция МСК в сердечную мышцу увеличивает локально количество макрофагов и ускоряет репарацию миокарда (Wang et al., 2015). Переключение макрофагов воспалительного фенотипа M1 на противовоспалительный M2 на экспериментальной модели острой почечной недостаточности может происходить за счет увеличения матричной металлопротеиназы 9 (MMP-9) (Wise et al., 2014).

Очевидным является тот факт, что морфофункциональное влияние двух типов макрофагов должно быть сбалансированным. Персистенция провоспалительных макрофагов M1 в очаге способна приводить к хронизации воспалительного процесса (Eggenhofer, Hoogduijn, 2013). Так, немаловажная роль принадлежит макрофагам в прогрессировании ревматоидного артрита. При этом заболевании показано существенное увеличение их количества в синовиальной оболочке и прилегающих тканях (Udalova et al., 2016). Присутствие макрофагов в синовиальных мембранах приводит к увеличению Т-клеточной инфильтрации (Jackson et al., 2012). Ряд работ, посвященных исследованию ревматоидного артрита, демонстрирует присутствие дисбаланса между M1-субпопуляцией, секретирующей TNF- α , и противовоспалительной субпопуляцией M2c, продуцирующей IL-10 (Ye et al., 2014). У здоровых индивидуумов существует баланс между остеокластами и остеобластами (фазами резорбции и регенерации), который полностью утрачивается у пациентов с ревматоидным артритом.

Ключевое значение на ранних стадиях воспаления имеют антиген-презентирующая функция макрофагов и секреция ими провоспалительных факторов, таких как TNF- α и IL-1. Провоспалительные цитокины достигают максимальной концентрации через 24 ч после повреждения ткани (Laskin et al., 2011; Kelava et al., 2014). В то же время IL-1 может существовать в двух формах — IL-1 α и IL-1 β . IL-1 α активирует воспаление, тогда как IL-1 β оказывает положительное влияние на дифференцировку МСК в остеобласты и пролиферацию остеобластоподобных клеток (Dinarello, 1996; Sonomoto et al., 2012).

При совместном культивировании активированной M1-субпопуляции макрофагов и МСК обнаружено, что макрофаги M1 продуцируют низкий уровень провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-6 и IL-12p70; после стимуляции LPS макрофаги M1 приобретали способность продуцировать IL-10 и IL-12p40 (Kim et al., 2012).

Провоспалительные цитокины IL-1, TNF- α и IL-6 усиливают дифференцировку остеокластов и их резорбционную функцию, ингибируя при этом активность остеобластов и формирование кости. В свою очередь противовоспалительные цитокины IL-4, IL-10 и IL-13 обладают противоположным действием (Lee et al., 2015).

В 2016 г. описана возможность формирования M2-фенотипа макрофагов после сокультивирования с МСК жировой ткани в присутствии LPS независимо от межклеточного контакта (Hu et al., 2016). В литературе представлены данные об использовании совместного *in*

in vitro сокультивирования МСК жировой ткани и макрофагов для лечения колита у мышей. Авторами показано, что внутривенное введение активированных макрофагов M2, индуцированных в совместной с МСК культуре, угнетало колит и снижало смертность от сепсиса (Anderson et al., 2013).

Продукция провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF- α приводит к стимуляции секреции RANKL (рецепторный активатор лиганда NF- κ B, фактора дифференцировки остеокластов) и M-CSF. Это имеет решающее значение в формировании остеокластов посредством слияния миелоидных предшественников моноцитов и макрофагов в многоядерные клетки (Gonzalez et al., 2009). На мышцах показано, что МСК жировой ткани способны ингибировать RANK-индуцированный остеокластогенез (Garimella et al., 2015).

В настоящее время активно изучаются и уточняются механизмы, с помощью которых происходит изменение поляризации макрофагов после взаимодействия с МСК. Показано, что воздействие на МСК одного из ведущих провоспалительных цитокинов, TNF- α , продуцируемых M1-субпопуляцией макрофагов, приводит к секреции противовоспалительных молекул, в частности белка гена 6, стимулированного TNF- α (TSG-6) (Torihashi et al., 2015). Экспериментально показано (Choi et al., 2011), что TSG-6 предотвращает взаимодействие TLR2 и CD44, тем самым снижая воспалительный ответ макрофагов.

Ряд работ демонстрирует роль PGE2 в перепрограммировании макрофагов на фенотип M2 посредством повышения экспрессии циклооксигеназы второго типа (Cox2) (Nemeth et al., 2009). Существенное значение в модуляции фенотипа МФ с преобладанием субпопуляции M2 принадлежит антагонисту рецептора IL-1 (IL-1ra) (Luz-Crawford et al., 2016). Кроме того, IL-4 повышает противовоспалительную поляризацию макрофагов M2, что способствует усилению остеогенеза и уменьшению продолжительного воспаления, ассоциированного с субпопуляцией M1 (Ruiz et al., 2016). В свою очередь секреция остеогенных факторов (BMP2 и VEGF) субпопуляцией M2 способствует костеобразованию (You et al., 2015). Встречается информация о том, что классически активированные макрофаги M1 могут продуцировать онкостатин M, который способствует остеогенезу и минерализации межклеточного вещества в культуре МСК in vitro (Uccelli, de Rosbo, 2015).

Таким образом, взаимодействие макрофагов и МСК оказывает существенное влияние на поляризацию макрофагов, с одной стороны, и остеогенный потенциал МСК — с другой. Возможность переключения макрофагов M1 на противовоспалительный фенотип M2 определяет продолжительность воспалительного процесса и эффективность восстановления и ремоделирования тканей (Mantovani et al., 2013).

