

## РАСТВОРИМЫЕ ФАКТОРЫ МАКРОФАГОВ ЧЕЛОВЕКА СПОСОБНЫ ИНГИБИРОВАТЬ TGF- $\beta$ -ИНДУЦИРОВАННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ФИБРОБЛАСТОВ ЛЕГКИХ

Максимова А.А., Шевела Е.Я., Сахно Л.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,  
г. Новосибирск, Россия

**Резюме.** Макрофаги являются ключевыми клетками-регуляторами фиброгенеза и благодаря своей пластичности и гетерогенности способны оказывать как про-, так и антифиброгенное действие. В некоторых работах был продемонстрирован антифиброгенный потенциал макрофагов в отношении фибробластов дермы, однако влияние макрофагов на функции фибробластов легких остается неисследованным. Таким образом, целью данного исследования являлось изучение влияния кондиционных сред макрофагов человека, дифференцированных M-CSF/GM-CSF и далее поляризованных дексаметазоном/неполяризованных на TGF- $\beta$ -индуцированную дифференцировку фибробластов легких. Макрофаги генерировали из моноцитов периферической крови условно здоровых доноров в присутствии M-CSF или GM-CSF в течение 7 дней. На 5-й день добавляли дексаметазон с целью получения поляризованных макрофагов M-M(Dex) и GM-M(Dex), которые сравнивали с непольризованными M-M0 и GM-M0, к которым не добавляли дексаметазон. Далее собирали кондиционную среду макрофагов указанных подтипов, которую тестировали по способности ингибировать дифференцировку фибробластов легких (клеточная линия HLF210). Для этого к культурам фибробластов одномоментно добавляли TGF- $\beta$  (индуцирующий фактор дифференцировки) и кондиционную среду макрофагов. Дифференцировку оценивали по уровню экспрессии маркера миофибробластов  $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA) и продукции белка внеклеточного матрикса — коллагена I типа. Анализ  $\alpha$ -SMA был выполнен при помощи проточной цитометрии. Содержание коллагена I типа определяли иммуноферментным методом. Оценку экспрессии  $\alpha$ -SMA проводили с использованием 3D-культур фибробластов, поскольку полученные нами данные демонстрируют, что при стандартном культивировании происходит спонтанная активация фибробластов, тогда как в 3D-культурах количество  $\alpha$ -SMA-позитивных клеток значительно меньше, что свидетельствует о более физиологичном росте клеток. Кондиционные среды дексаметазон-поляризованных макрофагов, независимо от дифференцировочного стимула, не влияли значимо на экспрессию  $\alpha$ -SMA, а также уровень продукции коллагена I типа клетками HLF210. Напротив, растворимые факторы M-M0 оказывали выраженный

### Адрес для переписки:

Максимова Александра Александровна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фундаментальной и клинической иммунологии»  
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: 8 (383) 236-03-29.  
E-mail: parkinson.dses@gmail.com

### Address for correspondence:

Aleksandra A. Maksimova  
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology  
14 Yadrintsevskaya St  
Novosibirsk  
630099 Russian Federation  
Phone: +7 (383) 236-03-29.  
E-mail: parkinson.dses@gmail.com

### Образец цитирования:

А.А. Максимова, Е.Я. Шевела, Л.В. Сахно  
«Растворимые факторы макрофагов человека  
способны ингибировать TGF- $\beta$ -индуцированную  
дифференцировку фибробластов легких»  
// Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 4.  
С. 649-656. doi: 10.15789/1563-0625-SHM-16666  
© Максимова А.А. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

A.A. Maksimova, E.Ya. Shevela, L.V. Sakhno “Soluble  
human macrophage factors are able to inhibit TGF- $\beta$ -induced  
differentiation of lung fibroblasts”, Medical Immunology  
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 4,  
pp. 649-656.  
doi: 10.15789/1563-0625-SHM-16666  
© Maksimova A.A. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.15789/1563-0625-SHM-16666

ингибирующий эффект, приводя к снижению количества фибробластов, экспрессирующих маркер миофибробластов, а также к снижению содержания коллагена I типа в исследуемых культурах фибробластов. При этом GM-M0 не обладали таковым эффектом и, подобно поляризованным макрофагам, не ингибировали дифференцировку фибробластов легких. В целом, полученные результаты свидетельствуют о возможном антифиброгенном потенциале M-M0 макрофагов. При этом отсутствие такового эффекта в GM-M0 макрофагах свидетельствует о важном вкладе дифференцировочного фактора в формирование антифиброгенного фенотипа макрофагов.

