

# МАКРОФАГИ М1/М2: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, ФЕНОТИП, СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЕСТЕСТВЕННЫМИ КИЛЛЕРАМИ И ТРОФОБЛАСТОМ

Жгулева А.С.<sup>1</sup>, Зементова М.С.<sup>1</sup>, Сельков С.А.<sup>1,2</sup>, Соколов Д.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** В настоящем обзоре представлены современные данные о происхождении моноцитов/макрофагов, условиях, необходимых для дифференцировки моноцитов в макрофаги М1 или М2. Описаны три субпопуляции моноцитов периферической крови: 1) классические – основная субпопуляция (85-90%), эффективно осуществляющая фагоцитоз; 2) промежуточные моноциты (5-10%) – участвуют в процессинге и презентации антигена, в ангиогенезе, восстановлении эндотелия сосудов; 3) неклассические моноциты (10%) – «патрулируют» сосудистую сеть, удаляют клеточный дебрис, участвуют в ремоделировании тканей. В обзоре приведены подробные характеристики для каждого подкласса макрофагов: провоспалительные (М1) и противовоспалительные (М2), играющие разные роли в инициации и разрешении воспаления; описаны их фенотип, спектр секретируемых цитокинов, экспрессия транскрипционных факторов, выполняемые функции. Для популяции М2 подробно описаны особенности субпопуляции: М2а, М2b, М2с, М2d. В обзоре приведены методы и подходы к получению поляризованных макрофагов в условиях *in vitro* как из моноцитов периферической крови, так и из клеток перевиваемых культур, основанные на сигналах, получаемых макрофагами в условиях *in vivo*; приведены фенотип, продукция цитокинов и функциональные свойства искусственно поляризованных макрофагов в зависимости от условий их получения. В обзоре подробно рассматриваются особенности контактного и дистантного взаимодействия макрофагов различных подклассов с клетками микроокружения на примере естественных киллеров и клеток трофобласта, приводятся сведения об изменении фенотипа, транскрипционного и секреторного профиля взаимодействующих клеток. Описаны механизмы контроля трофобластом дифференцировки макрофагов в уникальную М2-популяцию децидуальных макрофагов, контролирующей как развитие и функционирование трофобласта, так и его апоптоз. В обзоре подробно рассматриваются известные на сегодняшний день варианты взаимодействия субпопуляций макрофагов с естественными киллерами. Влияние Mφ на НК-клетки проявляется в изменении экспрессии последними транскрипционных факторов, определяющих не только их дифференцировку, но и функциональную активность. Макрофаги рассма-

## Адрес для переписки:

Зементова Мария Сергеевна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»  
199034, Россия, Санкт-Петербург,  
Менделеевская линия, 3.  
Тел.: 8 (951) 650-25-28.  
E-mail: marizementova@mail.ru

## Address for correspondence:

Maria S. Zementova  
D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology  
3 Mendeleevskaya Line  
St. Petersburg  
199034 Russian Federation  
Phone: +7 (951) 650-25-28.  
E-mail: marizementova@mail.ru

## Образец цитирования:

А.С. Жгулева, М.С. Зементова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов «Макрофаги М1/М2: происхождение, фенотип, способы получения, взаимодействие с естественными киллерами и трофобластом» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 3. С. 425-448. doi: 10.15789/1563-0625-ММО-2877

© Жгулева А.С. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

A.S. Zhguleva, M.S. Zementova, S.A. Selkov, D.I. Sokolov “M1/M2 macrophages: origin, phenotype, methods of production, interaction with natural killer cells and trophoblast”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 3, pp. 425-448. doi: 10.15789/1563-0625-ММО-2877

© Zhguleva A.S. et al., 2024  
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-ММО-2877

триваются как клетки, активно влияющие на функциональное состояние и дифференцировку естественных киллеров. В обзоре рассматриваются механизмы взаимоотношений всех трех типов клеток: макрофагов, трофобласта и естественных киллеров в зоне маточно-плацентарного контакта. Изучение взаимодействий этих клеток прольет свет не только на особенности межклеточных взаимоотношений в зоне маточно-плацентарного контакта, но и на взаимоотношения клеток опухолей с НК-клетками и макрофагами.

*Ключевые слова:* макрофаг, моноцит, НК-клетки, трофобласт, беременность, плацента, раковые опухоли

## M1/M2 MACROPHAGES: ORIGIN, PHENOTYPE, METHODS OF PRODUCTION, INTERACTION WITH NATURAL KILLER CELLS AND TROPHOBLAST

Zhguleva A.S.<sup>a</sup>, Zementova M.S.<sup>a</sup>, Selkov S.A.<sup>a, b</sup>, Sokolov D.I.<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** This review presents current data on the origin of monocytes/macrophages, the conditions necessary for the differentiation of monocytes into M1 or M2 macrophages. Three subpopulations of peripheral blood monocytes are described: (I) classical – the main subpopulation (85-90%), effectively carrying out phagocytosis; (II) intermediate monocytes (5-10%) – participate in antigen processing and presentation, in angiogenesis, vascular endothelium restoration; (III) non-classical monocytes (10%) - "patrol" vascular network, remove cellular debris, participate in tissue remodeling. The review provides detailed characteristics for each subclass of macrophages: pro-inflammatory (M1) and anti-inflammatory (M2), which play different roles in the initiation and resolution of inflammation; their phenotype, the spectrum of secreted cytokines, the expression of transcription factors, and the functions performed are described. For the M2 population, the features of the subpopulation are described in detail: M2a, M2b, M2c, M2d. The review presents methods and approaches to obtaining polarized macrophages *in vitro* from both peripheral blood monocytes and cells of transplanted cultures based on signals received by macrophages *in vivo*; the phenotype, cytokine production and functional properties of artificially polarized macrophages depending on the conditions of their production are given. The review examines in detail the features of contact and distant interaction of macrophages of various subclasses with microenvironment cells on the example of natural killer cells and trophoblast cells, provides information on changes in the phenotype, transcriptional and secretory profile of interacting cells. The mechanisms of trophoblast control of macrophage differentiation into a unique M2 population of decidual macrophages controlling both the development and functioning of the trophoblast and its apoptosis are described. The review examines in detail the currently known variants of the interaction of macrophage subpopulations with natural killers. The influence of Mφ on NK cells manifests itself in a change in the expression of transcription factors by the latter, which determine not only their differentiation, but also their functional activity. Macrophages are considered as cells that actively influence the functional state and differentiation of natural killers. The review examines the mechanisms of the relationship of all three types of cells: macrophages, trophoblast and natural killers in the area of uteroplacental contact. The study of the interactions of these cells will shed light not only on the features of intercellular relationships in the area of uteroplacental contact, but also on the relationship of tumor cells with NK cells and macrophages.

*Keywords:* macrophage, monocyte, NK cells, trophoblast, pregnancy, placenta, cancerous tumors

Работа поддержана государственной программой поисковых научных исследований № 1022040700815-2-3.2.2;3.1.3-1-11 (FGWN-2023-0006).

### 1. Моноцитарно-макрофагальная система

#### 1.1. Происхождение моноцитов и макрофагов и их роль в организме

Моноциты (Мн) и макрофаги (Мφ) являются ключевыми компонентами врожденной иммун-

ной системы и играют важную роль как в регуляции возникновения, развития и разрешения воспаления в организме, так и в иммунорегуляции, регенерации, восстановлении тканей. Образование клеток моноцитарной линии ведется от гемопоэтических стволовых клеток (HSC) в красном костном мозге через несколько миелоидных предшественников и приводит к появлению Мн, циркулирующих в крови [40]. Клетки системы

моноклеарных фагоцитов [106] включают Мн, дендритные клетки, тканевые Мф, способные регулировать воспалительные реакции в организме.

У человека среди Мн периферической крови выделяют следующие субпопуляции, различающиеся по функции и экспрессии рецепторов CD14 и CD16 [51, 76]: 1) классические Мн (CD14<sup>++</sup>/CD16<sup>-</sup> или CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>-</sup>), основная субпопуляция (85-90%), экспрессируют рецепторы CD36, CD64, CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup>, эффективно осуществляют фагоцитоз, продуцируют IL-10 [45, 97]; 2) промежуточные Мн (CD14<sup>++</sup>/CD16<sup>+</sup> или CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup>), составляет 5-10% от всех Мн, характеризуются высокой экспрессией молекул CCR2<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup> [97], CCR5 и HLA-DR, участвуют в процессинге и презентации антигена, а также в ангиогенезе, восстановлении эндотелия сосудов [45, 116]; 3) неклассические Мн, составляют примерно 10% Мн, характеризуются высоким уровнем экспрессии CD16 при низком уровне CD14 [45, 116], экспрессируют CCR2<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup> [97], «патрулируют» сосудистую сеть, удаляют клеточный дебрис, могут рекрутироваться в невоспаленные ткани CX3CR1-зависимым образом [45, 116], участвуют в ремоделировании тканей, способствуют ангиогенезу благодаря секреции VEGF [51], экспрессируют TLR7/8 [116], HLA-DR, осуществляют презентацию антигенов [51]. Неклассические и промежуточные Мн продуцируют провоспалительные цитокины, такие как IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-12, а также активные формы кислорода (ROS) и оксид азота (NO) [51, 91]. Сравнительно недавно было обнаружено подмножество Мн с фенотипом (CD14<sup>++</sup>/CD56<sup>+</sup>) [48]. Они составляют небольшое (около 5%) количество от всех Мн крови у здоровых людей, однако их количество увеличивается с возрастом [105], а также при некоторых аутоиммунных заболеваниях (болезнь Крона, ревматоидный артрит) [48]. Обнаружено, что CD56<sup>+</sup> Мн преимущественно CD16<sup>-</sup> и, следовательно, принадлежат к субпопуляции классических Мн (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>) [48]. Сообщалось, что подмножество CD56<sup>+</sup> Мн продуцирует повышенные уровни цитокинов TNF $\alpha$ , IL-23, IL-10 в ответ на стимуляцию LPS и имеет более высокую спонтанную продукцию ROS в сравнении с CD56<sup>-</sup> классическими Мн [48].

Конечной стадией дифференцировки клеток моноцитарного ряда являются моноклеарные фагоциты – макрофаги, которые находятся вне сосудистого русла, мигрируя в ткани: кишечника, селезенки, альвеол легких, матки. Миграция моноцитов из кровотока в ткани обычно наблюдается при инфекциях [33], аутоиммунных заболеваниях [13], других физиологических состояниях. Также установлена возможность конечной дифференцировки Мн в дендритные клетки [97].

Макрофаги обладают уникальными способностями уничтожать патогенные микроорганизмы или восстанавливать повреждения, связанные с воспалением в организме [92]. Они модулируют воспалительные процессы от распознавания и уничтожения патогенов до окончательной стадии фагоцитоза апоптотических тел и заживления ран. В местах повреждения Мн и Мф могут также стимулировать ангиогенез, фиброгенез, секретировать факторы роста, которые направляют дифференцировку и пролиферацию клеток-предшественников, высвобождают медиаторы воспаления, которые рекрутируют другие иммунные клетки [73]. Свойство Мф менять фенотип при воздействии сигналов тканевого микроокружения позволяет регулировать иммунный ответ и воспалительные процессы. Таким образом, во время заболевания или повреждения тканей в организме гетерогенные популяции Мн рекрутируются из кровотока, где они могут временно пребывать в виде Мн или дифференцироваться в Мф, варьирующие по фенотипу от M1-типа до M2-типа [26, 73, 117].

#### 1.2. Парадигма M1/M2 поляризации Мф

В соответствии с традиционной парадигмой Мф подразделяются на провоспалительные (M1), неактивированные (M0) и противовоспалительные (M2) субпопуляции, которые играют разные роли в инициации и разрешении воспаления [122]. Неактивированные («наивные», интактные) M0 макрофаги при различных условиях поляризуются, превращаясь либо в макрофаги M1, либо в макрофаги M2 [64]. Активированные Мф разделяют на два фенотипа: M1 (классические, провоспалительного типа) и M2 (альтернативные, противовоспалительного типа). Поляризация Мф происходит под контролем различных программ активации метаболизма аргинина в клетках. Основное различие в метаболизме между субпопуляциями состоит в том, что у клеток M1 метаболизм L-аргинина определяет способность генерировать «атакующую» молекулу NO, способствующую резобции патогенов; у макрофагов M2 метаболизм L-аргинина направлен на трансформацию в «восстановленную» молекулу орнитин [75], которая затем используется для синтеза пролина, коллагена, пролиферации клеток, стимуляции фиброза. Факторы, определяющие, какой путь активации будет являться доминирующим, основаны на окружающих сигналах, которым подвергаются Мф, и доступном пуле аргинина [136]. Макрофаги M1 и M2 имеют разные функции и профили транскрипции [92]. Фенотип и функциональная поляризация Мф регулируются множеством факторов. У активированных макрофагов M1 и M2 появляются специфические маркеры в результате приобретения ими того или другого фенотипа под контролем активации внутриклеточных сигналов. Это активаторы транс-

крипции, адаптерные и сигнальные молекулы, которые влияют на поляризацию Мф: преобразователи сигналов и активаторы транскрипции (STAT), регуляторные факторы интерферонов (IRF), ядерный фактор-каппа В (NF-κB), рецепторы, регулируемые пролифератором пероксисом (PPAR), факторы, индуцируемые гипоксией (HIF) и другие. Они взаимодействуют друг с другом, регулируют фенотип Мф [56]. Поляризация Мф в М1-фенотип регулируется активацией внутриклеточных сигналов NF-κB, STAT1/2, STAT5, HIF-1α, IRF3, IRF5 [3, 125]. В поляризации к М2-фенотипу задействованы STAT3, STAT6, HIF-2α, IRF4, PPAR, PPARγ, PI3K, SMAD3 и другие [3, 105, 125]. Внутри классически и альтернативно активированных Мф также выделяют субпопуляции, обладающие уникальным фенотипом, секрецией цитокинов и функциями (табл. 1).

### 1.3. Макрофаги М1

Активация Мф LPS и/или цитокинами Th1 (включая IFNγ и TNFα) [122], либо GM-CSF приводит к М1-поляризации – классическая активация Мф [6, 17, 52, 126]. М1-макрофаги являются провоспалительными, поскольку они играют весомую роль в уничтожении бактерий и инициируют воспаление. Они уничтожают патогенные микроорганизмы, высвобождая активные формы кислорода и азота. При активации рецептора CD14 значительно усиливается секреция TNFα, IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23; циклооксигеназы-2 (Cox-2) [4, 47], способствующих воспалению. М1-макрофаги также осуществляют противоопухолевую функцию [118]. В соответствии с воздействием воспалительных стимулов выделяют три подтипа Мф с провоспалительным М1-подобным фенотипом [75].

Первый подтип – М1, активируемый IFNγ, играет важную роль в активации Th1-ответа, характеризуется высокой антигенпрезентирующей и бактерицидной активностью [52]. IFNγ через путь JAK1/2-STAT1 индуцирует высокий уровень экспрессии молекул локуса MHC II, индуцибельной оксидазы азота (iNOS), хемокинов CXCL9 и CXCL12 (аттрактанты для Th1), противовирусных факторов у Мф фенотипа М1 [15, 52, 56]. Эти Мф обладают усиленной продукцией активных форм кислорода и азота [14].

Второй подтип – М1, индуцируемый LPS или другими патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP), которые вызывают активацию NF-κB и связанную с ним экспрессию генов провоспалительных цитокинов, стимулируя устойчивую секрецию IL-1, IL-2, IL-3, IL-5, IL-8, IL-6, цитокинов семейства IL-12, Cox-2, CCL5, NO, TNFα<sup>high</sup>, а также IL-10<sup>low</sup> [6, 17].