Влияние макрофагов на биодеградируемые материалы для биоинженерии костной ткани

Биомедицинские клеточные и тканеинженерные продукты для замещения тканей и органов являются альтернативой классическим биоматериалам для трансплантологии. Применение скаффолдов обеспечивает эффективное взаимодействие между тремя компонентами — самим каркасом (отвечает за пространственное располо-

жение клеток), клетками, которые образуют новую ткань на каркасе, и сигнальными молекулами (факторами роста, направляющими процесс дифференцировки и созревания клеток). При этом критическим звеном, определяющим эффективность и успешность любого скаффолда, является межфазная граница раздела искусственный материал/биологические клетки и ткани (Rockwood and Green's fractures in Adults, 2014).

С одной стороны, особенности природного или искусственного внеклеточного матрикса способны регулировать направление дифференцировки и созревания МСК (Kolf et al., 2007). В то же время отсутствие перипротезного воспаления и иммунопатологических реакций способствует успешной интеграции скаффолда. Макрофаги благодаря высокой пластичности и способности переключать фенотип в зависимости от внешних факторов среды имеют существенное значение в процессах биоинтеграции имплантатов. Например, посредством фагоцитоза они способны поглощать чужеродный материал (инородные тела) размером менее 10 мкм. Гигантские многоядерные клетки образуются при слиянии нескольких макрофагов при размере поглощаемого материала от 10 до 100 мкм. При еще большей размерности материала (более 100 мкм) наблюдается явление фрустрированного фагоцитоза, в результате чего экспрессируются высокие уровни провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода и протеолитических ферментов (Rayahin, Gemeinhart, 2017).

Присутствие тканеинженерного матрикса потенциально способно изменять соотношение субпопуляций макрофагов M1 и M2 в ту или иную сторону. Отмечено, что продолжительное присутствие макрофагов M1 ведет к обширному воспалению и формированию фиброзной капсулы вокруг материала. В результате в месте имплантации развивается хроническое воспаление, что в конечном счете может привести к отторжению имплантата либо необходимости его извлечения (Sridharan et al., 2015).

В свою очередь длительное присутствие макрофагов M2 может приводить к появлению ГМКИТ и макрофагов, находящихся в состоянии фрустрированного фагоцитоза, вызванного невозможностью резорбировать чужеродное тело (Akilbekova et al., 2015). Кроме того, несмотря на то что макрофаги M2 являются предпочтительным фенотипом в контексте тканевого взаимодействия с имплантированным матриксом, они участвуют в развитии аллергических реакций и рака, а выделяемый ими хемокин CCL18 способствует поддержанию хронического воспаления (Wynn, Vannella, 2016).

Известно, что макрофаги способны распознавать адсорбировавшиеся на поверхность искусственного материала белки за счет интегринов, например Mac-1 или Arg-Gly-Asp (RGD)-распознающих интегринов α v β 3, α v β 5 и α 5 β 1. Интегрины отвечают не только за первичную адгезию макрофагов к чужеродной поверхности, но и за развитие воспалительных реакций и степень фиброзного инкапсулирования (Love, Jones, 2013; Zaveri et al., 2014). Также макрофаги способны напрямую взаимодействовать с поверхностью матрикса за счет toll-подобных рецепторов (TLR) (Kzhyshkowska et al., 2015).

Одним из перспективных подходов к решению задач биоинженерии тканей, прежде всего костной, является использование композитных материалов (Хенч, Джонс, 2007), состоящих из двух фаз: 1) органической — в виде биологически инертного или биодеградирующего поли-

мерного связующего материала, обладающего эластичностью, способностью к стерилизации; 2) неорганической — биологически активного наполнителя в виде мелкодисперсных порошков фосфатов кальция различного химического состава, которые являются промоторами пролиферации и активации остеогенных клеток (Kim et al., 1997). Существенный прогресс в области остеопластических материалов связан с получением композитных полимерных материалов, имитирующих взаимодействие минеральной части и коллагеновой матрицы костной ткани, синтезированных из природных полиэфиров (молочной, гликолевой и других кислот), способных к биодеградации и биорезорбции.

Гидроксиапатит (ГАП) является основной минеральной составляющей кости и широко применяется в биомедицине в связи с хорошей биосовместимостью и биодоступностью. Матрицы на основе ГАП с соответствующей структурой, биоразлагаемостью и механическими свойствами способны инициировать адгезию, пролиферацию и дифференцировку остеобластов (Anselmo et al., 2015).

Совместное культивирование макрофагальной линии RAW264.7 мышей с ГАП-покрытиями HA-10Ce и HA-30Ce приводило к следующим клеточным ответам: 1) изменению экспрессионного профиля макрофагов в сторону фенотипа M2; 2) повышению экспрессии поверхностных маркеров CD163 и CD206, а также генов, ответственных за остеобластогенез (*BMP2* и *TGF- β 1*); 3) увеличению продукции противовоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6. При этом наблюдали подавление маркеров субпопуляции M1 (*CCR7* и *CD11c*), снижение секреции провоспалительных цитокинов (IL-10 и IL-1ra) и активной форма кислорода (Bygd et al., 2015).

В других экспериментах на клеточной линии мышинных макрофагов J774A.1 при сокультивировании с ГАП-микросферами продемонстрировано существенное увеличение фагоцитарной активности клеток и повышение экспрессии мембранного протеина-1, ассоциированного с лизосомами (LAMP-1), по сравнению с отрицательным контролем (Pedraza et al., 2008).