*Ключевые слова:* макрофаги, фибробласты, кондиционные среды, антифиброгенная активность, коллаген,  $\alpha$ -гладкомышечный актин

## SOLUBLE HUMAN MACROPHAGE FACTORS ARE ABLE TO INHIBIT TGF- $\beta$ -INDUCED DIFFERENTIATION OF LUNG FIBROBLASTS

Maksimova A.A., Shevela E.Ya., Sakhno L.V.

*Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation*

**Abstract.** Macrophages are key regulatory cells of fibrogenesis. They can have pro- or antifibrotic activity due to their plasticity and heterogeneity. Some studies have shown the antifibrotic effect of macrophages on dermal fibroblasts, but the effect of macrophages on the lung fibroblast functions remains unexplored. Therefore, the purpose of this study was to examine the influence of conditioned media of human macrophage differentiated by M-CSF/GM-CSF and further dexamethasone polarized/unpolarized on the TGF- $\beta$ -induced lung fibroblast differentiation. Macrophages were derived from peripheral blood monocytes of healthy donors. Monocytes were differentiated by M-CSF or GM-CSF for 7 days. On day 5, dexamethasone was added to generation of polarized macrophages M-M(Dex) and GM-M(Dex). Polarized macrophages were compared with non-polarized M-M0 and GM-M0, to which dexamethasone was not added. Next, the conditioned medium of these macrophage subtypes was collected and tested for inhibition the lung fibroblast differentiation (HLF210 cell line). To do this, TGF- $\beta$  (inducing differentiation factor) and conditioned macrophage medium were added to fibroblast cultures. Effectiveness of differentiation was estimated by the expression of the myofibroblast marker,  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), and the production of extracellular matrix protein, collagen I. The expression of  $\alpha$ -SMA was determined using flow cytometry. The concentration of collagen I was measured by ELISA. Since our data indicates that spontaneous activation of fibroblasts occurs during standard cultivation, the  $\alpha$ -SMA expression was investigated in 3D culture of fibroblasts. Notably, the content of  $\alpha$ -SMA-positive cells in 3D cultures was significantly reduced, indicating more physiological growth cells. Regardless of the differentiation stimulus, the conditioned media of dexamethasone-polarized macrophages do not affect the level of collagen I production or the  $\alpha$ -SMA expression. On the contrary, M-M0 showed a strong inhibitory effect that reduced the amount of collagen I in the fibroblast cultures and the expression of marker myofibroblasts by fibroblasts. Interesting, GM-M0 had no such effect and did not prevent lung fibroblast differentiation like polarized cells. Taken together, the findings suggest that M-M0 macrophages may have antifibrotic properties. Furthermore, the lack of this effect in GM-M0 macrophages indicates that the differentiation factor plays a significant role in the development of the antifibrotic macrophage phenotype.

*Keywords:* macrophages, fibroblasts, conditioned media, antifibrotic activity, collagen,  $\alpha$ -smooth actin

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 23-25-00349, <https://rscf.ru/project/23-25-00349>.

### Введение

Легочный фиброз представляет собой полиэтиологическую патологию, характеризующуюся разрастанием соединительной ткани в легких.