Третий подтип – М1, стимулированный GM-CSF. При стимуляции рецептора к GM-CSF происходит индукция IRF5 [52]. Действие GM-CSF усиливает антигенпредставляющую функцию,

фагоцитоз, антимикробную активность и выработку провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6, IL-8, TNFα) и факторов роста (M-CSF, GM-CSF) в активированных Мф [75]. М1-активация макрофагов индуцируется также при гипоксии, которая может быть связана как с бактериальными инфекциями [75], так и с начальными этапами формирования плаценты [58]. В условиях гипоксии стабилизируется функция транскрипционного фактора HIF-1α, который активирует экспрессию NF-κB-связанных генов и продукцию провоспалительных медиаторов [124].

Фенотипически Мф М1 характеризуются высокой экспрессией MHC II (HLA-DR), CD80 и CD86, CD64, CD32, iNOS [69]. Кроме этого, М1 отличаются экспрессией TLR4 и TLR2, секрецией IFNγ и TNFα, а также CXCL9, CXCL10. Эти цитокины вызывают дальнейшую поляризацию М1 посредством положительной обратной связи [125].

Классически активированные Мф, таким образом, связаны с повышенной бактерицидной активностью в местах воспаления и эффективной антигенпрезентирующей функцией; они активируются при вирусных, бактериальных инфекциях или повреждениях тканей.

### 1.4. Макрофаги М2

Макрофаги М2 секретируют противовоспалительные цитокины (IL-12<sup>low</sup>IL-10<sup>high</sup>TGF-β) [64], способствуя подавлению воспаления, направляют иммунный ответ в сторону Th2 или регуляторного IL-10-ассоциированного иммунитета. Функционально М2-макрофаги способствуют ремоделированию тканей сильной способностью к фагоцитозу, индуцируют фиброз, ангиогенез, васкулогенез, способствуют опухолевой прогрессии [114]. Все это возможно благодаря широкому спектру секретируемых ими функциональных молекул: цитокинов, факторов роста, компонентов внеклеточного матрикса (табл. 1).

Активируются М2 Мф при воздействии широкого спектра стимулов: цитокинов Th2, G-CSF, гормонов, в микроокружении опухолей или паразитарных инвазий. Специфические факторы могут вызывать дифференцировку Мф как минимум на четыре подтипа М2-подобных Мф [9, 114]: М2а, М2б, М2с и М2д, – каждый из которых продуцирует альтернативные репертуары цитокинов (табл. 1).

Благодаря такому разнообразию подтипов, альтернативно активированные Мф выполняют широкий спектр функций в тканях. Так, макрофаги М2а являются противовоспалительными, истинно противоположными М1 – играют важную роль в Th-2-ответе и восстановлении тканей путем секреции TGF-β, фибронектина, секретируют IL-10<sup>high</sup> [133]. Макрофаги М2б осуществляют регуляцию иммунного ответа за счет

**ТАБЛИЦА 1. РАЗЛИЧИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ СУБПОПУЛЯЦИЙ МАКРОФАГОВ M1 И M2 [11, 13, 15, 31, 42, 50, 70, 78, 90, 92, 124, 132, 133]**

TABLE 1. DIFFERENCES IN BIOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF M1 AND M2 MACROPHAGE SUBPOPULATIONS [11, 13, 15, 31, 42, 50, 70, 78, 90, 92, 124, 132, 133]

Популяция Population	Активаторы Activators	Фенотип Phenotype	Секретируемые цитокины Secreted cytokines	Функции Functions
<b>M1</b>	LPS, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF	CD80, CD86, CD68, CD16, CD32, CD64, IL-1R, TLR2, TLR4, IL-12, CCR7 <sup>high</sup> , CCR11, CCR17, CCR22, HLA-DR	TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 <sup>high</sup> , IL-15, IL-16, IL-18, IL-23 <sup>high</sup> , IL-27, IL-10 <sup>low</sup> , INF $\gamma$ , MIP-3a, MCP-1, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL16, CCL5, NO, ROS, CCL2, CCL3, CCL4	<b>Провоспалительный ответ, антимикробная защита, противоопухолевая активность, содействие имплантации эмбриона</b> Pro-inflammatory response, antimicrobial protection, antitumor activity, promotion of embryo implantation
<b>M2a</b>	<b>IL-4, IL-13, IL-33, G-CSF, грибковые и паразитарные инфекции</b> IL-4, IL-13, IL-33, G-CSF, fungal and parasitic infections	CD206, IL-1ra, CD163, CD209 (DC-SIGN), Dectin-1 <sup>high</sup> , CD86 <sup>low</sup> , CD14 <sup>low-medium</sup> , IL-1R	IL-10 <sup>high</sup> , TGF- $\beta$ , CCL14, CCL17, CCL18, CCL22, CCL23, CCL24, CCL26, CCL13, fibronectin, TNF $\alpha$ <sup>low</sup> , IL-1ra, IGF, EPGF, IL-4	<b>Противовоспалительное действие, активация Th2-ответа, фагоцитоз, аллергические реакции, восстановление, ремоделирование тканей</b> Anti-inflammatory effect, activation of Th2-response, phagocytosis, allergic reactions, restoration, tissue remodeling
<b>M2b</b>	<b>Иммунные комплексы, лиганды TLR, агонисты IL-1<math>\beta</math></b> Immune complexes, TLR ligands, IL-1 $\beta$ agonists	CD86, CD206, HLA-DR, CD163 <sup>low</sup> , CD14 <sup>medium</sup>	TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, IL-10 <sup>high</sup> , CCL1, IL-12 <sup>low</sup> , IL-10, SPHK1, LIGHT, IL-1	<b>Иммунорегуляция, Th2-ответ, презентация антигенов</b> Immunoregulation, Th2 response, presentation of antigens
<b>M2c</b>	<b>IL-10, TGF-<math>\beta</math>, глюкокортикоиды</b> IL-10, TGF- $\beta$ , glucocorticoids	TLR1, TLR8, CD150, CD163 <sup>high</sup> , CD14 <sup>medium</sup> , CD206 <sup>low-medium</sup> , CD86 <sup>medium</sup> , MerTK <sup>medium-high</sup> , CD16	<b>IL-10, TGF-<math>\beta</math>, CCL16, CCL18, CXCL13, компоненты ВКМ, CCL13</b> IL-10, TGF- $\beta$ , CCL16, CCL18, CXCL13, components of ICM, CCL13	<b>Фагоцитоз, иммуносупрессия, ремоделирование тканей, перестройка ВКМ</b> Phagocytosis, immunosuppression, tissue remodeling, ICM restructuring
<b>M2d</b>	<b>Лиганды TLR + агонисты рецептора аденозина</b> TLR ligands + adenosine receptor agonists (A <sub>2A</sub> R), IL-6, LIF	CD163, CD68, CD206, CD86 <sup>low</sup> , CD14 <sup>high</sup>	IL-10 <sup>high</sup> , VEGF, TGF- $\beta$ , CCL5 (RANTES), CXCL10, CXCL16, IL-12 <sup>low</sup> , TNF $\alpha$ <sup>low</sup> , MMPs	<b>Ангиогенез, опухолевая прогрессия, перестройка ВКМ</b> Angiogenesis, tumor progression, ICM restructuring

своей способности секретировать как провоспалительные цитокины (IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF $\alpha$ ), так и регуляторный цитокин IL-10, участвуют в гуморальном иммунном ответе, презентации антигена и аллергических реакциях [3, 132]. Макрофаги M2c эффективно осуществляют фагоцитоз

апоптотических тел, ремоделирование тканей, на повышенном уровне секретирова TGF- $\beta$  и IL-10, а также компоненты внеклеточного матрикса [133]. Наконец, макрофаги M2d – это M $\phi$ , ассоциированные с опухолью (tumor associated macrophages – TAM). Секреторными маркерами

этого подтипа являются повышенные количества IL-10, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), но низкие количества IL-12 [3], что обуславливает ангиогенез вблизи опухоли, метастазирование. Поляризованные TAM обладают иммуносупрессивными функциями, низкой антигенпрезентирующей способностью, продуцируют MMP и факторы роста, стимулирующих ангиогенез [44].

Таким образом, дифференцировка Мн в Мφ зависит от сигналов клеток микроокружения. Фенотип и состояние активации зрелых популяций Мφ определяются сигналами, встречающимися в процессе дифференцировки, которые включают факторы роста, RAMP, опухолевые продукты, внеклеточный матрикс и другие. Воздействовать на клетки предшественников Мφ можно *in vitro* с помощью определенных поляризационных стимулов и получать субпопуляции активированных Мφ, воспроизводящих тот или иной фенотип для изучения межклеточных взаимодействий.

## 2. Методы и подходы к получению поляризованных макрофагов *in vitro*

Существует несколько методов получения Мφ для исследования *in vitro*. Часто в таких моделях используют первичные мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС) и клеточные линии Мн различной степени дифференцировки [23]. Для изучения поляризации Мφ широко применяют модели *in vitro* с использованием клеточных линий, происходящих из раковых клеток [19]. С помощью таких моделей удастся изучать фенотипы, функции, сигнальные пути и воздействие различных веществ на клетки. Одной из таких моделей являются клетки линии ТНР-1, представляющие собой лейкоэмическую клеточную линию с моноцитарными характеристиками по экспрессии поверхностных рецепторов, секреторных продуктов, фагоцитозу; линия получена из крови мальчика, больного острым моноцитарным лейкозом в 1980 году Tsuchiya и соавт. [103]. Клетки линии ТНР-1 воспроизводят характеристики Мн, по многочисленным критериям, таким как морфология, секреторные продукты, экспрессия онкогенов, экспрессия мембранных антигенов и экспрессия генов участвующих в липидном обмене [10].

В условиях *in vitro* при добавлении поляризационных сигналов можно получить М1- и М2-макрофаги через интактные М0. Клетки линии ТНР-1 имеют свойство прикрепляться к культуральному пластику после добавления к культуре форбол-12-миристан-13-ацетата (РМА). Неоднократно было показано, что РМА является эффективным агентом дифференцировки для Мн [10, 23, 32], и его можно использовать в качестве надежной модели *in vitro*. Под действием РМА клетки экспрессируют маркеры Мφ, такие как CD68, CD71, CD14 [34]. Макрофаги, полученные из клеток линии ТНР-1, сходны с Мφ, про-

исходящими из моноцитов периферической крови [23]. Дифференцированные в модели с РМА Мφ характеризуются увеличением цитоплазмы и цитоплазматических органелл (митохондрии и лизосомы), устойчивостью к апоптозу, чувствительностью к лигандам TLR2 и представляют собой аналог тканевых Мφ *in vitro* [23]. У клеток РМА-индуцированных Мн активируются рецепторы адгезии, что позволяет им прилипать к культуральному пластику и приобретать характерную морфологию, представленную распластанной формой цитоплазмы, повышенной зернистостью и неправильной формой ядра [32].

Из РМА-индуцированных Мφ можно получать классически и альтернативно активированные Мφ. Поляризованные *in vitro* Мφ могут использоваться в дальнейших исследованиях. Несомненно, что поляризация Мφ является жестко контролируемым процессом, затрагивающим посттранскрипционные, эпигенетические и метаболические механизмы с вовлечением внутриклеточных сигнальных путей [2]. Что касается поляризационных стимулов, IFN $\gamma$  и LPS широко используются для индукции поляризации макрофагов в М1-фенотип *in vitro*. IFN $\gamma$  активирует путь JAK-STAT1 в Мφ. LPS специфически активирует TLR4, который может влиять на активацию NF- $\kappa$ B через адаптерные белки MyD88 либо TRIF, участвуя как в немедленной (первичной), так и в отсроченной (вторичной) активации экспрессии LPS-зависимых таргетных генов. За счет IRF3-STAT1 пути LPS поддерживает активацию STAT1 в макрофагах М1 и секрецию провоспалительных цитокинов [83]. Таким образом, клетки, стимулированные LPS, накапливают сильный потенциал в качестве вторичного провоспалительного ответа. Повышенная активность STAT1 способствует поляризации М1 с образованием NO и секрецией провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-23 и TNF $\alpha$ . Кроме того, при стимуляции LPS в Мφ активируются пути NF- $\kappa$ B и MAPK [53].

Альтернативная активация макрофагов *in vitro* может быть достигнута как ответ на воздействие Th2-родственных цитокинов: IL-4, IL-10, IL-13, IL-33 и/или TGF- $\beta$  [136], M-CSF. Как IL-4, так и IL-13 активируют путь JAK-STAT, приводя к активации STAT6, который приводит к экспрессии маркеров макрофагов М2 [136]. При стимуляции TGF- $\beta$  пути PI3K/AKT, Smad2/3, NF- $\kappa$ B и MAPK были активированы в макрофагах, полученных из ТНР-1 [128]. Было показано, что применение других цитокинов (IL-10, IL-6, IL-33) индуцирует JAK-STAT3-зависимые сигнальные пути [2, 27].

Еще одним подходом к получению *in vitro* М2-Мφ является совместное культивирование Мн или интактных Мφ с некоторыми культурами опухолевых клеток. Поляризация Мφ в такой модели достигается воздействием на них растворимых

факторов, секретируемых опухолью. В результате Мф приобретают M2-подобный фенотип, характерный для TAM. Например, в исследовании Kamoshida и соавт. (2012) наблюдалась поляризация клеток Мн, культивируемых совместно с клеточными линиями A-172 (glioblastoma) и MKN-1 (human gastric adenocarcinoma cell line) в опухольассоциированные Мф. Моноциты, культивируемые в такой модели, становились распластанными и адгезивными, продуцировали MMP-9 [44].

В модели совместного культивирования M0-Мф с клетками трофобласта установлена индукция альтернативной M2-поляризации. Совместное культивирование клеток линии HTR-8/SVneo (клетки инвазивного трофобласта 1-го триместра) с M0-макрофагами, полученными из ТНР-1 значительно увеличивало экспрессию маркеров M2-поляризации CD206, IL-10, CCL18, TGF- $\beta$  у последних [27]. Более того, была доказана ключевая роль растворимых факторов, прежде всего IL-6, секретируемого трофобластом, в приобретении Мф *in vitro* M2-фенотипа, что схоже с результатами исследований сокультивирования Мн с культурами раковых клеток [27].

Установлено, что после взаимодействия выделенных из периферической крови Мн и клеток линии Swan-71 (клетки трофобласта 7-й недели беременности) у первых происходила индукция регуляторного фенотипа CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup>, сопровождавшаяся увеличением синтеза IL-10, но не IL-12, а также снижением продукции IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  [36].

Индукция поляризации Мф под действием трофобласта показана также в модели как с ТНР-1-полученными Мф, так и с Мф, полученными из периферической крови. Исследователи продемонстрировали, что под действием растворимых факторов трофобласта первого триместра беременности Мн становятся адгезивными с выраженными псевдоподиями; подобно TAM они экспрессируют TGF- $\beta$ , MMP-9, CD14, CD163. Однако, в отличие от TAM и периферических Мн, децидуальные Мф, образованные в присутствии трофобласта, не продуцируют VEGF и RANTES [7] (табл. 2).

В целом можно отметить, что макрофаги в условиях *in vitro* выглядят как прикрепившиеся клетки с типичной морфологией: выступающим ядром с плоско распостертой цитоплазмой и множественными псевдоподиями. При получении Мф *in vitro* индукция Мн с использованием LPS/IFN $\gamma$  приводит к образованию M1-дифференцированных Мф с фенотипом CD64<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup>, а при воздействии на Мн IL-4/IL-13 образуются M2-дифференцированные Мф с фенотипом CD11b<sup>+</sup>CD209<sup>+</sup>CD80<sup>-</sup> [2]. Полученные таким образом Мф воспроизводят фенотип активированных Мф, которые могут присутство-

вать при различных патологических и физиологических процессах в организме, например Мф децидуальной оболочки при беременности.

### 3. Децидуальные макрофаги (dMф)

#### 3.1. Происхождение и развитие dMф и их роль при беременности

Макрофаги являются второй по численности популяцией лейкоцитов, присутствующих в децидуальной оболочке, и при наступлении беременности этим клеткам необходимо осуществлять важные функции. С одной стороны, нужно противостоять инфекциям, оберегать от них полуаллогенный, но непрерывно развивающийся в течение 9 месяцев плод, а с другой – контролировать интенсивность воспалительных процессов, способных индуцировать преждевременное прерывание беременности [121]. В период беременности иммунные клетки эмбрионального и материнского организмов взаимодействуют, чтобы обеспечить адекватную защиту в случае инфекции и поддерживать оптимальную среду для развития плода [74].