В процессе фагоцитоза участвуют разнообразные клеточные рецепторы, в частности TLR. Показано, что взаимодействие ГАП и перитонеальных макрофагов опосредовано активацией TLR-4 с последующим высвобождением TNF- α (Palmer et al., 2014). Подкожное введение крысам гранул ГАП с различной микроструктурой сопровождается формированием трех видов ГМКИТ, характеризующихся разнообразной экспрессией маркеров (катепсин K⁺/катепсин K⁻ и тартратрезистентная кислая фосфатаза) (Bygd et al., 2015). ГМКИТ, подобно остеокластам, способны продуцировать анионный обменный протеин 2, карбоангидразу 2 и вакуольный тип H⁺-АТФазы (Harkel et al., 2015).

Наиболее часто используемые в практике тканевой инженерии биодеградируемые синтетические полимеры для трехмерных скаффолдов представляют собой насыщенные поли- α -гидроксиэфиры, включая полимолочную кислоту (PLA) и полигликолевую кислоту (PLGA), а также их сополимеры (PLGA) (Mano et al., 2004).

С использованием различных экспериментальных моделей многие научные группы занимаются изучением клеточного ответа иммунной системы на PLA. На клеточных линиях установлено, что наночастицы из PLGA вызывают каскад воспалительных реакций, стимулируя секрецию белков острой фазы воспаления (TNF- α и IL-1 β) (Nicolette et al., 2011).

Повышение секреции TNF- α , IL-1 β , IL-6 и GM-CSF при добавлении PLGA наблюдали также при сокультивировании фибробластов и моноцитов (Parks et al., 2014). Другие авторы отметили, что финальная стадия деградации PLA сопровождается усилением воспалительных реакций, однако при этом не происходит формирования ГМКИТ (Zeng et al., 2017). С другой стороны, МСК ослабляют *in vitro* созревание и функциональную активность дендритных клеток и подавляют воспаление, индуцированное PLGA (Zhu et al., 2015).

Заключение

Эффективность процессов физиологической регенерации и репаративной интеграции костной ткани с костнопластическими материалами и скаффолдами напрямую зависит от реакций и поведения клеток-эффекторов. В связи с этим взаимодействие макрофагов с МСК (в присутствии экзогенного биоматериала или без такового) на основе межклеточных контактов, продуцируемых цитокинов, рецепторов, экспрессии сигнальных молекул и транскрипционных факторов представляет существенный интерес для биоинженерии костной ткани.

Сведения о взаимодействии МФ и МСК, даже в отсутствие трехмерного матрикса, в научной литературе немногочисленны. Известны поляризация макрофагов при сокультивировании с МСК и, напротив, макрофагальный контроль МСК, которые регулируются молекулярными факторами. Среди них, согласно результатам экспериментальных работ последних лет, можно выделить следующие: для субпопуляции M1 — хемокиновый рецептор CCR7, iNOS, IL-1ra и TNF- α ; для субпопуляции M2 — CD206, Ym1, CD163, CCL1, CCL18, Arg-1 и IL-10; для поляризации M1 в M2 — IL-4, простагландин PGE2, циклооксигеназа Cox2, IL-1ra и IL-13; для поляризации M2 в M1 — LPS и IFN- γ ; в качестве активаторов остеокластов — IL-1, TNF- α и IL-6 и в качестве регуляторов остеогенного потенциала МСК — IL-4, IL-10, IL-13, BMP2 и VEGF.

Участью макрофагов (в кооперации с Т-лимфоцитами) и их субпопуляций в регуляции физиологического и репаративного ремоделирования костной ткани уделяется постоянное внимание (см., например: Ratner et al., 2004; Gu et al., 2017). Основные элементы кооперации субпопуляций макрофагов и МСК в привязке к топографическим структурно-функциональным микротерриториям (нишам) для стволовых клеток костного мозга мы попытались обобщить схематически на рисунке. Следует обратить внимание, что эта схема практически не рассматривает многогранные вопросы регуляторного влияния макрофагов на гемопоэз, поскольку на эту тему существуют специальные обзоры (см., например: McCabe, MacNamara, 2016).

Как показано на рисунке, костная ткань подвергается постоянному процессу физиологического ремоделирования через резорбцию кости остеокластами в сочетании с образованием новой кости остеобластами, дифференцирующимися из МСК. Это приводит к неизбежному разобщению ГСК и стромальных клеток в эндостальных нишах в реконструируемых участках кости. В результате появляются активные остеогенные микротерритории для МСК, способствующие их дифференцировке и созреванию в остеобласты (Khlusov et al., 2013). Макрофаги способны изменять ремоделирование кости преимущественно