Долгое время считалось, что фиброз необратим, но некоторые эксперименты *in vivo* и известные случаи регрессии фиброза легких у людей [3, 4, 8] доказывают, что это не так. Тем не менее эффективного лекарства, которое могло бы помочь обратить процесс вспять, на данный момент не существует, а известные антифибротические пре-

параты, такие как пирфенидон и нинтеданиб, замедляют прогрессирование фиброза, а не способствуют его разрешению. Поэтому поиск терапевтических методов, которые позволили бы предотвратить развитие фиброза и восстановить нормальную структуру легочной ткани, является актуальным. Определенные надежды связывают с развитием клеточной терапии, направленной на перепрограммирование макрофагов или использование макрофагов с антифиброгенными свойствами [11].

Макрофаги являются гетерогенной и высокопластичной популяцией клеток. В рамках концепции влияния на процесс воспаления выделяют М1- и М2-макрофаги с провоспалительными и противовоспалительными свойствами соответственно. Кроме того, в настоящий момент известно, что подмножества М1- и М2-макрофагов гетерогенны и в зависимости от стимулов, которые формируют функциональный фенотип макрофагов, могут проявлять различную активность. Так, например, в отношении фибротического процесса М2-макрофаги, поляризованные IL-4 (так называемые М2а) и/или IL-13, обладают профиброгенным действием, стимулируя активность фибробластов кожи, тогда как М2-макрофаги, поляризованные IL-10 (М2с), проявляют антифиброгенные свойства [10]. Однако влияние макрофагов человека на дифференцировку легочных фибробластов остается неизученным.

Данное исследование нацелено на изучение влияния кондиционных сред макрофагов человека на способность фибробластов легких активироваться под влиянием профиброгенных стимулов, что *in vitro* модулирует раннюю стадию формирования фиброза. Миофибробласты, образующиеся из фибробластов в результате их дифференцировки, являются ключевыми клетками в фиброзном процессе [1]. Они характеризуются активной продукцией внеклеточного матрикса (ВКМ), в первую очередь — коллагена, экспрессией  $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA) и виментина, а также способностью к сократимости [1]. Основным фактором, индуцирующим дифференцировку фибробластов в миофибробласты, является TGF- $\beta$  [7]. Таким образом, для того, чтобы оценить способность макрофагов ингибировать дифференцировку фибробластов, в культуры фибробластов, наряду с TGF- $\beta$ , добавляли кондиционные среды различно активированных макрофагов.

Согласно полученным нами ранее данным, макрофаги, поляризованные дексаметазоном М(Dex), характеризуются низкой TGF- $\beta$ -продуцирующей активностью, что в совокупности с активной продукцией MMP и низким уровнем TIMP-1, а также минимальным влиянием на

дифференцировку и коллаген-продуцирующую активность фибробластов дермы, может указывать на их антифиброгенный потенциал. Кроме того, в некоторых исследованиях было показано, что неполяризованные макрофаги (M0) также могут обладать антифиброгенными свойствами [2, 14]. Таким образом, данное исследование было сосредоточено на макрофагах человека, дифференцированных в присутствии М-CSF и GM-CSF, и далее поляризованных дексаметазоном/неполяризованных, как клетках с потенциальной антифиброгенной активностью.

## Материалы и методы

Макрофаги генерировали из моноцитов периферической крови. Моноциты выделяли с помощью RosetteSep Human Monocyte Enrichment Cocktail (STEMCELL technologies, Канада) в соответствии с инструкцией производителя. Кратко, к 15 мл цельной крови здоровых доноров добавляли ЭДТА до конечной концентрации 1 мМ, а также RosetteSep Cocktail в концентрации 50 мкл/мл, и инкубировали при комнатной температуре 20 минут. После этого кровь разбавляли эквивалентным объемом забуференного фосфатами физиологического раствора (ЗФР) и центрифугировали в градиенте плотности фиколла-верографина. Интерфазу, обогащенную моноцитами, собирали и двукратно отмывали с помощью ЗФР. Далее клеточную взвесь, обогащенную моноцитами, помещали в 12-тилуночные планшеты (TPP, Швейцария) в среде RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия), дополненной 0,05 мМ 2-меркаптоэтанола, 2 мМ пирувата натрия, 0,3 мг/мл L-глутамина, 1% незаменимых аминокислот (все реагенты Sigma-Aldrich, США), 10% FBS (Gibco, Великобритания) и 50 нг/мл рекомбинантного М-CSF или GM-CSF (все производства Sigma-Aldrich, США) и культивировали в течение 7 дней при 37 °С, 5% CO<sub>2</sub>, 95% влажности. На 5-й день в среду добавляли дексаметазон в концентрации 50 нг/мл (KRKA, Словения); полученные макрофаги были обозначены как М-M(Dex) и GM-M(Dex) в соответствии с дифференцировочным фактором. Неполяризованные клетки (М-M0 и GM-M0) генерировали без добавления дексаметазона. По окончании срока культивирования макрофаги получали при помощи механической диссоциации, подсчитывали количество клеток и определяли их жизнеспособность (по исключению трипанового синего). Супернатанты собирали, центрифугировали, подвергали стерилизующей фильтрации, криоконсервировали и хранили при температуре -80 °С.

