

Сведения о ходе выполнения проекта  
**«Молекулярный механизм действия регуляторных белков макрофагов второго  
типа на формирование опухолевого микроокружения и прогрессию опухолей»**  
поддержанного Российским научным фондом

Соглашение № 14-15-00350

Руководитель д-р биол. наук Кжышковска Юлия Георгиевна

**2015 год**

За отчетный период нами были установлены новые функции хитиназоподобных белков SI-CLP и YKL39, секретируемых альтернативно-активированными макрофагами и экспрессирующихся в макрофагах, ассоциированных с опухолью (MAO). С использованием функциональных модельных систем *ex vivo*, основанных на первичных макрофагах человека было показано, что SI-CLP и YKL39 оказывают противоположный эффект на миграцию моноцитов. Так, было установлено, что SI-CLP блокирует миграцию моноцитов, в том числе простимулированную MCP-1, основным хемоаттрактантом, привлекающим моноциты в опухолевую ткань, в то время как YKL-39, независимо от MCP-1, обладает самостоятельной хемотактической активностью для моноцитов. Далее, при помощи конфокальной микроскопии и проточной цитометрии было показано, что SI-CLP, в отличие от YKL39, способен снижать эндоцитоз растворимого компонента внеклеточного матрикса SPARC, являющегося негативным регулятором роста карциномы молочной железы. Повышение концентрации SPARC во внеклеточном пространстве объясняет обнаруженную нами при иммуногистохимическом исследовании обратную корреляцию между размером новообразования и выраженностью экспрессии SI-CLP. Так же впервые было показано, что стабиллин-1 позитивные альтернативно-активированные макрофаги способны эндоцитировать внеклеточный YKL39 параллельно со SPARC. С помощью иммуногистохимической окраски и статистической обработки данных ИГХ были установлены ассоциации субпопуляций макрофагов 2 типа с клиническими параметрами роста и метастазирования опухолей молочной железы у больных, получавших неoadъювантную химиотерапию. Найдена тенденция к обратной корреляции между размером новообразования и выраженностью экспрессии SI-CLP в макрофагах, располагающихся между клетками паренхиматозных структур опухоли. Сопоставление экспрессии CD68 в клетках воспалительного инфильтрата опухоли с наличием метастатического поражения регионарных лимфатических узлов показало, что в случаях с наличием лимфогенных метастазов средний балл экспрессии CD68 в клетках, располагающихся между клетками паренхиматозных структур, был ниже, в сравнении со случаями с негативными лимфоузлами. Была также выявлена прямая корреляция между количеством лимфоузлов с метастазами и выраженностью экспрессии CD68 в клетках воспалительного инфильтрата, располагающихся в грубоволокнистой строме и между клетками паренхиматозных структур, а также между количеством лимфоузлов с метастазами и выраженностью экспрессии стабиллина-1 в клетках воспалительного инфильтрата, располагающихся в грубоволокнистой строме. Эти данные указывают на то, что MAO в данных втуморных структурах уже перепрограммированы опухолью для поддержки функции метастазирования. Было установлено, что основной структурой локализации YKL-39 позитивных клеток является нежнволокнистая строма. При помощи количественного анализа ПЦР в режиме реального времени показало, что при низком уровне YKL-39 повышается вероятность

лимфогенного метастазирования. В соответствии с опубликованными нами данными об обратной корреляции количества CD68+ макрофагов в нежнволокнуистой строме с лимфогенным метастазированием (Buldaikov M, et al, Immunobiology. 2015 doi: 10.1016/j.imbio.2015.09.011) мы выдвигаем гипотезу, что YKL39 может оказывать протективное действие на развитие опухоли и лимфогенное метастазирование, привлекая моноциты, которые прошли дифференцировку в CD68+ макрофаги, сохранили противоопухолевые свойства и не перепрограммированы опухолевыми клетками в MAO. Мы предполагаем, что макрофаги, находящиеся в нежнволокнуистой строме имеют специфический фенотип, определяющий их противоопухолевые свойства, и это вопрос требует дальнейшего изучения. Методом конфокальной микроскопии для рака молочной железы, кишечника и печени было показано наличие нескольких фенотипов MAO. В ткани рака молочной железы преобладает фенотип CD68+/YKL39-; YKL39+/стабилин-1+; YKL39+/SI-CLP+. Для рака кишечника характерными фенотипами являются CD68+/YKL39-; YKL39+/стабилин-1- и YKL39+/SI-CLP+. В ткани рака печени наибольший процент клеток носит фенотип CD68+/YKL39-; YKL39-/стабилин-1+; YKL39+/SI-CLP+ и YKL39+/SI-CLP-. При этом в опухолевой ткани кишечника количество клеток, экспрессирующих высокий уровень SI-CLP, было выше по сравнению с раком молочной железы, что соответствует литературным данным о противоопухолевой активности MAO при карциноме кишечника в мышинных моделях. Обнаруженный нами негативный эффект SI-CLP на хемотаксис моноцитов является одним из возможным механизмов противоопухолевого действия SI-CLP-секретирующих MAO. Таким образом, нами было впервые показано, что секретируемые MAO хитиназоподобные белки SI-CLP и YKL39, могут обладать противоопухолевой активностью, которая зависит от индивидуальных эффектов на клеточные функции (активация или блокировка миграции моноцитов, влияние на эндоцитоз в MAO), от локализации SI-CLP+ и YKL39+ макрофагов в специфических внутриопухолевых структурах, а так же от типа опухолей.