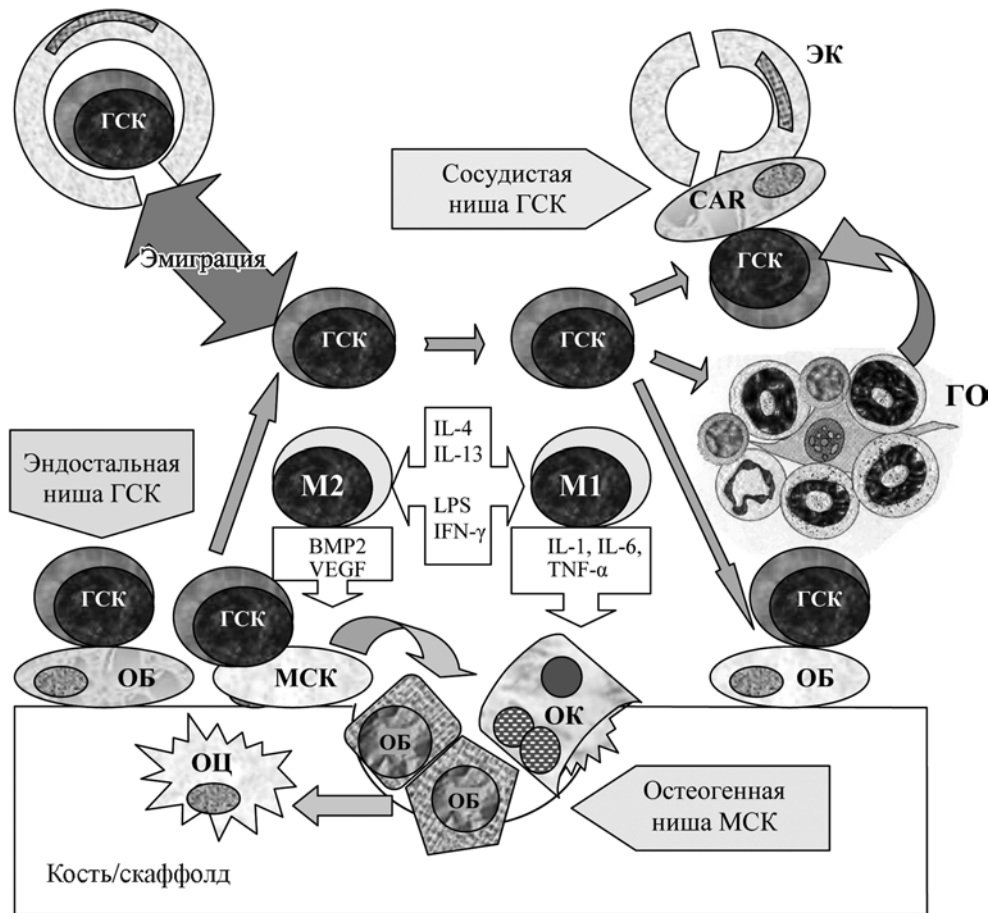


Схема взаимодействия макрофагов и мезенхимных стволовых клеток (МСК) в ремоделировании кроветворных и стромальных структурно-функциональных микротерриторий костного мозга.

ГО — гемопоэтические островки в качестве транзитной ниши для гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и прогениторных клеток гемопоэза, CAR — ретикулярные клетки, обогащенные CXCL12 (хемокином подсемейства CXС), M1 и M2 — соответственно провоспалительная и регенераторная субпопуляция макрофагов, ОБ — остеобласт, ОК — остеокласт, ОЦ — клетка костной ткани (остеоцит), ЭК — эндотелиальная клетка. В светлых прямоугольниках указаны молекулярные регуляторные факторы. Объяснения см. в тексте.

но в условиях стресса (включая постимплантационный), повреждения и патологии (Batoon et al., 2017).

С одной стороны, провоспалительные цитокины, продуцируемые субпопуляцией M1 (IL-1, TNF- α и IL-6), способствуют усилению дифференцировки и резорбционной активности остеокластов, разрушающих старую кость или имплантируемый скаффолд. В то же время противовоспалительные цитокины IL-4, IL-10 и L-13 обладают противоположным действием (Lorenzo, 2000). МСК способствуют переключению макрофагального фенотипа M1 на M2. Макрофаги M2 секретируют спектр регуляторных остеогенных молекул, в частности BMP-2 и TGF- β (Honda et al., 2006; Pettit et al., 2008; Chen et al., 2014). Присутствие макрофагов необходимо для эффективной минерализации кости, и их истощение может приводить к снижению функций остеобластов (Chang et al., 2008).

В свою очередь ГСК, вышедшие из эндостальной ниши вследствие ремоделирования костной ткани, могут эмигрировать из костного мозга либо перераспределяться в другие ниши (гемопоэтические островки или сосудистая ниша), формируемые в том числе макрофагами. Кроветворные ниши могут образоваться de novo за счет хоминга ГСК, циркулирующих в кровяном русле (см. рисунок).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, соглашение № 14.575.21.0164 от 26.09.2017 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI57517X0164), в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы».

Список литературы

- Riggs B. L., Melton III L. J. (Ed.) 2000. Остеопороз. М.: СПб.: ЗАО «Издательство БИНОМ», «Невский диалект». 560 с. (Riggs B. L., Melton III L. J. (Eds.) 1995. Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management. Philadelphia: New York: Lippincott-Raven Publ. 550 p.)
- Хенч Л., Джонс Д. (Ред.) 2007. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. М.: ЗАО РИЦ «Техносфера». 301 с. (Hench L., Jones J. (Eds.) 2005. Biomaterials, artificial organs and tissue engineering: Woodhead Publishing. 304 p.)
- Abumaree M. H., Jumah M. A., Kalionis B., Jawdat D., Al Khaldi A., Abomaray F. M., Fatani A. S., Chamley L. W., Knaу B. A. 2013. Human placental mesenchymal stem cells (pMSC) play a role as immune suppressive cells by shifting macrophage differentiation from inflammatory M1 to anti-inflammatory M2 macrophages. Stem Cell Rev. 9 : 620—641.