Источником фибробластов служила линия легочных фибробластов взрослого HLF210, которая была любезно предоставлена Институтом ре-



генеративной медицины, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова.

Стандартное культивирование фибробластов (2D) осуществляли в 24-луночной планшете (TPP, Швейцария) в количестве  $150 \times 10^3$  клеток/лунку в среде DMEM/F12 (ООО «БиолоТ», Россия) и 5% FBS (Gibco, США) или кондиционной среде макрофагов в течение 5 дней.

3D-культивирование фибробластов производили в коллагеновом геле плотностью 2 мг/мл (Институт Цитологии, Россия), используя аналогичную концентрацию клеток, в 24-луночной планшете (TPP, Швейцария) в среде DMEM/F12 (ООО «БиолоТ», Россия) и 5% FBS (Gibco, США) или кондиционной среде макрофагов.

Дифференцировку фибробластов в 2D/3D-культурах индуцировали с помощью 20 нг/мл TGF- $\beta$  (PeproTech, Великобритания), который вносили в 1-й день культивирования одновременно с кондиционной средой макрофагов/стандартной средой; в качестве контроля использовали культуры фибробластов без TGF- $\beta$ . Внутриклеточную экспрессию  $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA) в 3D-культурах оценивали после расщепления коллагеновой матрицы с помощью коллагеназы (Sigma-Aldrich, США), используя APC-конъюгированные антитела к  $\alpha$ -SMA (R&D Systems, США). Уровень экспрессии  $\alpha$ -SMA анализировали методом проточной цитофлуориметрии (FACS Calibur, Becton Dickinson, США) с использованием ПО Cell Quest (Becton Dickinson, США).

Уровень продукции коллагена I типа клетками линии HLF210 определяли с помощью Human Collagen Type I Alpha 1 ELISA Kit (Wuhan Fine Biotech Co., Китай) в соответствии с инструкцией производителя.