В материнском организме Мн периферической крови рекрутируются в матку и формируют пул децидуальных Мф. Количество dMф может меняться на протяжении менструального цикла, их количество растет с момента имплантации эмбриона в эндометрий матки [39]. Полагают, что пул тканевых децидуальных Мф пополняется за счет миграции Мн из периферической крови. Стромальные клетки децидуальной оболочки и трофобласт активно синтезируют хемокины, привлекающие Мн в децидуальную оболочку, эндометрий и миометрий. Количество Мф увеличивается в секреторной фазе цикла и сохраняется на ранних сроках беременности [107]. Процесс миграции Мн в децидуальную оболочку матки находится под контролем нескольких факторов, а именно: MCP-1 (CCL2), MIP-1 $\alpha$  (CCL3), MIP-1 $\beta$ , MCP-3 (CCL7), LCC-1 (CCL16), CXCL10, MIP-2 $\gamma$  (CXCL14), RANTES (CCL5), M-CSF и fractalkine (CX3CL1) [4].

Децидуальные лейкоциты на протяжении всего гестационного процесса включают как M1-подобные, так и M2-подобные Мф. Однако соотношение между субпопуляциями активированных Мф не константно и меняется на протяжении беременности; это соотношение должно быть контролируемо, а дисбаланс между M1 и M2 может приводить к патологиям беременности [136]. Так, например, смещение баланса активированных Мф при беременности в сторону M1 обуславливает высокий уровень провоспалительных цитокинов и низкий уровень противовоспалительных цитокинов в плаценте при преэклампсии; кроме того, отмечено смещение в сторону CD68<sup>+</sup> M1-макрофагов при самопроизвольных абортах или привычном невынашивании [3], преждевременных родах [46], задержке

**ТАБЛИЦА 2. РАЗЛИЧИЯ В ПРОФИЛЕ ЦИТОКИНОВ МЕЖДУ ПЕРИФЕРИЧЕСКИМИ Мн ПО СРАВНЕНИЮ С Мф, ПОЛЯРИЗОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ ТРОФОБЛАСТОМ [7]**

TABLE 2. DIFFERENCES IN CYTOKINE PROFILE BETWEEN PERIPHERAL MN COMPARED TO Mφ, POLARIZED BY TROPHOBLAST CELLS [7]

Цитокины Cytokines	Продукция моноцитами в периферической крови Production of monocytes in peripheral blood	Продукция макрофагами, индуцированными трофобластом в децидуальной оболочке Production by macrophages induced by trophoblast in the decidual membrane
IL-1β	низкая low	высокая high
IL-10	низкая low	высокая high
IL-8	низкая low	высокая high
IL-6	низкая low	высокая high
GROα	низкая low	высокая high
CXCL10	низкая low	высокая high
G-CSF	низкая low	низкая low
VEGF	высокая high	отсутствует no
RANTES	высокая high	отсутствует no

роста плода [12], а также бесплодии, вызванном эндометриозом [18].

Пространственно-временное соотношение M1- и M2-активированных dMφ меняется на протяжении беременности (рис. 1). Во время различных этапов беременности Mφ претерпевают динамические изменения, преимущественно демонстрируя фенотип M1 или M2 [136]. В преимплантационном периоде поляризация Mφ децидуальной оболочки смещена в сторону M1, индуцируя провоспалительные реакции и способствуя прикреплению эмбриона к децидуальной оболочке. Блостоциста в момент имплантации должна прорвать эпителиальную выстилку матки, после чего происходит инвазия в эндометрий с последующим замещением трофобластом эндотелия и гладких мышц кровеносных сосудов матери для обеспечения адекватного кровоснабжения [66]. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов (IL-12, IL-6, IL-8, IFNγ, IL-1β, TNFα), NO в матке характеризует раннюю имплантацию [25, 66, 136]. Далее, в период формирования плаценты по мере проникновения трофобласта в строму матки, когда децидуальная оболочка обогащается кровеносными сосудами и похожа на «открытую рану» [66], картина

поляризации dMφ начинает представлять собой смешанную популяцию M1/M2. Поскольку M2-макрофаги способствуют ремоделированию тканей, dMφ в этот период участвуют в инвазии трофобласта и ремоделировании спиральных артерий. Они инфильтрируют спиральные артерии, участвуют в ангиогенезе при имплантации и развитии плаценты за счет фагоцитарной активности, продукции MMP, фибронектина, PIGF, EGF, FGF4, ангиопоэтинов, при сохранении продукции провоспалительных цитокинов [1, 30]. Таким образом, dMφ могут играть важную роль на самых ранних стадиях развития плаценты, в то же время предотвращая чрезмерную инвазию клеток трофобласта. В течение первого и до ранней фазы второго триместра dMφ представляют собой смешанную популяцию M1/M2 или, возможно, смесь подтипов M2, что поддерживает толерантность и предотвращает отторжение эмбриона. На этом этапе dMφ активно вырабатывают IL-10, VEGF, фагоцитируют апоптотические тела, осуществляют регуляторные функции в отношении клеток микроокружения. После завершения развития плаценты продукция прогестерона способствует смещению в сторону преимущественно противовоспалительной среды. В этот период в

матке устанавливается поддерживающая преобладающими M2-Мф среда, благодаря повышенной продукции противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF-β, что предотвращает отторжение плода и обеспечивает его развитие вплоть до родов (рис. 1) [16, 136].

Макрофаги M1 вновь становятся преобладающей субпопуляцией в период родов [42, 131]. Физиологические роды – это контролируемый воспалительный процесс, характеризующийся повышенной продукцией IL-1β, IL-6, TNFα, IFNγ и IL-8, а также миграцией лейкоцитов в шейку матки, плодные оболочки, децидуальную оболочку и миометрий [16], содержание ранее преобладавших IL-10 и TGF-β снижается (рис. 1). M1-макрофаги начинают проникать в децидуальную оболочку за несколько дней перед родами, что, как и в первом триместре, совпадает с увеличением выработки хемокинов CCL2 (MCP-1), CCL4 (MIP-1β), CCL5, CXCL8 (IL-8) и CXCL10. Привлеченные макрофаги M1 способствуют сокращению матки, инициации родов, отхождению плаценты и involуции матки [136].

Таким образом, макрофаги M1 являются преобладающим типом как во время имплантации и ранней беременности, так и во время физиологических родов. Макрофаги M2 главенствуют в течение второго и начале третьего триметра и, соответственно, способствуют поддержанию противовоспалительной среды в децидуальной оболочке и сохранению беременности. Каждая

из субпопуляций dMф важна в течение беременности, так как их функциональные особенности поддерживают маточно-плацентарный гомеостаз.

### 3.2. Факторы, влияющие на Mф эндометрия при беременности и их особенности

Децидуализация эндометрия матки контролируется эндокринными сигналами. Стероидные гормоны регулируют количество и фенотип иммунных клеток матки, влияя на локальный синтез цитокинов и хемокинов [107]. Гормональные сигналы, следовательно, важны с точки зрения развития и поддержания подходящей среды для развивающегося плода, формирования толерантности матери к полуаллогенному плоду. Физиологическая беременность требует строгой временной регуляции функций материнской иммунной и эндокринной систем для подготовки к имплантации и развитию полуаллогенного плода [79]. Эстрадиол, прогестерон и хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) являются тремя основными гормонами во время беременности. Последний, секретируемый синцитиотрофобластом плаценты, вызывает выработку прогестерона желтым телом. Прогестерон секретируется желтым телом во время секреторной стадии менструального цикла и на раннем сроке беременности, а затем главным источником прогестерона становится плацента [136]. Установлено, что прогестерон может опосредованно влиять на увеличение притока Mф и естественных киллеров

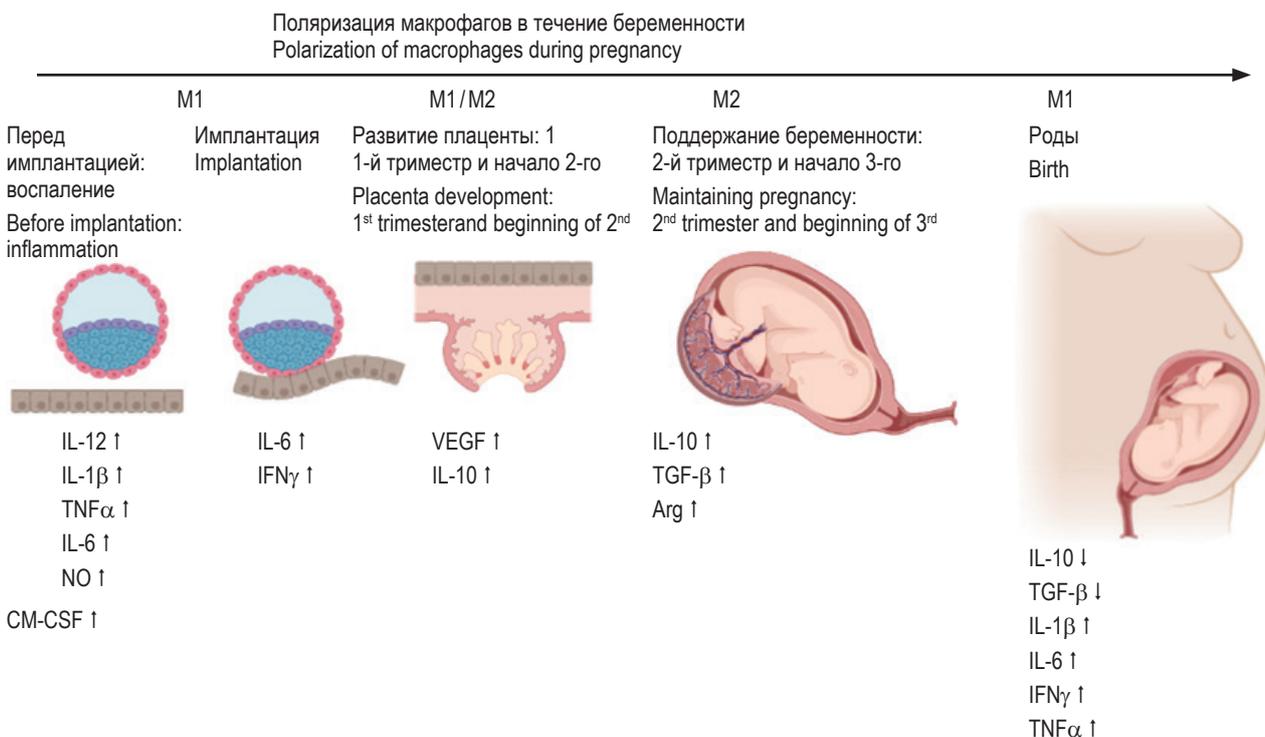


Рисунок 1. Динамика поляризации M1/M2 Мф на протяжении беременности. Модифицировано из [136]

Figure 1. Dynamics of M1/M2 Mφ polarization during pregnancy. Modified from [136]

(NK-клеток) в место имплантации, модулирует иммунный ответ матери, чтобы предотвратить отторжение эмбриона [24]. Кроме того, имеются сведения, что добавление дигидрогестерона или прогестерона к культуре мононуклеаров периферической крови приводило к значительному снижению продукции цитокинов  $IFN\gamma$  и  $TNF\alpha$  [86], поддерживая противовоспалительный профиль. Эстрогены – еще одна группа гормонов, регулирующих физиологическую деятельность женской репродуктивной системы. Макрофаги, дендритные клетки экспрессируют рецепторы к эстрогену ( $ER\alpha$  и  $ER\beta$ ), что свидетельствует о прямом действии этого гормона на фенотип и функции иммунных клеток [108, 136]. Эстроген, прогестерон, глюкокортикоидные гормоны могут ингибировать секрецию NF- $\kappa$ B-индуцирующих провоспалительных цитокинов и активность Cox-2 [88]. В дополнение к этому установлено, что эстрогены участвуют в качестве положительного регулятора альтернативной M2-поляризации, но доподлинно неизвестно, характерно ли это для децидуальной оболочки [108].

На протяжении беременности в течение длительного времени M $\phi$  воспроизводят M2-подобный и, вместе с тем, особый функциональный фенотип ( $CD14^{high}CD163^{high}CD206^{high}CD209^{high}IL-10^{high}TNF\alpha^{low}$ ), секретируют IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, CXCL-10, GRO $\alpha$ , IDO [100], G-CSF и CCL4 [92, 132]. Благодаря CD206, CD209 и CD163 dM $\phi$  способны распознавать потенциально опасны патогены, а благодаря высокому уровню продукции IL-10, GRO $\alpha$  и IDO они стимулируют пролиферацию и подавляют апоптоз клеток трофобласта [39]. Более того, исследователями была отмечена роль секретируемого макрофагами G-CSF в поддержании инвазии, миграции трофобласта посредством активации пути PI3K/Akt/Erk1/2, что поддерживает развивающуюся беременность [28]. Кроме того, IL-10, продуцируемый dM $\phi$ , способствует созданию иммуносупрессивной среды [78]. В дополнение, колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF) и IL-10 рассматриваются как весомые индукторы экспрессии маркеров M2, таких как CD14, CD163, CD206 и CD209, на dM $\phi$  [92]. Подобно TAM, которые способствуют росту и развитию опухоли, dM $\phi$  способствуют росту и развитию плаценты [29].

Таким образом, dM $\phi$  в большинстве своем представляют M2-подобный, но особенный функциональный фенотип. Взаимодействуя с окружающими клетками децидуальной оболочки, они играют важную роль в поддержании микроокружения, способствующего иммунологической толерантности в системе мать-плод [84].

### 3.3. Взаимодействие dM $\phi$ и трофобласта

Имплантации и физиологическое течение беременности сопровождается контролируемым

состоянием иммунной системы с преобладанием Th2/Th17-типа иммунного ответа [111]. В такой среде, где децидуальные M $\phi$  контролируют воспалительные процессы, плод развивается физиологически даже в присутствии цитотоксических T-лимфоцитов и естественных киллеров, привлекаемых в плаценту и выделяющих немалый спектр различных цитокинов [35, 78, 127].

Клетки трофобласта продуцируют хемокины и цитокины, стимулируя как привлечение M $\phi$  в децидуальную оболочку, так и активацию M $\phi$  и приобретение ими M2 фенотипа, поддерживающего иммунологическую толерантность. Это происходит путем секреции трофобластом IL-6 и активации в макрофагах M0 сигнального пути IL-6/JAK-STAT3, а поляризованные M2-подобные dM $\phi$ , у которых повышается секреция CCL18, IL-10, TGF- $\beta$ , в свою очередь в режиме обратной связи стимулируют процессы инвазии и миграции трофобласта (рис. 2) [27].

Кроме того, на ранних сроках беременности (7-9-я неделя) клетки трофобласта продуцируют большое количество хемокина CXCL16, что играет важную роль в привлечении M $\phi$  и индукции M2 поляризации M $\phi$  [114]; CXCL16 также аутокринно стимулирует пролиферацию и инвазию трофобласта в первом триместре [134]. Дополнительные факторы, присутствующие в децидуальной оболочке, которые влияют на поляризацию привлекаемых в нее M $\phi$ , также способствуют иммунологической толерантности [27]. Например, продуцируемые трофобластом факторы, такие как VEGF, TGF- $\beta$ , растворимый HLA-G5, растворимый PD-L1 [135], направляют поляризацию M $\phi$  в сторону M2-подобного фенотипа с более высокой фагоцитарной активностью и повышенной экспрессией IDO, что подавляет экспрессию  $IFN\gamma$  в T-клетках и способствует инвазии и миграции трофобласта [115]. Сообщалось, что клетки трофобласта увеличивают также и миграцию M $\phi$ , индуцируют значительное увеличение секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, GRO $\alpha$ , CXCL10 [7, 66].