- Akilbekova D., Philip R., Graham A., Bratlie K. M. 2015. Macrophage reprogramming: influence of latex beads with various functional groups on macrophage phenotype and phagocytic uptake *in vitro*. *J. Biomed. Mater. Res.* 103 : 262—268.
- Anderson P., Souza-Moreira L., Morell M., Caro M., O'Valle F., Gonzalez-Rey E., Delgado M. 2013. Adipose-derived mesenchymal stromal cells induce immunomodulatory macrophages which protect from experimental colitis and sepsis. *Gut.* 62 : 1131—1141.
- Anselmo A. C., Zhang M., Kumar S., Vogus D. R., Menegatti S., Helgeson M. E., Mitrugotri S. 2015. Elasticity of nanoparticles influences their blood circulation, phagocytosis, endocytosis, and targeting. *ACS Nano.* 9 : 3169—3177.
- Batoon L., Millard S. M., Raggatt L. J., Pettit A. R. 2017. Osteomacs and bone regeneration. *Curr. Osteoporos. Rep.* 15 : 385—395.
- Bygd H. C., Forsmark K. D., Bratlie K. M. 2015. Altering *in vivo* macrophage responses with modified polymer properties. *Biomaterials.* 56 : 187—197.
- Cao X., Han Z. B., Zhao H., Liu Q. 2014. Transplantation of mesenchymal stem cells recruits trophic macrophages to induce pancreatic beta cell regeneration in diabetic mice. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 53 : 372—379.
- Chang M. K., Raggatt L. J., Alexander K. A., Kuliwaba J. S., Fazzalari N. L., Schroder K., Maylin E. R., Ripoll V. M., Hume D. A., Pettit A. R. 2008. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function *in vitro* and *in vivo*. *J. Immunol.* 181 : 1232—1244.
- Chasis J. A. 2006. Erythroblastic islands: specialized microenvironmental niches for erythropoiesis. *Curr. Opin. Hematol.* 13 : 137—141.
- Chazaud B. 2014. Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration. *Immunobiol.* 219 : 172—178.
- Chen Z., Wu C., Gu W., Klein T., Crawford R., Xiao Y. 2014. Osteogenic differentiation of bone marrow MSCs by β -tricalcium phosphate stimulating macrophages via BMP2 signalling pathway. *Biomaterials.* 35 : 1507—1518.
- Choi H., Lee R. H., Bazhanov N., Oh J. Y., Prockop D. J. 2011. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by activated MSC attenuates zymosan-induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/NF- κ B signaling in resident macrophages. *Blood.* 118 : 330—338.
- Chow A., Lucas D., Hidalgo A., Méndez-Ferrer S., Hashimoto D., Scheiermann C., Battista M., Leboeuf M., Prophete C., van Rooijen N., Tanaka M., Merad M., Frenette P. S. 2011. Bone marrow CD169⁺ macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche. *J. Exp. Med.* 208 : 261—271.
- Court-Brown C. M., Heckman J. D., McQueen M. M. (Eds.) 2014. Rockwood and green's fractures in adults. Philadelphia: Lippincott-Raven Publ. 1—2. 2416 p.
- Crocker P. R., Gordon S. 1985. Isolation and characterization of resident stromal macrophages and hematopoietic cell clusters from mouse bone marrow. *J. Exp. Med.* 162 : 993—1014.
- Crockett J. C., Rogers M. J., Coxon F. P., Hocking L. J., Helfrich M. H. 2011. Bone remodelling at a glance. *J. Cell Sci.* 124 : 991—998.
- Dinarello C. A. 1996. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood.* 87 : 2095—2147.
- Eggenhofer E., Hoogduijn M. J. 2013. Mesenchymal stem cell-educated macrophages. *Transplant. Res.* 1 : 12.
- Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I., Obera-García M. A., Del-Canto-Pingarrón M., Blanco-Jerez L. 2006. Physiological bases of bone regeneration. II. The remodeling process. *J. Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 11 : 151—157.
- Garimella M. G., Kour S., Piprode V., Mittal M., Kumar A., Rani L., Pote S. T., Mishra G. C., Chattopadhyay N., Wani M. R. 2015. Adipose-derived mesenchymal stem cells prevent systemic bone loss in collagen-induced arthritis. *J. Immunol.* 195 : 5136—5148.
- Gerstenfeld L. C., Cullinane D. M., Barnes G. L., Graves D. T., Einhorn T. A. 2003. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J. Cell. Biochem.* 88 : 873—884.