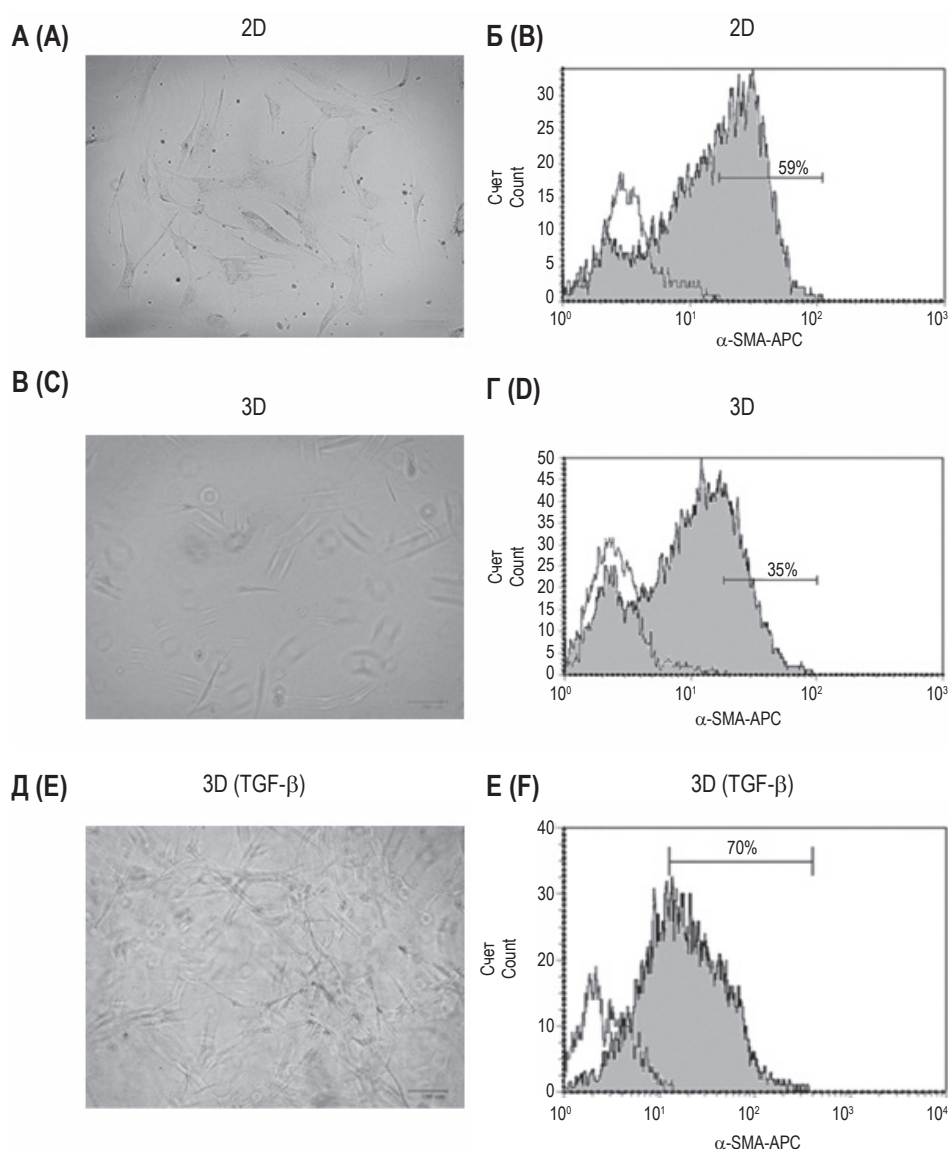
Статистическую обработку полученных результатов производили с помощью программного обеспечения STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде индивидуальных значений и медиан с указанием интерквартильных диапазонов — Me ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ ). Значимость различий сравниваемых групп оценивали с помощью критерия Вилкоксона для связанных выборок; различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Настоящее исследование было направлено на изучение влияния кондиционных сред макрофагов на дифференцировку фибробластов легких. Первой задачей являлась оценка уровня экспрессии фибробластами легких  $\alpha$ -SMA, важного маркера, отражающего переход клеток к миофибробластному фенотипу. Учитывая известные ранее данные о частичной активации фибробластов сердца при взаимодействии с

пластиком [5], нами было решено сравнить экспрессию  $\alpha$ -SMA фибробластами легких HLF210 в 2D- и 3D-культурах. Как видно из рисунка 1Г и Д, содержание  $\alpha$ -SMA-экспрессирующих клеток при культивировании фибробластов в виде 3D-структур было значительно ниже по сравнению с 2D-культурами (20–35% vs 60–65%). Более того, в двухмерных культурах фибробласты были более отростчатыми (рис. 1А), что характерно для активированных клеток, тогда как в коллагеновом геле клетки имели более естественную веретеновидную форму (рис. 1Б). Однако под влиянием TGF- $\beta$  клетки HLF210 в трехмерных культурах приобретали характерный миофибробластный фенотип (рис. 1Д и Е). Данные результаты согласуются с наблюдением Machahua С. и соавт., которые показали, что 3D-культивирование фибробластов легких может являться удобной моделью для изучения фиброза легких [6]. Таким образом, по-видимому, культивирование фибробластов в трехмерных культурах более физиологически релевантно по отношению к ситуации *in vivo*, поэтому анализ влияния макрофагов на экспрессию  $\alpha$ -SMA был проведен в 3D-культурах фибробластов.