Клетки трофобласта таким образом могут регулировать иммунное микроокружение в децидуальной оболочке и способствовать дифференцировке клеток иммунной системы в фенотип, оказывающий благотворное влияние на развитие трофобласта. В этом взаимодействии можно выделить три важных процесса: 1) привлечение: клетки трофобласта выделяют хемокины, привлекают M $\phi$  в децидуальную оболочку; 2) обучение: клетки трофобласта продуцируют регуляторные цитокины, которые модулируют процесс поляризации децидуальных клеток; и 3) ответ: M $\phi$ , поляризованные («обученные») клетками трофобласта, обеспечивают как его развитие и функционирование, так и апоптоз, обеспечивая защиту

от чрезмерной инвазии [68]. Таким образом, свой уникальный функциональный фенотип децидуальные Мф приобретают путем взаимодействия с клетками трофобласта, который поддерживает их M2-подобную поляризацию. Приобретая такой фенотип, децидуальные Мф, помимо экспрессии генов цитокинов, характерных для M2, также выделяют провоспалительные цитокины. Децидуальные Мф, активируемые цитокинами и другими факторами, вырабатываемыми стромальными клетками матки, естественными киллерами и трофобластом, окружают спиральные артерии децидуальной оболочки и выделяют широкий спектр цитокинов, включая IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13 и TNF $\alpha$ , которые приводят к поддержанию воспалительной реакции и стимуляции активации NK-клеток [99]. Важной функцией dMф является секреция матриксных протеиназ, что обуславливает перестройку внеклеточного матрикса и фагоцитоз апоптотических тел при формировании гладкомышечных сосудов (vascular smooth muscle cells – VSMC) и трофобласта [96]. Хотя сообщалось, что дифференцированные из M0 Мф в присутствии трофобласта Мф напрямую не влияют на миграцию и апоптоз VSMC, перестройка внеклеточного матрикса облегчает процесс формирования спиральных артерий, а фагоцитоз апоптотических тел уменьшает высвобождение ассоциированных с повреждениями молекулярных паттернов (DAMP), что наряду с секрецией IL-10 сдержи-

вает чрезмерную воспалительную реакцию, которая может нарушать процесс ремоделирования сосудов [96]. Формирующийся под влиянием трофобласта фенотип децидуальных Мф поддерживает иммунологическую толерантность к плоду, участвует в рекрутировании и модулировании функций других клеток децидуальной оболочки.

Таким образом, успешная беременность определяется иммунно-эндокринными взаимодействиями, происходящими в децидуальной оболочке. Временной и пространственный баланс между привлекаемыми в децидуальную оболочку активированными Мф и их кооперация с окружающими клетками способствуют в организме матери успешной имплантации, развитию плаценты, прогрессированию роста плода, родам в срок. Эстроген, прогестерон, хемокины и другие факторы, выделяемые трофобластом и децидуальными стромальными клетками (ДСК), могут способствовать экспрессии IDO, CD206, IL-10 и других маркеров dMф, поддерживая их M2-подобную поляризацию [39, 102]. Это в свою очередь способствует иммунной толерантности матери к плоду, выживанию трофобласта, поддержанию физиологической беременности вплоть до родов. Клетки моноцитарно-макрофагальной системы и клетки трофобласта вступают в тесное взаимодействие и с другими иммунными клетками матки – в частности с Т-клетками и NK-клетками. Существует тесный пространственный контакт и связь между клетками тро-

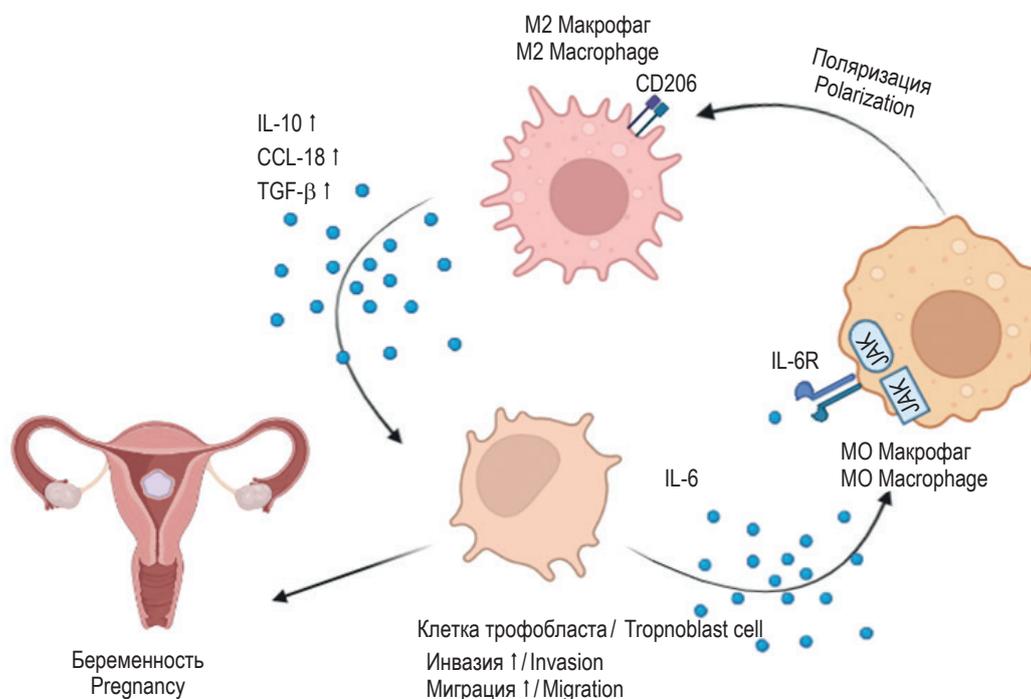


Рисунок 2. Схематическое изображение взаимодействия между трофобластом и Мф в децидуальной оболочке. Модифицировано из [27]

Figure 2. Schematic representation of the interaction between the trophoblast and M $\phi$  in the decidual shell. Modified from [27]

фобласта, децидуальными Мф и децидуальными НК, сгруппированными вокруг спиральных артерий [43]. Спектр молекулярных взаимодействий между этими типами клеток, несомненно, влияет на течение беременности.

#### **4. Взаимодействия между макрофагами и естественными киллерами**

##### **4.1. Контактный и дистантный уровень взаимодействий Мф и НК-клеток**

Естественные киллеры представляют собой лимфоидные клетки врожденного иммунитета, которые участвуют иммунном ответе против вирус-инфицированных, опухолевых клеток. Они могут проявлять цитотоксичность, действуя на зараженные или опухолевые клетки за счет секреции гранул, содержащих литические ферменты или факторы индукции апоптоза. Активированные НК-клетки уничтожают клетку-мишень, высвобождая цитотоксические гранулы (такие как перфорин и гранзим В) и провоспалительные цитокины (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и другие) [87]. Функционирование НК-клеток регулируется как активирующими, так и ингибирующими рецепторами, воспринимающими различные медиаторы иммунного ответа в организме. Активация НК-клеток опосредуется взаимодействием рецепторов активации на поверхности НК-клеток с их лигандами на клетках-мишенях. В свою очередь, взаимодействие ингибирующего рецептора со своим лигандом снижает цитотоксическую активность НК-клеток. Естественные киллеры могут продуцировать IFN $\gamma$  в ответ на стимуляцию определенными комбинациями цитокинов [82], существующих в клеточном микроокружении. Антигенпрезентирующие клетки, включая Мф, могут регулировать функциональные ответы НК-клеток посредством мембраносвязанных молекул и секреции растворимых медиаторов [119]. Для созревания НК-клеток требуются воздействие различных факторов, таких как IL-15, а цитокины IL-12 или IL-18 требуются для достижения достаточной эффекторной функции НК-клеток [110]. Эти факторы продуцируются Мф или дендритными клетками, что подчеркивает тесные регуляторные взаимодействия между НК-клетками и миелоидными клетками. Макрофаги М1 играют роль в инициации цитотоксической активности НК-клеток и стимуляции секреции ими IFN $\gamma$  несколькими путями – при действии растворимых медиаторов и при межклеточном контакте (рис. 3).

Выделяют несколько типов взаимодействий М1 и НК-клеток [60]. Во-первых, поляризация М1 сопровождается экспрессией CD48 на Мф. Связывание CD48 с 2B4 на НК-клетках при воспалительных заболеваниях запускает продукцию IFN $\gamma$  НК-клетками (контактное взаимодействие, рис. 3). Во-вторых, секреция макрофагами М1 IFN $\beta$  индуцирует продукцию IL-15 в НК-клетках

в составе мембраносвязанного комплекса IL-15/IL-15R $\alpha$ . Этот комплекс по аутокринному механизму действует на рецепторный комплекс IL-15R $\beta$ /IL-15R $\gamma$  НК-клеток, что усиливает ими секрецию IFN $\gamma$  (рис. 3). В-третьих, цитокины М1 макрофагов, такие как IL-1 $\beta$ , IFN $\beta$  или IL-23 (а также IL-12, IL-18, TNF $\alpha$ ), индуцируют усиление экспрессии цитотоксических рецепторов NKp44 и NKG2D, что, в свою очередь, может увеличивать цитотоксичность НК-клеток в отношении клеток-мишеней – опухолей (рис. 3). В-четвертых, мембраносвязанный комплекс IL-15/IL-15R $\alpha$ , экспрессируемый М1, по механизму транс-презентации действует на рецепторный комплекс IL-15R $\beta$ /IL-15R $\gamma$  окружающих НК-клеток. Это контактное межклеточное взаимодействие индуцирует активацию НК-клеток и усиливает цитотоксическую функцию в отношении мишеней (рис. 3).

Таким образом, провоспалительные сигналы IL-12, IL-18, IL-15, IFN $\beta$  клеток миелоидного ряда М1 непосредственно могут влиять на усиление цитотоксичности, литической активности, пролиферацию НК-клеток. В дополнение к этим цитокинам также отмечено, что IL-27, продуцируемый М1, может напрямую запускать секрецию IFN $\gamma$  посредством активации STAT1 и способствовать активации НК-клеток благодаря экспрессии CD25 и CD69 [8, 137].

Влиянию растворимых медиаторов подвержена также группа рецепторов естественной цитотоксичности НК-клеток, а именно NKp30, NKp44 и NKp46. Рецепторы NKp46 и NKp30 экспрессируются и на активированных НК-клетках, и на неактивированных, в то время как NKp44 – только на активированных. Примечательно, что IL-27, являющийся членом семейства IL-12, способствует усилению экспрессии NKp46 и последующей NKp46-зависимой цитотоксичности, опосредованной НК-клетками против клеток-мишеней [137]. Комбинация цитокинов IL-15/IL-18/IL-27 повышает экспрессию НК-клетками рецепторов NKp30 и NKp44 [20]. Таким образом, в условиях провоспалительной стимуляции рецепторы естественной цитотоксичности могут опосредовать литическую активность НК-клеток.

Еще одним звеном взаимодействия лимфоидных НК и Мф является активирующий рецептор NKG2D. Цитокины IL-2, IL-12 и IL-15, усиливают экспрессию НК-клетками рецептора NKG2D [98]. Макрофаги при активации через TLR начинают экспрессировать лиганды NKG2D: при стимуляции LPS – MICA, при инфицировании вирусами – MICB, а НК-клетки, находящиеся в контакте с TLR-активированными Мф, экспрессируют повышенные уровни NKG2D [61]. Активация NKG2D ведет к секреции IFN $\gamma$  НК-клетками. Отмечено также, что в присутствии

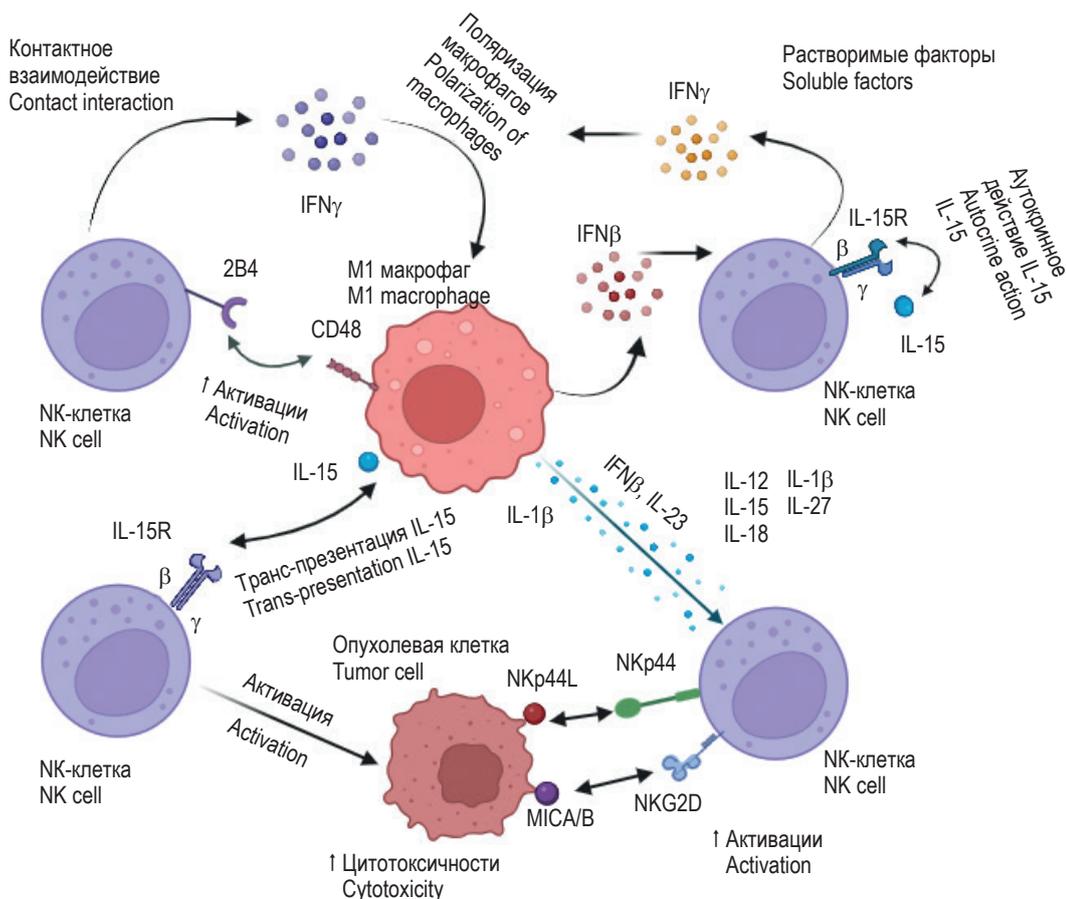


Рисунок 3. Взаимодействия между NK-клетками и макрофагами M1. Модифицировано из [60]

Figure 3. Interactions between NK cells and M1 macrophages. Modified from [60]

катаболитов IDO, выделяемой в том числе TAM и dMφ, у NK-клеток снижается экспрессия рецепторов NKP46 и NKG2D, что означает выключение распознавания лигандов на поверхности опухолевых клеток через эти рецепторы [77].

Таким образом, взаимодействие NK-клеток с классически активированными макрофагами M1 при инфекции имеют большое значение для продукции IFN $\gamma$  в NK-клетках, а IFN $\gamma$ , в свою очередь, затем облегчает активацию Mφ. Это взаимодействие являет собой петлю положительной обратной связи, которая усиливает TLR-индуцированную активацию NK-клеток [71], так как активированные NK-клетки, в свою очередь, действуют на антимикробные функции Mφ, продуцируя IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ . Хотя эти петли положительной обратной связи между NK-клетками и Mφ способствуют защите от патогенов, избыточная продукция провоспалительных цитокинов может вызывать системное воспаление *in vivo* [71].