- Giannoudis P. V., Einhorn T. A., Marsh D. 2007. Fracture healing: the diamond concept. *Injury.* 38 : 3—6.
- Glenn J. D., Whartenby K. A. 2014. Mesenchymal stem cells: emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J. Stem Cells.* 6 : 526—539.
- Goerdts S., Politz O., Schledzewski K., Birk R., Gratchev A., Guillot P., Hakiy N., Klemke C. D., Dippel E., Kodelja V., Orfanos C. E. 1999. Alternative versus classical activation of macrophages. *Pathobiology.* 67 : 222—226.
- Gonzalez M. A., Gonzalez-Rey E., Rico L., Buscher D., Delgado M. 2009. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis Rheum.* 60 : 1006—1019.
- Gordon S., Martinez F. O. 2010. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity.* 32 : 593—604.
- Gratchev A., Kzhyshkowska J., Utikal J., Goerdts S. 2005. Interleukin-4 and dexamethasone counterregulate extracellular matrix remodelling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand. J. Immunol.* 61 : 10—17.
- Gu Q., Yang H., Shi Q. 2017. Activation of macrophages in response to biomaterials. *JOT.* 10 : 86—93.
- Guihard P., Danger Y., Brounais B., David E., Brion R., Delecric J., Richards C. D., Chevalier S., Redini F., Heymann D., Gascan H., Blanchard F. 2012. Induction of osteogenesis in mesenchymal stem cells by activated monocytes/macrophages depends on oncostatin M signaling. *Stem Cells.* 30 : 762—772.
- Harkel B., Schoenmaker T., Picavet D. I., Davison N. L., de Vries T. J., Everts V. 2015. The foreign body giant cell cannot resorb bone, but dissolves hydroxyapatite like osteoclasts. *PLoS ONE.* 10 : e0139564.
- Honda Y., Anada T., Kamakura S., Nakamura M., Sugawara S., Suzuki O. 2006. Elevated extracellular calcium stimulates secretion of bone morphogenetic protein 2 by a macrophage cell line. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 345 : 1155—1160.
- Hu Y., Qin C., Zheng G., Lai D., Tao H., Zhang Y., Qiu G., Ge M., Huang L., Chen L., Cheng B., Shu Q., Xu J. 2016. Mesenchymal stem cell-educated macrophages ameliorate LPS-induced systemic response. *Mediators Inflamm.* 2016 : 3735452.
- Jackson W. M., Nesti L. J., Tuan R. S. 2012. Concise review: clinical translation of wound healing therapies based on mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl. Med.* 1 : 44—50.
- Jia X. H., Feng G. W., Wang Z. L., Du Y., Shen C., Hui H., Peng D., Li Z. J., Kong D. L., Tian J. 2016. Activation of mesenchymal stem cells by macrophages promotes tumor progression through immune suppressive effects. *Oncotarget.* 7 : 20934—20944.
- Jou I. M., Lin C. F., Tsai K. J., Wei S. J. 2013. Macrophage-mediated inflammatory disorders. *Mediators Inflamm.* 2013 : 316482. Doi: 10.1155/2013/316482.
- Kalfas I. H. 2001. Principles of bone healing. *Neurosurg. Focus.* 10 : 7—10.
- Kelava T., Sucur A., Kuzmac S., Katavic V. 2014. Interactions between bone and immune systems: a focus on the role of inflammation in bone resorption and fracture healing. *Period. Biologorum.* 116 : 45—52.
- Khlusov I. A., Shevtsova N. M., Khlusova M. Y. 2013. Detection *in vitro* and quantitative estimation of artificial microterritories which promote osteogenic differentiation and maturation of stromal stem cells. *Methods Mol. Biol.* 1035 : 103—119.
- Kim H. M., Miyaji F., Kokubo T., Nakamura T. 1997. Bonding strength of bonelike apatite layer to Ti metal substrate. *J. Biomed. Mater. Res.* 38 : 121—127.
- Kim S. W., Lee D. W., Yu L. H., Zhang H. Z., Kim C. E., Kim J. M., Park T. H., Cha K. S., Seo S. Y., Roh M. S., Lee K. C., Jung J. S., Kim M. H. 2012. Mesenchymal stem cells overexpressing GCP-2 improve heart function through enhanced angiogenic properties in a myocardial infarction model. *Cardiovasc. Res.* 95 : 495—506.
- Koh T. J., DiPietro L. A. 2011. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Rev. Mol. Med.* 13 : e23.

- Kolf C. M., Cho E., Tuan R. S. 2007. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res. Ther.* 9 : 204—219.
- Kondo T., Tsunematsu T., Yamada A., Arakaki R., Saito M., Otsuka K., Kujiraoka S., Ushio A., Kurosawa M., Kudo Y., Ishimaru N. 2016. Acceleration of tumor growth due to dysfunction in M1 macrophages and enhanced angiogenesis in an animal model of autoimmune disease. *Lab. Invest.* 96 : 468—480.
- Kzhyshkowska J., Gratchev A., Martens J. H., Pervushina O., Mamidi S., Johansson S., Schledzewski K., Hansen B., He X., Tang J., Nakayama K., Goerdt S. 2004. Stabilin-1 localizes to endosomes and the trans-Golgi network in human macrophages and interacts with GGA adaptors. *J. Leukoc. Biol.* 76 : 1151—1161.
- Kzhyshkowska J., Gudima A., Riabov V., Dollinger C., Lavalle P., Vrana N. E. 2015. Macrophage responses to implants: prospects for personalized medicine. *J. Leukoc. Biol.* 98 : 953—962.
- Laskin D., Sunil V., Gardner C., Laskin J. 2011. Macrophages and tissue injury: agents of defense or destruction? *Ann. Rev. Pharm. Toxic.* 51 : 267—288.
- Lee K. C., Lin H. C., Huang Y. H., Hung S. C. 2015. Allo-transplantation of mesenchymal stem cells attenuates hepatic injury through IL1Ra dependent macrophage switch in a mouse model of liver disease. *J. Hepatol.* 63 : 1405—1412.
- Loi F., Cordova L. A., Zhang R., Pajarinen J., Lin T. H., Goodman S. B., Yao Z. 2016. The effects of immunomodulation by macrophage subsets on osteogenesis *in vitro*. *Stem Cell Res. Ther.* 7 : 15.
- Lorenzo J. 2000. Interactions between immune and bone cells: new insights with many remaining questions. *J. Clin. Invest.* 106 : 749—752.
- Love R. J., Jones K. S. 2013. The recognition of biomaterials: pattern recognition of medical polymers and their adsorbed biomolecules. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 101 : 2740—2752.
- Luz-Crawford P., Djouad F., Toupet K., Bony C., Franquesa M., Hoogduijn M. J., Jorgensen C., Noel D. 2016. Mesenchymal stem cell-derived IL1RA promotes macrophage polarization and inhibits B cell differentiation. *Stem Cells.* 34 : 483—492.
- Maggini J., Mirkin G., Bognanni I., Holmberg J., Piazzone I. M., Nepomnaschy I., Costa H., Canones C., Raiden S., Vermeulen M., Geffner J. R. 2010. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells turn activated macrophages into a regulatory-like profile. *PLoS ONE.* 5 : e9252.
- Mano J. F., Sousa R. A., Boesel L. F., Neves N. M., Reis R. L. 2004. Bionert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments. *Composites Sci. Technol.* 64 : 789—817.
- Mantovani A., Biswas S. K., Galdiero M. R., Sica A., Locati M. 2013. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling. *J. Pathol.* 229 : 176—185.
- Mantovani A., Sica A., Sozzani S., Allavena P., Vecchi A., Locati M. 2004. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* 25 : 677—686.
- McCabe A., MacNamara K. C. 2016. Macrophages: key regulators of steady state and demand-adapted hematopoiesis. *Exp. Hematol.* 44 : 213—222.
- Nemeth K., Leelahavanichkul A., Yuen P. S., Mayer B., Parmelee A., Doi K., Robey P. G., Leelahavanichkul K., Koller B. H., Brown J. M., Hu X., Jelinek I., Star R. A., Mezey E. 2009. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat. Med.* 15 : 42—49.
- Nicolete R., dos Santos D. F., Faccioli L. H. 2011. The uptake of PLGA micro or nanoparticles by macrophages provokes distinct *in vitro* inflammatory response. *Int. Immunopharmacol.* 11 : 1557—1563.
- Notsu E., Sonoda Y., Sasaki K. A. 2007. Histological study and three-dimensional reconstruction of F4/80-positive reticular cells and macrophages at the onset of murine bone marrow hematopoiesis. *Kaibogaku Zasshi.* 82 : 53—60.
- Novak M. L., Koh T. J. 2013. Macrophage phenotypes during tissue repair. *J. Leukoc. Biol.* 93 : 875—881.
- Palmer J. A., Abberton K. M., Mitchell G. M., Morrison W. A. 2014. Macrophage phenotype in response to implanted synthetic scaffolds: an immunohistochemical study in the rat. *Cells Tissue Organs.* 199 : 169—183.
- Parfitt A. M. 1988. Bone remodeling: relationship to the amount and structure of bone, and the pathogenesis and prevention of fractures. In: *Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management*. New York: Raven Press. 45—93.
- Parks A. C., Sung K., Wu B. M. 2014. A three-dimensional *in vitro* model to quantify inflammatory response to biomaterials. *Acta Biomater.* 10 : 4742—4749.
- Pedraza C. E., Nikolcheva L. G., Kaartinen M. T., Barralet J. E., McKee M. D. 2008. Osteopontin functions as an opsonin and facilitates phagocytosis by macrophages of hydroxyapatite-coated microspheres: implications for bone wound healing. *Bone.* 43 : 708—716.
- Petit A. R., Chang M. K., Hume D. A., Raggatt L. J. 2008. Osteal macrophages: a new twist on coupling during bone dynamics. *Bone.* 43 : 976—982.
- Pirrao R. P., Reis R. L., Marques A. P. 2013. Effect of monocytes/macrophages on the early osteogenic differentiation of hBMSCs. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 7 : 392—400.
- Ratner B. D., Hoffman A. S., Schoen F. J., Lemons J. E. 2004. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. San Diego: Elsevier Acad. Press. 851 p.
- Rayahin J. E., Gemeinhart R. A. 2017. Activation of macrophages in response to biomaterials. *Results Probl. Cell Differ.* 62 : 317—351.
- Ruiz M., Cosenza S., Maumus M., Jorgensen C., Noel D. 2016. Therapeutic application of mesenchymal stem cells in osteoarthritis. *Expert Opin. Biol. Ther.* 16 : 33—42.
- Sacchetti B., Funari A., Michienzi S., Di Cesare S., Piersanti S., Saggio I., Tagliafico E., Ferrari S., Robey P. G., Riminucci M., Bianco P. 2007. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell.* 131 : 324—336.
- Schlundt C., El Khassawna T., Serra A., Dienelt A., Wendler S., Schell H., van Rooijen N., Radbruch A., Lucius R., Hartmann S., Duda G. N., Schmidt-Bleek K. 2018. Macrophages in bone fracture healing: their essential role in endochondral ossification. *Bone.* 106 : 78—89.
- Sheng J., Ruedl C., Karjalainen K. 2015. Most tissue-resident macrophages except microglia are derived from fetal hematopoietic stem cells. *Immunity.* 43 : 382—393.
- Shishatskaya E. I., Khlusov I. A., Volova T. G. 2006. A hybrid PHB-hydroxyapatite composite for biomedical application: production, *in vitro* and *in vivo* investigation. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* 17 : 481—498.
- Sonomoto K., Yamaoka K., Oshita K., Fukuyo S., Zhang X., Nakano K., Okada Y., Tanaka Y. 2012. Interleukin-1 β induces differentiation of human mesenchymal stem cells into osteoblasts via the Wnt-5a/receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2 pathway. *Arthritis Rheum.* 64 : 3355—3363.
- Sridharan R., Cameron A. R., Kelly D. J., Kearney C. J., O'Brien F. J. 2015. Biomaterial based modulation of macrophage polarization: a review and suggested design principles. *Materials Today.* 18 : 313—325.
- Tasso R., Ulivi V., Reverberi D., Sicco C. L., Descalzi F., Cancedda R. 2013. *In vivo* implanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells trigger a cascade of cellular events leading to the formation of an ectopic bone regenerative niche. *Stem Cells Devel.* 22 : 3178—3191.
- Torihashi S., Ho M., Kawakubo Y., Komatsu K., Nagai M., Hirayama Y., Kawabata Y., Takenaka-Ninagawa N., Wanachewin O., Zhuo L., Kimata K. 2015. Acute and temporal expression of tumor necrosis factor (TNF)-alpha-stimulated gene 6 product, TSG6, in mesenchymal stem cells creates microenvironments required for their successful transplantation into muscle tissue. *J. Biol. Chem.* 290 : 22 771—22 781.
- Uccelli A., de Rosbo N. K. 2015. The immunomodulatory function of mesenchymal stem cells: mode of action and pathways. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1351 : 114—126.