С другой стороны, клетки моноцитарно/макрофагального ряда могут снижать активность NK-клеток. В частности, в микроокружении опухоли Mφ обладают репертуаром иммуносупрессивных молекул. Ассоциированные с опухолью

Mφ, как было отмечено выше, проявляют свойства, сходные со свойствами M2-поляризованных Mφ в отношении секреции цитокинов, экспрессии рецепторов и ремоделирования тканей, ангиогенеза и опухолевой прогрессии. Опосредованное макрофагами TAM подавление NK-клеток может быть опосредовано TGF- $\beta$ , который ингибирует экспрессию NKP30 и NKG2D [109]. Установлено, что экспрессия IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  в NK-клетках, сокультивированных с TAM, была значительно ниже, чем в NK-клетках, которые культивируются с M $\phi$ /Mφ из неопухолевых тканей; кроме того, TAM значительно подавляли пролиферацию NK-клеток. В модели совместного культивирования установлено, что NK-клетки, сокультивируемые с M2-макрофагами, проявляли более низкую дегрануляционную и цитотоксическую активность, чем NK-клетки, сокультивируемые с M1 [72]. В другом исследовании также показано, что после контактного взаимодействия NK-клеток с TAM NK-клетки изменяли фенотип в сторону CD27<sup>low</sup>CD11b<sup>high</sup>, что демонстрирует их сниженную активацию [49]. В целом исследования показывают, что опухолевые Mφ снижают эффекторные функции NK-клеток [81].

Что касается децидуальной оболочки, то иммунные клетки привлекаются в нее в немалом количестве при беременности и взаимодействуют друг с другом, определяют молекулярную среду, влияют на трофобласт. Взаимодействие между НК-клетками и антигенпрезентирующими клетками (АПК), прежде всего Мφ, играет ключевую роль в установлении адаптивного иммунитета на границе взаимодействия матери и плода. В секреторной фазе менструального цикла активация большого количества хемокинов привлекает НК-клетки и клетки моноцитарно-макрофагальной системы в децидуальную оболочку и место имплантации. НК-клетки составляют преобладающую популяцию в децидуальной оболочке (65-70%), следом выделяются dMφ (20-30%). В меньшем количестве представлены Т-клетки и дендритные клетки (2-4%). Макрофаги M1/M2 могут влиять на НК-клетки децидуальной оболочки. Исследования показывают, что на протяжении беременности dMφ, которые экспрессировали CD14 и CD206, в большом количестве присутствуют в децидуальной оболочке и могут ингибировать цитотоксичность естественных киллеров [21]. Децидуальные НК-клетки человека (dNK) демонстрируют уникальный фенотип с высоким уровнем экспрессии CD56, и в то же время отсутствием экспрессии CD16. Хотя dNK экспрессируют некоторые активирующие рецепторы и имеют цитолитический механизм, они проявляют слабую цитотоксичность [114]. Эта особенность, по-видимому, опосредуется в том числе присутствующими в децидуальной оболочке макрофагами. Хемокин CXCL16, секретируемый клетками трофобласта, индуцирует поляризацию макрофагов в направлении фенотипа M2. В свою очередь M2 dMφ, поляризованные CXCL16, ослабляют цитотоксичность НК-клеток, уменьшая секрецию IL-15, что способствует формированию иммунной толерантности [114]. Примечательно также, что IL-15, способен вызывать созревание незрелых НК-клеток, присутствующих в эндометрии и децидуальной оболочке. Установлено, что IL-15 индуцирует экспрессию группы рецепторов KIR на предшественниках НК-клеток, когда они дифференцируются в зрелые НК-клетки в условиях *in vitro*. В условиях *in vivo* микроокружение матки влияет на репертуар рецепторов НК-клеток [59]. Ингибирующие рецепторы KIR включают KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL5 и KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3 и связываются с пептидсвязывающей областью молекул HLA, способствуют толерантности НК-клеток к собственным тканям [80]. Необычный репертуар KIR характеризует dNK, которые склонны к распознаванию HLA-C трофобласта [59]. Рецептор NKG2A/CD94 представляет собой еще один ингибирующий рецептор НК-клеток. Этот рецептор специфически

распознает неклассические молекулы MHC на клетках-мишенях, а именно HLA-E и защищает организм от чрезмерной активации НК-клеток. В децидуальной оболочке присутствует несколько цитокинов, которые могут модулировать экспрессию NKG2A и влиять на функцию НК-клеток [80], включая IL-21, IL-15, IL-12, IL-10 и TGF-β [112]. Экспрессия NKG2A в основном наблюдается на CD56<sup>bright</sup> НК-клетках и снижается при постепенном созревании НК-клеток [112].

Большинство НК-клеток децидуальной оболочки имеют фенотип CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>KIR<sup>+</sup>CD9<sup>+</sup>CD49a<sup>+</sup>NKG2A<sup>+</sup>, таким образом, они фенотипически отличаются от подмножеств CD56<sup>bright</sup> и CD56<sup>dim</sup>, циркулирующих в периферической крови НК-клеток CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>CD160<sup>+</sup>. Они демонстрируют более низкую цитотоксичность и более высокую секрецию цитокинов, хемокинов и ангиогенных факторов (рис. 4) [55, 123]. Отмечены такие особенности dNK, как сниженная способность к дегрануляции, снижение функционирования активирующих рецепторов NKp30, NKp44, NKp80, NKG2D [22, 85].

В настоящее время нет единого мнения о путях появления dNK. Полагают, что пул dNK пополняется из периферической крови или пролиферирует и дифференцируется *in situ* из предшественников. Так или иначе, любой из путей пополнения пула dNK связан с дифференцировкой в условиях микроокружения, которое создает трофобласт и dMφ. Дифференцировка и развитие НК-клеток регулируется несколькими цитокинами (рис. 4), сопровождается изменением фенотипа и функциональной активности [63, 120].

Последовательная экспрессия рецепторов для различных цитокинов подразумевает функциональное созревание НК-клеток [120]. Для пролиферации и дифференцировки гемопоэтической стволовой клетки требуются FL, KL, IL-3 и IL-7. Приобретение экспрессии CD122 свидетельствует о созревании НК-клеток. IL-15 необходим для дифференцировки НК-клеток от общего лимфоидного предшественника до зрелых НК-клеток [120]. Присутствие IL-15 не только повышает цитотоксичность НК-клеток и индуцирует их пролиферацию, но и защищает НК-клетки от апоптоза [41]. Функциональный фенотип зрелых НК-клеток формируется под воздействием цитокинов микроокружения тканей, в которых они находятся [80]. В периферической крови или селезенке обилие стимулирующих цитокинов, таких как IL-2, IL-12, IL-15, IL-18 и IL-21, может поддерживать НК-клетки в цитотоксическом состоянии для борьбы с инфекциями. Толерогенные НК-клетки и регуляторные НК-клетки матки образуются под действием TGF-β и IL-10 или TGF-β и IL-15 соответственно (рис. 4) [120]. Цитокины TGF-β и IL-10, активно выделяемые M2-

dMφ в матке, поддерживают фенотип NK-клеток со сниженной цитотоксической функцией [78].

Уникальной особенностью децидуальных NK-клеток является то, что во время беременности они подвергаются воздействию как материнских, так и отцовских молекул HLA на клетках трофобласта [93]. Децидуальные Mφ и NK-клетки в синергии способствуют ремоделированию сосудов плаценты, развитию беременности [84]. Однако большое количество воспалительных цитокинов, таких как IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ , может повреждать плаценту и развивающийся плод либо непосредственно вызывая апоптоз клеток трофобласта [67], либо путем активации цитотоксических клеток, включая dNK-клетки или Т-клетки [89]. Следовательно, взаимодействие NK-клеток и Mφ, присутствующих в децидуальной оболочке, и высвобождение цитокинов TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , индукция экспрессии цитотоксических рецепторов являются потенциальными участниками цитокин-индуцированного патогенеза осложнений беременности, которые могут снижаться противовоспалительным эффектом TGF- $\beta$  или IL-10 [94]. С другой стороны, значительное снижение активности NK-клеток с нарушением про-

дукции TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  может угрожать чрезмерной инвазией клеток трофобласта и последующими осложнениями этого процесса. Влияние Mφ на NK-клетки проявляется в изменении экспрессии последними транскрипционных факторов, определяющих не только их дифференцировку, но и функциональную активность.

#### 4.2. Влияние Mφ на экспрессию транскрипционных факторов NK-клетками.

Факторы транскрипции (TF) модулируют гены, участвующие в специфических для того или иного клеточного типа свойствах, метаболических особенностях, функциях. NK-клетки претерпевают по пути своего развития несколько стадий, и известно, что на каждой из стадий играют роль определенные TF, ответственные за регуляцию экспрессии тех или иных важных генов. Важно отметить влияние цитокинового микроокружения на эти факторы, ведь именно межклеточные сигналы участвуют в регуляции на разных стадиях созревания клеток, влияя на активацию транскрипционных факторов. Конкретный функционально-фенотипический вклад каждого фактора определяется пространственно-временным контролем их проявления [62, 63].

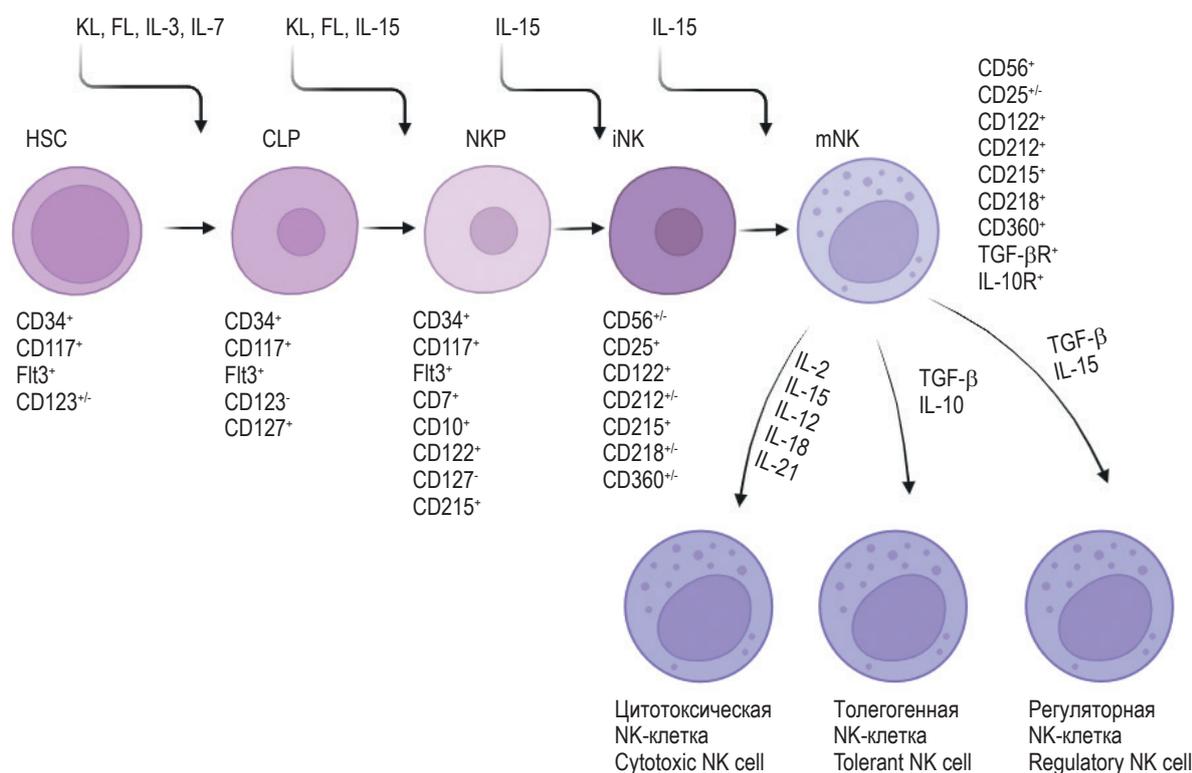


Рисунок 4. Дифференцировка и развитие NK-клеток

Примечание. Сокращения: HSC – гемопоэтическая стволовая клетка, KL – kit ligand; FL – fms-like tyrosine kinase 3 ligand; CLP – общий лимфоидный предшественник; NKP – natural killer progenitor – пре-NK-клетка; iNK – immature NK cell – незрелая NK-клетка; mNK – mature NK cell – зрелая NK-клетка. Модифицировано из [120].

Figure 4. Differentiation and development of NK cells

Note. Abbreviations: HSC, hematopoietic stem cell; KL, kit ligand; FL, fms-like tyrosine kinase 3 ligand; CLP, common lymphoid precursor; NKP, natural killer progenitor, pre-NK cell; iNK, immature NK cell; mNK, mature NK cell. Modified from [120].

Развитие и созревание НК-клеток управляется сетью TF, включая родственные факторы T-bet и Eomes. Они обладают схожими свойствами связывания ДНК из-за их высоко гомологичных ДНК-связывающих доменов T-box, которые в большой степени идентичны [129]. В незрелых НК-клетках доминирующей является экспрессия транскрипционного фактора Eomes. Ранняя индукция этого фактора связана с эпигенетическими изменениями в характерных локусах генов, таких как *prf1* (перфорин), *gzmA* (гранзима) [130], выживанием, пролиферацией, дифференцировкой НК-клеток [38]. T-bet является центральным фактором транскрипции для зрелых НК-клеток, ответственным за стадии терминальной дифференцировки, но не участвует в раннем развитии. Регулирует спектр процессов, включая развитие, созревание и функционирование НК-клеток, а именно поддержание их эффекторных функций: T-bet необходим и для устойчивой продукции  $IFN\gamma$  НК-клетками, и для высвобождения гранул с цитотоксическими молекулами [38]. Фактор T-bet определяет чувствительность НК-клеток к IL-12, IL-21, их цитотоксичность, замедление клеточного цикла и жизнеспособность [101, 130]. Важным индуктором T-bet является IL-12. Этот цитокин независимо от  $IFN\gamma$  индуцирует

экспрессию T-bet посредством активации JAK-STAT4 [82].  $IFN\gamma$  связывается со своим рецептором  $IFN\gamma R$  и регулирует экспрессию T-bet через путь JAK-STAT1 [82].

Таким образом, в ответ на инфекции и стимуляцию TLR макрофагов выделяемый ими IL-12 влияет на НК-клетки и в основном индуцирует активацию STAT4. STAT4 трансликируется в ядро и способствует транскрипции гена  $IFN\gamma$  при участии T-bet [37]. Более того, было показано, что стимуляция комбинациями цитокинов IL-12+IL-15 или IL-12+IL-18,  $IFN\beta$  вызывает активацию T-bet и Eomes, что ведет к стабильной продукции  $IFN\gamma$ . В дополнение к этому показано, что синергетические взаимодействия между цитокинами IL-15, IL-18 и IL-27 усиливают цитотоксичность CD3-CD56<sup>+</sup> НК-клеток путем накопления гранул перфорина и также поддерживают экспрессию  $IFN\gamma$  [20]. TGF- $\beta$ , напротив, подавляет экспрессию T-bet и Eomes в НК-клетках [130]. Таким образом, Eomes и T-bet регулируют эффекторные функции НК-клеток, совместно контролируя продукцию  $IFN\gamma$  в НК-клетках, в то время как T-bet, по-видимому, является решающим регулятором их цитотоксической активности во время преобразования в зрелые НК-клетки. Тем не менее в НК-клетках челове-

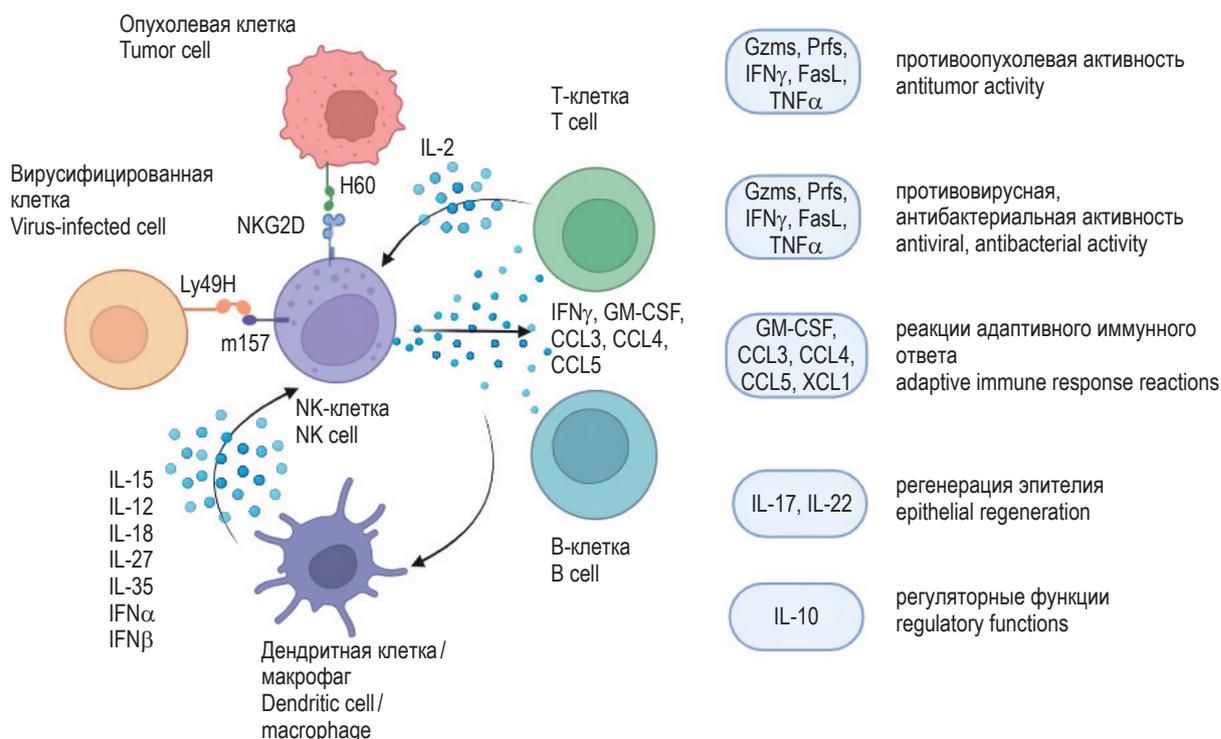
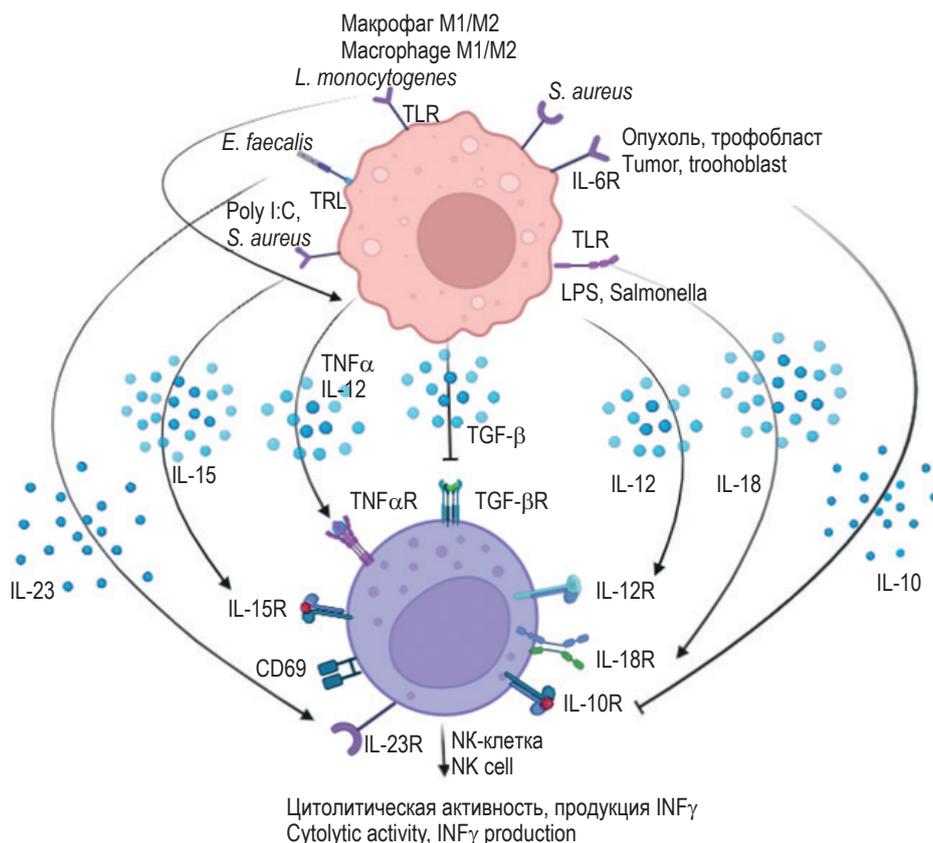


Рисунок 5. Краткая иллюстрация взаимодействий между НК-клетками и миелоидными клетками

Примечание. Gzrms – гранзимы, Prfs – перфорины, XCL1 – хемокиновый лиганд 1 C-мотива, FasL – Fas-лиганд. Модифицировано из [5].

Figure 5. Brief illustration of the interactions between NK cells and myeloid cells

Note. Gzrms, granzymes; Prfs, perforins; XCL1, chemokine ligand of 1 C-motif; FasL, Fas-ligand. Modified from [5].



**Рисунок 6. Различные сигналы Мφ, влияющие на функции НК-клеток**

**Примечание.** TLR-активированные M1-Мφ за счет секреции провоспалительных цитокинов активируют НК-клетки (стрелка – активирующее действие); M2-Мφ-полученные IL-10 и TGF-β ингибируют активность НК-клеток (ингибирующее действие). Модифицировано из [61].

Figure 6. Various Mφ signals affecting the functions of NK cells

Note. TLR-activated M1-Mφ due to the secretion of proinflammatory cytokines activate NK cells (arrow – activating effect); M2-Mφ-derived IL-10 and TGF-β inhibit the activity of NK cells (inhibitory effect). Modified from [61].

ка как CD56<sup>bright</sup>, так и CD56<sup>dim</sup> НК-клетки высоко экспрессируют T-bet и Eomes, и большинство зрелых НК-клеток совместно экспрессируют оба этих фактора. Однако доля CD56<sup>bright</sup>НК-клеток экспрессирует более низкие уровни T-bet, чем CD56<sup>dim</sup>НК-клетки. Высокий уровень экспрессии Eomes характерен для CD56<sup>bright</sup>НК-клеток, доля CD56<sup>dim</sup>НК-клеток экспрессирует меньше этого фактора [54]. Это также соотносится с активацией KIR во время созревания. Усиление регуляции KIR во время созревания связано со снижением Eomes и увеличением уровней T-bet [95]. Зрелые НК-клетки, таким образом, более цитотоксичны, чем незрелые, в отношении опухолей-мишеней. Факторы транскрипции T-bet и Eomes совместно регулируют выработку IFNγ в НК-клетках, в то время как T-bet является решающим регулятором их цитотоксической активности за счет повышенной выработки перфорина и гранзима В [95]. Что касается IL-15, сигналинг происходит через гетеротримерный рецептор, состоящий из IL-15Rα (CD215), IL-2/IL-15Rβ (CD122) и общей цепи γ (CD132), T-bet и Eomes

напрямую связываются с промоторной областью гена P2rb; однако Eomes играет преобладающую роль в поддержании экспрессии CD122 в содействии созреванию НК-клеток [113]. Таким образом, зрелые НК-клетки, более цитотоксичны, чем незрелые, в отношении опухолей-мишеней. Факторы транскрипции T-bet и Eomes совместно регулируют выработку IFNγ в НК-клетках, в то время как T-bet является решающим регулятором их цитотоксической активности за счет повышенной выработки перфорина и гранзима В [95]. Созревание и активация естественных киллеров происходит с затрагиванием сложных сигнальных систем в системе присутствия регуляторных молекул. Миелоидные клетки играют роль «третьего лишнего» в этой сети взаимодействий [5], внося непосредственный вклад в функционирование естественных киллеров (рис. 5).

Продукция IL-15 активируется в Мφ в ответ на LPS; IL-15 индуцирует иммунный ответ Th1-типа и естественных киллеров благодаря индукции IFNγ и фактора транскрипции T-bet [113].

Регулируемая дифференцировка НК-клеток важна для работы иммунной системы как при инфекциях, опухолях, так и в децидуальной оболочке при беременности. В настоящее время показано, что нарушение регуляции НК-клеток приводит к различной репродуктивной патологии, включая привычное невынашивание беременности, необъяснимое бесплодие и преэклампсию [57]. Макрофаги за счет своей пластичности могут модулировать функциональную активность и дифференцировку НК-клеток за счет широкого репертуара продуцируемых ими цитокинов и поверхностных лигандов. Заметное влияние на НК-клетки имеют цитокины, широко продуцируемые М1-макрофагами (IL-12, IL-18, IL-15, IL-23, TNF $\alpha$ , IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ ) при различных инфекциях [65, 87], в начале и в конце беременности; и регуляторные медиаторы TGF- $\beta$ , IL-10, секретируемые М2-подобными Мф в середине беременности, способствующие иммунологической толерантности. Цитокины М1-макрофагов увеличивают, а медиаторы М2-макрофагов способствуют снижению цитолитической активности НК-клеток, продукции ими IFN $\gamma$  (рис. 6). Как итог, регуляторные взаимосвязи между Мф и НК-клетками в децидуальной оболочке имеет решающее значение в установлении и развитии физиологической беременности.

Все больше исследований подтверждают факт значительного влияния межклеточных взаимодействий в судьбе НК-клеток. Однако широкий репертуар активирующих и ингибирующих рецепторов, присутствующих на них, и регуляция их транскрипции, по-видимому, постоянно подвергается влиянию микроокружения, и не все эти изменения в экспрессии рецепторов ясно определены. Функциональная активность: цитотоксическая или регуляторная, — зависит от конечного баланса полученных НК-клеткой от микроокружения, в том числе от Мф, активирующих или ингибирующих стимулов.

## Заключение

Суммируя описанные в обзоре данные необходимо отметить, что при различных патологических и физиологических состояниях в

тканях моноциты дифференцируются в различные субпопуляции макрофагов М1/М2. Дифференцировка в этих случаях зависит от сигналов контактного и дистантного взаимодействия с микроокружением. С учетом этих сигналов разработаны методы для получения различных подклассов М1 и М2 в условиях *in vitro* как из моноцитов периферической крови, так и из линейных клеток миелоидного происхождения. Полученные таким образом макрофаги воспроизводят фенотип определенных подклассов М1 или М2, которые могут присутствовать при различных патологических и физиологических процессах в организме. Такой подход получил широкое распространение для экспериментального изучения межклеточных взаимодействий между различными подклассами М1 и М2 и другими типами клеток. Частным случаем таких исследований является изучение роли децидуальных макрофагов во взаимоотношениях с двумя основными клеточными типами, определяющими исход беременности: клетками трофобласта и естественными киллерами. Подобная модель взаимоотношений характерна не только для клеток маточно-плацентарного контакта, но и для опухолей: ассоциированные с опухолью макрофаги (ТАМ) обладают фенотипом и свойствами, сходными с децидуальными макрофагами, а естественные киллеры, локализованные в опухолях, по свойствам сходны с децидуальными НК-клетками. Установление причинно-следственных связей и определение точного главенства одного из трех клеточных типов в зоне маточно-плацентарного контакта скорее всего не имеет смысла. Вероятнее всего, речь может идти о сложившемся в ходе эволюции триумvirате из Мф, клеток трофобласта и НК-клеток и связанного с ним цитокинового микроокружения, непосредственно влияющего на созревание, активность, фенотипический и транскрипционный профиль клеток в децидуальной оболочке и, как следствие, на течение и исход беременности. Пристальное изучение взаимодействий этих клеток прольет свет не только на особенности межклеточных взаимоотношений в зоне маточно-плацентарного контакта, но и на взаимоотношения клеток опухоли с НК-клетками и макрофагами.

## Список литературы / References

1. Айламазян Э.К., Степанова О.И., Сельков С.А., Соколов Д.И. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «Конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели // Вестник Российской академии медицинских наук, 2013. Т. 68, № 11. С. 12-21. [Ailamazian E.K., Stepanova O.I., Selkov S.A., Sokolov D.I. Cells of immune system of mother and trophoblast cells: constructive cooperation for the sake of achievement of the joint purpose. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2013, Vol. 68, no. 11, pp. 12-21. (In Russ.)]
2. Богданова И.М., Болтовская М.Н. Функциональная и фенотипическая характеристика классических (М1) и альтернативно активированных (М2) макрофагов и их роль в течении нормальной и патологической беременности (обзор литературы) // Проблемы репродукции, 2019. Т. 25, № 5. С. 110-118.

[Bogdanova I.M., Boltovskaya M.N. Functional and phenotypic characteristics of classical (M1) and alternatively activated (M2) macrophages and their role during normal and pathological pregnancy (literature review). *Problemy reproduktivnoy = Russian Journal of Human Reproduction*, 2019, Vol. 25, no. 5, pp. 110-118. (In Russ.)]

3. Вишнякова П.А., Ельчанинов А.В., Киселева В.В., Муминова К.Т., Ходжаева З.С., Еремина И.З., Фатхудинов Т.Х. Роль плацентарных макрофагов при физиологической беременности и преэклампсии // *Акушерство и гинекология*, 2022. № 4. С. 5-12. [Vishnyakova P.A., Yelchaninov A.V., Kiseleva V.V., Muminova K.T., Khodzhaeva Z.S., Eremina I.Z., Fatkhutdinov T.H. The role of placental macrophages in physiological pregnancy and preeclampsia. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2022, no. 4, pp. 5-12. (In Russ.)]

4. Соколов Д.И., Сельков С.А. Децидуальные макрофаги: роль в иммунологическом диалоге матери и плода // *Иммунология*, 2014. Т. 35, № 2. С. 113-117. [Sokolov D.I., Selkov S.A. Decidual macrophages: the role in the immunological dialogue of mother and fetus. *Immunologiya = Immunology*, 2014, Vol. 35, no. 2, pp. 113-117. (In Russ.)]

5. Abel A.M., Yang C., Thakar M.S., Malarkannan S. Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 1869. doi: 10.3389/fimmu.2018.01869.

6. Abrahams V.M., Mor G. Toll-like receptors and their role in the trophoblast. *Placenta*, 2005, Vol. 26, no. 7, pp. 540-547.

7. Aldo P.B., Racicot K., Craviero V., Guller S., Romero R., Mor G. Trophoblast induces monocyte differentiation into CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> macrophages. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2014, Vol. 72, no. 3, pp. 270-284.

8. Alvarez-Breckenridge C.A., Yu J., Kaur B., Caligiuri M.A., Chiocca E.A. Deciphering the multifaceted relationship between oncolytic viruses and natural killer cells. *Adv. Virol.*, 2012, Vol. 2012, 702839. doi: 10.1155/2012/702839.

9. Antmen E., Vrana N.E., Hasirci V. The role of biomaterials and scaffolds in immune responses in regenerative medicine: macrophage phenotype modulation by biomaterial properties and scaffold architectures. *Biomater. Sci.*, 2021, Vol. 9, no. 24, pp. 8090-8110.

10. Auwerx J. The human leukemia cell line, THP-1: a multifaceted model for the study of monocyte-macrophage differentiation. *Experientia*, 1991, Vol. 47, no. 1, pp. 22-31.

11. Bellora F., Castriconi R., Dondero A., Reggiardo G., Moretta L., Mantovani A., Moretta A., Bottino C. The interaction of human natural killer cells with either unpolarized or polarized macrophages results in different functional outcomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2010, Vol. 107, no. 50, pp. 21659-21664.

12. Berezha V.A., Mamontova T.V., Gromova A.M. Cd68<sup>+</sup> M1 macrophages is associated with placental insufficiency under fetal growth restriction. *Wiadomości Lekarskie*, 2021, Vol. 74, no. 2, pp. 213-219.

13. Bhattacharya S., Aggarwal A. M2 macrophages and their role in rheumatic diseases. *Rheumatol. Int.*, 2019, Vol. 39, no. 5, pp. 769-780.