Udalova I. A., Mantovani A., Feldmann M. 2016. Macrophage heterogeneity in the context of rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 12 : 472—485.

Wang M., Zhang G., Wang Y., Liu T., Zhang Y., An Y., Li Y. 2015. Crosstalk of mesenchymal stem cells and macrophages promotes cardiac muscle repair. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 58 : 53—61.

Wise A. F., Williams T. M., Kiewiet M. B., Payne N. L., Siatkas C., Samuel C. S., Ricardo S. D. 2014. Human mesenchymal stem cells alter macrophage phenotype and promote regeneration via homing to the kidney following ischemia-reperfusion injury. *Amer. J. Physiol. Renal. Physiol.* 306 : F1222—F1235.

Wu X., Xu W., Feng X., He Y., Liu X., Gao Y., Yang S., Shao Z., Yang C., Ye Z. 2015. TNF- α mediated inflammatory macrophage polarization contributes to the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis in mice. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 28 : 351—361.

Wynn T. A., Vannella K. M. 2016. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity.* 44 : 450—462.

Ye L., Wen Z., Li Y., Chen B., Yu T., Liu L., Zhang J., Ma Y., Xiao S., Ding L., Li L., Huang Z. 2014. Interleukin-10 attenuation of collagen-induced arthritis is associated with suppression of interleukin-17 and retinoid-related orphan receptor gamma at production in macrophages and repression of classically activated macrophages. *Arthritis Res. Therapy.* 16 : R96.

Yin T., Li L. 2006. The stem cell niches in bone. *J. Clin. Invest.* 116 : 1195—1201.

You Y., Zhang J., Gong J., Chen Y., Li Y., Yang K., Liu Z. 2015. Mesenchymal stromal cell-dependent reprogramming of Kupffer cells is mediated by TNF- α and PGE2 and is crucial for liver transplant tolerance. *Immunol. Res.* 62 : 292—305.

Zaidi M. 2007. Skeletal remodeling in health and disease. *Nat. Med.* 13 : 791—801.

Zaveri T. D., Lewis J. S., Dolgova N. V., Clare-Salzler M. J., Keselowsky B. G. 2014. Integrin-directed modulation of macrophage responses to biomaterials. *Biomaterials.* 35 : 3504—3515.

Zeng N., van Leeuwen A. C., Grijpma D. W., Bos R. R., Kuijjer R. 2017. Poly(trimethylene carbonate)-based composite materials for reconstruction of critical-sized cranial bone defects in sheep. *J. Craniomaxillofac. Surg.* 45 : 338—346.

Zhu J. H., Yang F., Tang B., Li X. M., Chu Y. N., Liu Y. L., Wang S. G., Wu D. C., Zhang Y. 2015. Mesenchymal stem cells attenuated PLGA-induced inflammatory responses by inhibiting host DC maturation and function. *Biomaterials.* 53 : 688—698.

Zivković J., Najman S., Vukelić M., Najdanović J. 2015. Osteogenic effect of inflammatory macrophages loaded onto mineral bone substitute in subcutaneous implants. *Arch. Biol. Sci.* 67 : 173—186.

Поступила 10 I 2018

MACROPHAGE SUBSETS AND MESENCHYMAL STEM CELLS IN REGULATION OF BONE TISSUE REMODELING

E. E. Ivanyuk,¹ S. V. Nadezhdin,² L. A. Pokrovskaya,³ V. V. Shupletsova,⁴
O. G. Khaziakhmatova,⁴ K. A. Yurova,⁴ V. V. Malashchenko,⁴ L. S. Litvinova,⁴ I. A. Khlusov^{3—6,*}

¹ Laboratory for Translational Cell and Molecular Biomedicine, Research Institute of Biology and Biophysics, Tomsk State University, Tomsk, 634050,

² Department of Biology, Institute of Engineering Technology and Natural Science, Belgorod National Research University, Belgorod, 308015,

³ Laboratory of Polymers and Composite Materials, Tomsk State University, Tomsk, 634050,

⁴ Laboratory of Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236041,

⁵ Morphology and General Pathology Department, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050, and

⁶ Experimental Physics Department, Tomsk Polytechnic University, Tomsk, 634050;

* e-mail: khlusov63@mail.ru

Cellular-molecular feature of macrophage (MP) subpopulations and their interaction with both mesenchymal stem cells (MSC) and three dimensional scaffolds in the process of bone tissue remodeling is discussed in the review. MP controlling of MSC osteogenic differentiation and maturation and vice versa, MP polarization into M1 or M2 subsets in conditions of co-culturing with MSC are described. The role of bone marrow MP subsets in structural-functional regulation of microterritories (niches) for hemopoietic stem cells is examined. Schematic concept of MP and MSC cooperation in hemopoietic and stromal microterritories remodeling in conditions of bone tissue physiologic and reparative regeneration is offered.

Key words: M1 and M2 subsets of macrophages, osteomacrophages, surface markers, cytokines, bone marrow stem cells, niches, biodegradable scaffolds.