14. Binatti E., Gerussi A., Barisani D., Invernizzi P. The role of macrophages in liver fibrosis: new therapeutic opportunities. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 12, 6649. doi: 10.3390/ijms23126649.

15. Biswas S.K., Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat. Immunol.*, 2010, Vol. 11, no. 10, pp. 889-896.

16. Brown M.B., von Chamier M., Allam A.B., Reyes L. M1/M2 macrophage polarity in normal and complicated pregnancy. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, 606. doi: 10.3389/fimmu.2014.00606.

17. Camille N., Dealtry G. Regulation of M1/M2 macrophage polarization by *Sutherlandia frutescens* via NFκB and MAPK signaling pathways. *South African J. Botany*, 2018, Vol. 116, pp. 42-51.

18. Capobianco A., Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, 9. doi: 10.3389/fimmu.2013.00009.

19. Chanput W., Peters V., Wichers H., Verhoeckx K., Cotter P., López-Expósito I., Kleiveland C., Lea T., Mackie A., Requena T., Swiatecka D. THP-1 and U937 Cells. In: *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models* [Internet]. Cham (CH): Springer; 2015. Chapter 14. pp. 147-159.

20. Choi Y.H., Lim E.J., Kim S.W., Moon Y.W., Park K.S., An H.J. IL-27 enhances IL-15/IL-18-mediated activation of human natural killer cells. *J. Immunother. Cancer*, 2019, Vol. 7, no. 1, 168. doi: 10.1186/s40425-019-0652-7.

21. Co E.C., Gormley M., Kapidzic M., Rosen D.B., Scott M.A., Stolp H.A., McMaster M., Lanier L.L., Barcena A., Fisher S.J. Maternal decidual macrophages inhibit NK cell killing of invasive cytotrophoblasts during human pregnancy. *Biol. Reprod.*, 2013, Vol. 88, no. 6, 155. doi: 10.1095/biolreprod.112.099465.

22. Corvino D., Kumar A., Bald T. Plasticity of NK cells in Cancer. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 888313. doi: 10.3389/fimmu.2022.888313.

23. Daigneault M., Preston J.A., Marriott H.M., Whyte M.K., Dockrell D.H. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages. *PLoS One*, 2010, Vol. 5, no. 1, e8668. doi: 10.1371/journal.pone.0008668.

24. Dante G., Vaccaro V., Facchinetti F. Use of progestagens during early pregnancy. *Facts Views Vis. Obgyn*, 2013, Vol. 5, no. 1, pp. 66-71.

25. Dekel N., Gnainsky Y., Granot I., Mor G. Inflammation and implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2010, Vol. 63, no. 1, pp. 17-21.

26. Deng L., Jian Z., Xu T., Li F., Deng H., Zhou Y., Lai S., Xu Z., Zhu L. Macrophage polarization: an important candidate regulator for lung diseases. *Molecules*, 2023, Vol. 28, no. 5, 2379. doi: 10.3390/molecules28052379.

27. Ding J., Yang C., Cheng Y., Wang J., Zhang S., Yan S., He F., Yin T., Yang J. Trophoblast-derived IL-6 serves as an important factor for normal pregnancy by activating Stat3-mediated M2 macrophages polarization. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, Vol. 90, 106788. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106788.
28. Ding J., Yang C., Zhang Y., Wang J., Zhang S., Guo D., Yin T., Yang J. M2 macrophage-derived G-CSF promotes trophoblasts EMT, invasion and migration via activating PI3K/Akt/Erk1/2 pathway to mediate normal pregnancy. *J. Cell. Mol. Med.*, 2021, Vol. 25, no. 4, pp. 2136-2147.
29. Faas M.M., de Vos P. Uterine NK cells and macrophages in pregnancy. *Placenta*, 2017, Vol. 56, pp. 44-52.
30. Faas M.M., Spaans F., de Vos P. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, 298. doi: 10.3389/fimmu.2014.00298
31. Ferrante C.J., Pinhal-Enfield G., Elson G., Cronstein B.N., Hasko G., Outram S., Leibovich S.J. The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL-4Ralpha) signaling. *Inflammation*, 2013, Vol. 36, no. 4, pp. 921-931.
32. Gatto F., Cagliani R., Catelani T., Guarnieri D., Moglianetti M., Pompa P.P., Bardi G. PMA-induced THP-1 macrophage differentiation is not impaired by citrate-coated platinum nanoparticles. *Nanomaterials (Basel)*, 2017, Vol. 7, no. 10, 332. doi: 10.3390/nano7100332.
33. Geissmann F., Manz M.G., Jung S., Sieweke M.H., Merad M., Ley K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science*, 2010, Vol. 327, no. 5966, pp. 656-661.
34. Genin M., Clement F., Fattaccioli A., Raes M., Michiels C. M1 and M2 macrophages derived from THP-1 cells differentially modulate the response of cancer cells to etoposide. *BMC Cancer*, 2015, Vol. 15, 577. doi: 10.1186/s12885-015-1546-9.
35. Gomez-Lopez N., Garcia-Flores V., Chin P.Y., Groome H.M., Bijland M.T., Diener K.R., Romero R., Robertson S.A. Macrophages exert homeostatic actions in pregnancy to protect against preterm birth and fetal inflammatory injury. *JCI Insight*, 2021, Vol. 6, no. 19, e146089. doi: 10.1172/jci.insight.146089.
36. Grasso E., Papparini D., Hauk V., Salamone G., Leiros C.P., Ramhorst R. Differential migration and activation profile of monocytes after trophoblast interaction. *PLoS One*, 2014, Vol. 9, no. 5, e97147. doi: 10.1371/journal.pone.0097147.
37. Hamza T., Barnett J.B., Li B. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in infection applications. *Int. J. Mol. Sci.*, 2010, Vol. 11, no. 3, pp. 789-806.
38. Huang C., Bi J. Expression regulation and function of T-Bet in NK cells. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 761920. doi: 10.3389/fimmu.2021.761920.
39. Huang H.L., Yang H.L., Lai Z.Z., Yang S.L., Li M.Q., Li D.J. Decidual IDO(+) macrophage promotes the proliferation and restricts the apoptosis of trophoblasts. *J. Reprod. Immunol.*, 2021, Vol. 148, 103364. doi: 10.1016/j.jri.2021.103364.
40. Huber R., Pietsch D., Gunther J., Welz B., Vogt N., Brand K. Regulation of monocyte differentiation by specific signaling modules and associated transcription factor networks. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2014, Vol. 71, no. 1, pp. 63-92.
41. Huntington N.D., Legrand N., Alves N.L., Jaron B., Weijer K., Plet A., Corcuff E., Mortier E., Jacques Y., Spits H., Di Santo J.P. IL-15 trans-presentation promotes human NK cell development and differentiation *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 2009, Vol. 206, no. 1, pp. 25-34.
42. Jena M.K., Nayak N., Chen K., Nayak N.R. Role of macrophages in pregnancy and related complications. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 2019, Vol. 67, no. 5, pp. 295-309.
43. Jones R.L., Hannan N.J., Kaitu'u T.J., Zhang J., Salamonsen L.A. Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, Vol. 89, no. 12, pp. 6155-6167.
44. Kamoshida G., Matsuda A., Sekine W., Mizuno H., Oku T., Itoh S., Irimura T., Tsuji T. Monocyte differentiation induced by co-culture with tumor cells involves RGD-dependent cell adhesion to extracellular matrix. *Cancer Lett.*, 2012, Vol. 315, no. 2, pp. 145-152.
45. Kapellos T.S., Bonaguro L., Gemund I., Reusch N., Saglam A., Hinkley E.R., Schultze J.L. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 2035. doi: 10.3389/fimmu.2019.02035.
46. Kim J.S., Romero R., Cushenberry E., Kim Y.M., Erez O., Nien J.K., Yoon B.H., Espinoza J., Kim C.J. Distribution of CD14<sup>+</sup> and CD68<sup>+</sup> macrophages in the placental bed and basal plate of women with preeclampsia and preterm labor. *Placenta*, 2007, Vol. 28, no. 5-6, pp. 571-576.
47. Kim Y., Nurakhayev S., Nurkesh A., Zharkinbekov Z., Saporov A. Macrophage polarization in cardiac tissue repair following myocardial infarction. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 5, 2715. doi: 10.3390/ijms22052715.
48. Krasselt M., Baerwald C., Wagner U., Rossol M. CD56<sup>+</sup> monocytes have a dysregulated cytokine response to lipopolysaccharide and accumulate in rheumatoid arthritis and immunosenescence. *Arthritis Res. Ther.*, 2013, Vol. 15, no. 5, R139. doi: 10.1186/ar4321.
49. Krneta T., Gillgrass A., Poznanski S., Chew M., Lee A.J., Kolb M., Ashkar A.A. M2-polarized and tumor-associated macrophages alter NK cell phenotype and function in a contact-dependent manner. *J. Leukoc. Biol.*, 2017, Vol. 101, no. 1, pp. 285-295.
50. Lasch M., Sudan K., Paul C., Schulz C., Kolben T., Dorp J.V., Eren S., Beyer S., Siniscalchi L., Mahner S., Jeschke U., Meister S. Isolation of decidual macrophages and Hofbauer cells from term placenta-comparison of the expression of CD163 and CD80. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 11, 6113. doi: 10.3390/ijms23116113.

51. Lavoie P.M., Levy O. The mononuclear phagocyte system. In *Fetal and Neonatal Physiology*. 5. Chapter 125. Elsevier; 2016. pp. 1208-1216.
52. Lawrence T., Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, Vol. 11, no. 11, pp. 750-761.
53. Lee S.-Y. Phellinus linteus extract regulates macrophage polarization in human THP-1 Cells. *J. Life Sci.*, 2000, Vol. 30, pp. 113-121.
54. Leong J.W., Wagner J.A., Ireland A.R., Fehniger T.A. Transcriptional and post-transcriptional regulation of NK cell development and function. *Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 177, pp. 60-69.
55. Liu Y., Gao S., Zhao Y., Wang H., Pan Q., Shao Q. Decidual natural killer cells: a good nanny at the maternal-fetal interface during early pregnancy. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 663660. doi: 10.3389/fimmu.2021.663660.
56. Liu Y.C., Zou X.B., Chai Y.F., Yao Y.M. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int. J. Biol. Sci.*, 2014, Vol. 10, no. 5, pp. 520-529.
57. Luu T., AlSubki L., Wolf K., Thees A., Ganieva U., Dambaeva S., Beaman K., Kwak-Kim J. Natural killer cell-mediated immunopathology in recurrent pregnancy losses. *Explor. Immunol.*, 2022, Vol. 2, no. 5, pp. 693-722.
58. Macklin P.S., McAuliffe J., Pugh C.W., Yamamoto A. Hypoxia and HIF pathway in cancer and the placenta. *Placenta*, 2017, Vol. 56, pp. 8-13.
59. Male V., Sharkey A., Masters L., Kennedy P.R., Farrell L.E., Moffett A. The effect of pregnancy on the uterine NK cell KIR repertoire. *Eur. J. Immunol.*, 2011, Vol. 41, no. 10, pp. 3017-3027.
60. Mattioli I., Pesant M., Tentorio P.F., Molgora M., Marcenaro E., Lugli E., Locati M., Mavilio D. Priming of human resting NK cells by autologous M1 macrophages via the engagement of IL-1beta, IFN-beta, and IL-15 Pathways. *J. Immunol.*, 2015, Vol. 195, no. 6, pp. 2818-2828.
61. Michel T., Hentges F., Zimmer J. Consequences of the crosstalk between monocytes/macrophages and natural killer cells. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, 403. doi: 10.3389/fimmu.2012.00403.
62. Mikhailova V.A., Bazhenov D.O., Belyakova K.L., Selkov S.A., Sokolov D.I. Differentiation of NK cells. A look through the prism of transcription factors and intracellular messengers. *Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 21-38. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-21-38.
63. Mikhailova V.A., Grebenkina P.V., Tyshchuk E.V., Davydova A.A., Zagaynova V.A., Kogan I.Y., Selkov S.A., Sokolov D.I. Phenotypic profile of peripheral blood NK cells under culturing with trophoblast cells and IL-15 and IL-18 cytokines. *Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 6, pp. 1383-1388. doi: 10.15789/1563-0625-ppo-2403.
64. Mohamed M.E., Gamal R.M., El-Mokhtar M.A., Hassan A.T., Abozaid H.S.M., Ghandour A.M., Abdelmoez A.I.S., H A.Y., E H.E.-H., Y S.M., Abdellatif Awad A. Peripheral cells from patients with systemic sclerosis disease co-expressing M1 and M2 monocyte/macrophage surface markers: Relation to the degree of skin involvement. *Hum. Immunol.*, 2021, Vol. 82, no. 9, pp. 634-639.
65. Molgora M., Supino D., Mavilio D., Santoni A., Moretta L., Mantovani A., Garlanda C. The yin-yang of the interaction between myelomonocytic cells and NK cells. *Scand. J. Immunol.*, 2018, Vol. 88, no. 3, e12705. doi: 10.1111/sji.12705.
66. Mor G. Inflammation and pregnancy: the role of toll-like receptors in trophoblast-immune interaction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2008, Vol. 1127, pp. 121-128.
67. Mor G., Abrahams V.M. Potential role of macrophages as immunoregulators of pregnancy. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2003, Vol. 1, 119. doi: 10.1186/1477-7827-1-119.
68. Mor G., Cardenas I., Abrahams V., Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2011, Vol. 1221, no. 1, pp. 80-87.
69. Mukherjee C., Hale C., Mukhopadhyay S. A simple multistep protocol for differentiating human induced pluripotent stem cells into functional macrophages. *Methods Mol. Biol.*, 2018, Vol. 1784, pp. 13-28.
70. Ning F., Liu H., Lash G.E. The Role of decidual macrophages during normal and pathological pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2016, Vol. 75, no. 3, pp. 298-309.
71. Noh J.Y., Yoon S.R., Kim T.D., Choi I., Jung H. Toll-like receptors in natural killer cells and their application for immunotherapy. *J. Immunol. Res.*, 2020, Vol. 2020, 2045860. doi: 10.1155/2020/2045860.
72. Nunez S.Y., Ziblat A., Secchiari F., Torres N.I., Sierra J.M., Raffo Iraolagoitia X.L., Araya R.E., Domaica C.I., Fuertes M.B., Zwirner N.W. Human M2 macrophages limit NK cell effector functions through secretion of TGF-beta and engagement of CD85j. *J. Immunol.*, 2018, Vol. 200, no. 3, pp. 1008-1015.
73. Ogle M.E., Segar C.E., Sridhar S., Botchwey E.A. Monocytes and macrophages in tissue repair: Implications for immunoregenerative biomaterial design. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2016, Vol. 241, no. 10, pp. 1084-1097.
74. Olmos-Ortiz A., Flores-Espinosa P., Mancilla-Herrera I., Vega-Sanchez R., Diaz L., Zaga-Clavellina V. Innate immune cells and toll-like receptor-dependent responses at the maternal-fetal interface. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 15, 3654. doi: 10.3390/ijms20153654.
75. Orekhov A.N., Orekhova V.A., Nikiforov N.G., Myasoedova V.A., Grechko A.V., Romanenko E.B., Zhang D., Chistiakov D.A. Monocyte differentiation and macrophage polarization. *Vessel Plus*, 2019, Vol. 3, 10. doi: 10.20517/2574-1209.2019.04
76. Ozanska A., Szymczak D., Rybka J. Pattern of human monocyte subpopulations in health and disease. *Scand. J. Immunol.*, 2020, Vol. 92, no. 1, pp. e12883. doi: 10.1111/sji.12883.

77. Papak I., Chrusciel E., Dziubek K., Kurkowiak M., Urban-Wojciuk Z., Marjanski T., Rzyman W., Marek-Trzonkowska N. What inhibits natural killers' performance in tumour. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 13, 7030. doi: 10.3390/ijms23137030.
78. Parasar P., Guru N., Nayak N.R. Contribution of macrophages to fetomaternal immunological tolerance. *Hum. Immunol.*, 2021, Vol. 82, no. 5, pp. 325-331.
79. Park D.W., Yang K.M. Hormonal regulation of uterine chemokines and immune cells. *Clin. Exp. Reprod. Med.*, 2011, Vol. 38, no. 4, pp. 179-185.
80. Paul S., Lal G. The Molecular mechanism of natural killer cells function and its importance in cancer immunotherapy. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 1124. doi: 10.3389/fimmu.2017.01124.
81. Peng L.S., Zhang J.Y., Teng Y.S., Zhao Y.L., Wang T.T., Mao F.Y., Lv Y.P., Cheng P., Li W.H., Chen N., Duan M., Chen W., Guo G., Zou Q.M., Zhuang Y. Tumor-Associated Monocytes/Macrophages Impair NK-Cell Function via TGFbeta1 in Human Gastric Cancer. *Cancer Immunol. Res.*, 2017, Vol. 5, no. 3, pp. 248-256.
82. Piersma S.J., Brizic I. Natural killer cell effector functions in antiviral defense. *FEBS J.*, 2022, Vol. 289, no. 14, pp. 3982-3999.
83. Platanitis E., Decker T. Regulatory networks involving STATs, IRFs, and NFkappaB in inflammation. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2542. doi: 10.3389/fimmu.2018.02542.
84. Qin X.Y., Shen H.H., Zhou W.J., Mei J., Lu H., Tan X.F., Zhu R., Zhou W.H., Li D.J., Zhang T., Ye J.F., Li M.Q. Insight of autophagy in spontaneous miscarriage. *Int. J. Biol. Sci.*, 2022, Vol. 18, no. 3, pp. 1150-1170.
85. Radomska-Lesniewska D.M., Bialoszewska A., Kaminski P. Angiogenic properties of NK cells in cancer and other angiogenesis-dependent diseases. *Cells*, 2021, Vol. 10, no. 7, 1621. doi: 10.3390/cells10071621.
86. Raghupathy R., Al Mutawa E., Makhseed M., Azizieh F., Szekeres-Bartho J. Modulation of cytokine production by dydrogesterone in lymphocytes from women with recurrent miscarriage. *BJOG*, 2005, Vol. 112, no. 8, pp. 1096-1101.
87. Raza A., Rossi G.R., Janjua T.I., Souza-Fonseca-Guimaraes F., Popat A. Nanobiomaterials to modulate natural killer cell responses for effective cancer immunotherapy. *Trends Biotechnol.*, 2023, Vol. 41, no. 1, pp. 77-92.
88. Renaud S.J., Graham C.H. The role of macrophages in utero-placental interactions during normal and pathological pregnancy. *Immunol. Invest.*, 2008, Vol. 37, no. 5, pp. 535-564.
89. Robinson D.P., Klein S.L. Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. *Horm. Behav.*, 2012, Vol. 62, no. 3, pp. 263-271.
90. Roszer T. Understanding the mysterious M2 macrophage through activation markers and effector mechanisms. *Mediators Inflamm.*, 2015, Vol. 2015, 816460. doi: 10.1155/2015/816460.
91. Sanmarco L.M., Eberhardt N., Ponce N.E., Cano R.C., Bonacci G., Aoki M.P. New Insights into the immunobiology of mononuclear phagocytic cells and their relevance to the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 1921. doi: 10.3389/fimmu.2017.01921.
92. Shapouri-Moghaddam A., Mohammadian S., Vazini H., Taghadosi M., Esmaceli S.A., Mardani F., Seifi B., Mohammadi A., Afshari J.T., Sahebkar A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J. Cell. Physiol.*, 2018, Vol. 233, no. 9, pp. 6425-6440.
93. Sharkey A.M., Xiong S., Kennedy P.R., Gardner L., Farrell L.E., Chazara O., Ivarsson M.A., Hiby S.E., Colucci F., Moffett A. Tissue-specific education of decidual NK cells. *J. Immunol.*, 2015, Vol. 195, no. 7, pp. 3026-3032.
94. Shmeleva E.V., Colucci F. Maternal natural killer cells at the intersection between reproduction and mucosal immunity. *Mucosal Immunol.*, 2021, Vol. 14, no. 5, pp. 991-1005.
95. Simonetta F., Pradier A., Roosnek E. T-bet and eomesodermin in NK cell development, maturation, and function. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 241. doi: 10.3389/fimmu.2016.00241.
96. Socha M.W., Malinowski B., Puk O., Wartega M., Stankiewicz M., Kazdepka-Zieminska A., Wicinski M. The role of NF-kappaB in uterine spiral arteries remodeling, insight into the cornerstone of preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 2. doi: 10.3390/ijms22020704.
97. Sprangers S., de Vries T.J., Everts V. Monocyte heterogeneity: consequences for monocyte-derived immune cells. *J. Immunol. Res.*, 2016, Vol. 2016, 1475435. doi: 10.1155/2016/1475435.
98. Stojanovic A., Correia M.P., Cerwenka A. The NKG2D/NKG2DL Axis in the crosstalk between lymphoid and myeloid cells in health and disease. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 827. doi: 10.3389/fimmu.2018.00827.
99. Sun F., Wang S., Du M. Functional regulation of decidual macrophages during pregnancy. *J. Reprod. Immunol.*, 2021, Vol. 143, 103264. doi: 10.1016/j.jri.2020.103264.
100. Svensson J., Jenmalm M.C., Matussek A., Geffers R., Berg G., Ernerudh J. Macrophages at the fetal-maternal interface express markers of alternative activation and are induced by M-CSF and IL-10. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 187, no. 7, pp. 3671-3682.
101. Tarannum M., Romee R. Cytokine-induced memory-like natural killer cells for cancer immunotherapy. *Stem Cell Res. Ther.*, 2021, Vol. 12, no. 1, 592. doi: 10.1186/s13287-021-02655-5.
102. Tsai Y.C., Tseng J.T., Wang C.Y., Su M.T., Huang J.Y., Kuo P.L. Medroxyprogesterone acetate drives M2 macrophage differentiation toward a phenotype of decidual macrophage. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2017, Vol. 452, pp. 74-83.
103. Tsuchiya S., Yamabe M., Yamaguchi Y., Kobayashi Y., Konno T., Tada K. Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1). *Int. J. Cancer*, 1980, Vol. 26, no. 2, pp. 171-176.

104. Valledor A.F., Comalada M., Santamaria-Babi L.F., Lloberas J., Celada A. Macrophage proinflammatory activation and deactivation: a question of balance. *Adv. Immunol.*, 2010, Vol. 108, pp. 1-20.
105. van Acker H.H., Capsomidis A., Smits E.L., van Tendeloo V.F. CD56 in the immune system: more than a marker for cytotoxicity? *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 892. doi: 10.3389/fimmu.2017.00892.
106. van Furth R., Cohn Z.A., Hirsch J.G., Humphrey J.H., Spector W.G., Langevoort H.L. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull World Health Organ*, 1972, Vol. 46, no. 6, pp. 845-852.
107. Vishnyakova P., Elchaninov A., Fatkhudinov T., Sukhikh G. Role of the Monocyte-Macrophage System in Normal Pregnancy and Preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 15, 3695. doi: 10.3390/ijms20153695.
108. Vishnyakova P., Poltavets A., Nikitina M., Midiber K., Mikhaleva L., Muminova K., Potapova A., Khodzhaeva Z., Pyregov A., Elchaninov A., Fatkhudinov T., Sukhikh G. Expression of Estrogen Receptor alpha by Decidual Macrophages in Preeclampsia. *Biomedicines*, 2021, Vol. 9, no. 2, 191. doi: 10.3390/biomedicines9020191.
109. Vitale M., Cantoni C., Pietra G., Mingari M.C., Moretta L. Effect of tumor cells and tumor microenvironment on NK-cell function. *Eur. J. Immunol.*, 2014, Vol. 44, no. 6, pp. 1582-1592.
110. Vivier E., Raulet D.H., Moretta A., Caligiuri M.A., Zitvogel L., Lanier L.L., Yokoyama W.M., Ugolini S. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*, 2011, Vol. 331, no. 6013, pp. 44-49.
111. Wang W., Sung N., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim J. T Helper (Th) Cell Profiles in Pregnancy and Recurrent Pregnancy Losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Tfh Cells. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 2025. doi: 10.3389/fimmu.2020.02025.
112. Wang X., Xiong H., Ning Z. Implications of NKG2A in immunity and immune-mediated diseases. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 960852. doi: 10.3389/fimmu.2022.960852.
113. Wang X., Zhao X.Y. Transcription factors associated with IL-15 cytokine signaling during NK cell development. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 610789. doi: 10.3389/fimmu.2021.610789.
114. Wang X.Q., Zhou W.J., Hou X.X., Fu Q., Li D.J. Trophoblast-derived CXCL16 induces M2 macrophage polarization that in turn inactivates NK cells at the maternal-fetal interface. *Cell. Mol. Immunol.*, 2018, Vol. 15, no. 12, pp. 1038-1046.
115. Wheeler K.C., Jena M.K., Pradhan B.S., Nayak N., Das S., Hsu C.D., Wheeler D.S., Chen K., Nayak N.R. VEGF may contribute to macrophage recruitment and M2 polarization in the decidua. *PLoS One*, 2018, Vol. 13, no. 1, e0191040. doi: 10.1371/journal.pone.0191040.
116. Wong K.L., Yeap W.H., Tai J.J., Ong S.M., Dang T.M., Wong S.C. The three human monocyte subsets: implications for health and disease. *Immunol. Res.*, 2012, Vol. 53, no. 1-3, pp. 41-57.
117. Wu J., He S., Song Z., Chen S., Lin X., Sun H., Zhou P., Peng Q., Du S., Zheng S., Liu X. Macrophage polarization states in atherosclerosis. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1185587. doi: 10.3389/fimmu.2023.1185587.
118. Wu M.F., Lin C.A., Yuan T.H., Yeh H.Y., Su S.F., Guo C.L., Chang G.C., Li K.C., Ho C.C., Chen H.W. The M1/M2 spectrum and plasticity of malignant pleural effusion-macrophage in advanced lung cancer. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2021, Vol. 70, no. 5, pp. 1435-1450.
119. Wu Y., Kuang D.M., Pan W.D., Wan Y.L., Lao X.M., Wang D., Li X.F., Zheng L. Monocyte/macrophage-elicited natural killer cell dysfunction in hepatocellular carcinoma is mediated by CD48/2B4 interactions. *Hepatology*, 2013, Vol. 57, no. 3, pp. 1107-1116.
120. Wu Y., Tian Z., Wei H. Developmental and functional control of natural killer cells by cytokines. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 930. doi: 10.3389/fimmu.2017.00930.
121. Wu Z.M., Yang H., Li M., Yeh C.C., Schatz F., Lockwood C.J., Di W., Huang S.J. Pro-inflammatory cytokine-stimulated first trimester decidual cells enhance macrophage-induced apoptosis of extravillous trophoblasts. *Placenta*, 2012, Vol. 33, no. 3, pp. 188-194.
122. Xia T., Zhang M., Lei W., Yang R., Fu S., Fan Z., Yang Y., Zhang T. Advances in the role of STAT3 in macrophage polarization. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1160719. doi: 10.3389/fimmu.2023.1160719.
123. Xu Y.Y., Wang S.C., Li D.J., Du M.R. Co-signaling molecules in maternal-fetal immunity. *Trends Mol. Med.*, 2017, Vol. 23, no. 1, pp. 46-58.
124. Yakupova E.I., Maleev G.V., Krivtsov A.V., Plotnikov E.Y. Macrophage polarization in hypoxia and ischemia/reperfusion: Insights into the role of energetic metabolism. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2022, Vol. 247, no. 11, pp. 958-971.
125. Yao Y., Xu X.H., Jin L. Macrophage polarization in physiological and pathological pregnancy. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 792. doi: 10.3389/fimmu.2019.00792.
126. Yu S., Ge H., Li S., Qiu H.J. Modulation of macrophage polarization by viruses: turning off/on host antiviral responses. *Front. Microbiol.*, 2022, Vol. 13, 839585. doi: 10.3389/fmicb.2022.839585.
127. Zha Y., Liu H., Lin X., Yu L., Gao P., Li Y., Wu M., Gong X., Bian X., Kang Q., Zhi P., Dang X., Wang J., Feng L., Qiao F., Huang Y., Zeng W. Immune deviation in the decidua during term and preterm labor. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 877314. doi: 10.3389/fimmu.2022.877314.
128. Zhang F., Wang H., Wang X., Jiang G., Liu H., Zhang G., Wang H., Fang R., Bu X., Cai S., Du J. TGF-beta induces M2-like macrophage polarization via SNAIL-mediated suppression of a pro-inflammatory phenotype. *Oncotarget*, 2016, Vol. 7, no. 32, pp. 52294-52306.
129. Zhang J., Le Gras S., Pouxvielh K., Faure F., Fallone L., Kern N., Moreews M., Mathieu A.L., Schneider R., Marliac Q., Jung M., Berton A., Hayek S., Vidalain P.O., Marçais A., Dodard G., Dejean A., Brossay L., Ghavi-

Helm Y., Walzer T. Sequential actions of EOMES and T-BET promote stepwise maturation of natural killer cells. *Nat. Commun.*, 2021, Vol. 12, no. 1, 5446. doi: 10.1038/s41467-021-25758-2.

130. Zhang J., Rousseaux N., Walzer T. Eomes and T-bet, a dynamic duo regulating NK cell differentiation. *Bioessays*, 2022, Vol. 44, no. 3, e2100281. doi: 10.1002/bies.202100281.

131. Zhang L., Mamillapalli R., Habata S., McAdow M., Taylor H.S. Myometrial-derived CXCL12 promotes lipopolysaccharide induced preterm labour by regulating macrophage migration, polarization and function in mice. *J. Cell. Mol. Med.*, 2022, Vol. 26, no. 9, pp. 2566-2578.

132. Zhang M., Cui D., Yang H. The distributional characteristics of M2 macrophages in the placental chorionic villi are altered among the term pregnant women with uncontrolled type 2 diabetes mellitus. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 837391. doi: 10.3389/fimmu.2022.837391.

133. Zhang Q., Sioud M. Tumor-associated macrophage subsets: shaping polarization and targeting. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 8, 7493. doi: 10.3390/ijms24087493.

134. Zhang S., Ding J., Zhang Y., Liu S., Yang J., Yin T. Regulation and function of chemokines at the maternal-fetal interface. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2022, Vol. 10, 826053. doi: 10.3389/fcell.2022.826053.

135. Zhang Y.H., Aldo P., You Y., Ding J., Kaislasuo J., Petersen J.F., Lokkegaard E., Peng G., Paidas M.J., Simpson S., Pal L., Guller S., Liu H., Liao A.H., Mor G. Trophoblast-secreted soluble-PD-L1 modulates macrophage polarization and function. *J. Leukoc. Biol.*, 2020, Vol. 108, no. 3, pp. 983-998.

136. Zhang Y.H., He M., Wang Y., Liao A.H. Modulators of the balance between M1 and M2 macrophages during pregnancy. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 120. doi: 10.3389/fimmu.2017.00120.

137. Zwirner N.W., Ziblat A. Regulation of NK cell activation and effector functions by the IL-12 family of cytokines: the case of IL-27. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 25. doi: 10.3389/fimmu.2017.00025.

---

**Авторы:**

**Жгулева А.С.** — лаборант-исследователь, лаборатория межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

**Зементова М.С.** — лаборант-исследователь, лаборатория межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

**Сельков С.А.** — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Соколов Д.И.** — д.б.н., профессор, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Authors:**

**Zhguleva A.S.**, Assistant, Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

**Zementova M.S.**, Assistant, Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russian Federation

**Selkov S.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Sokolov D.I.**, PhD, MD (Biology), Professor, Head, Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 01.06.2023

Отправлена на доработку 04.10.2023

Принята к печати 23.11.2023

Received 01.06.2023

Revision received 04.10.2023

Accepted 23.11.2023