Рисунок 2 демонстрирует влияние кондиционных сред исследуемых макрофагов на экспрессию  $\alpha$ -SMA. Видно, что добавление TGF- $\beta$  стимулировало экспрессию  $\alpha$ -SMA фибробластами легких, что отражено в значительном увеличении доли  $\alpha$ -SMA-экспрессирующих клеток (с 20% в контрольных культурах до 70–80% в присутствии TGF- $\beta$ ). При добавлении TGF- $\beta$  вместе с кондиционными средами макрофагов, поляризованных дексаметазоном, уровень  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> клеток не отличался от такового при добавлении одного только TGF- $\beta$ . Содержание  $\alpha$ -SMA-экспрессирующих клеток в присутствии кондиционных сред М-М(Dex) и GM-М(Dex) составляло, соответственно, 76,2 (73–77) % и 73 (63,5–80) % по сравнению с 77,5 (72,5–81) % в присутствии TGF- $\beta$ . Напротив, кондиционные среды М-М0 продемонстрировали способность к подавлению интенсивности TGF- $\beta$ -индуцированной дифференцировки фибробластов, о чем свидетельствовало практически двукратное снижение процента  $\alpha$ -SMA-позитивных клеток ( $p_w < 0,05$  по сравнению с TGF- $\beta$ -индуцированным контролем). Более того, хотя медианное значение и не достигало уровня нестимулированного контроля (20 (18–34) %), значимых различий содержания  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> клеток в присутствии кондиционных сред М-М0 обнаружено не было ( $p_w > 0,05$ ). Интересно, что GM-М0 в отличие от М-М0 не демонстрировали ингибирующий эффект. Доля  $\alpha$ -SMA-экспрессирующих (мио)фибробластов



**Рисунок 1. Сравнение культивирования клеток HLF210 в 2D- и 3D-культурах**

**Примечание.** А, В, Д – морфологическая картина культуры HLF210 при стандартном культивировании в виде 2D-монослоя и в виде 3D-структур в коллагеновом геле без/с добавлением в среду TGF-β. Б, Г, Е – данные проточной цитометрии по экспрессии α-SMA клетками HLF210 в 2D- и 3D-культурах без/с добавлением в среду TGF-β (репрезентативный эксперимент); серым обозначен эксперимент, черной линией – внутренний контроль (автофлуоресценция).

Figure 1. 2D and 3D cultures of HLF210 cells comparison

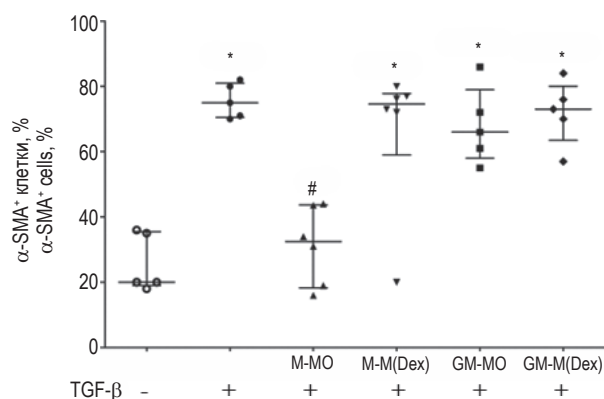
Note. A, B, C, HLF210 culture morphology in standard 2D monolayer and in the 3D structures in a collagen gel with or without TGF-β addition. D, E, F, flow cytometry data of the α-SMA expression by HLF210 cells in 2D and 3D cultures with or without TGF-β addition (representative experiment); the gray histogram indicates the experiment; the black line indicates the internal control (autofluorescence).

составляла 66,5 (58-79) %, что не отличалось значимо от TGF-β-индуцированных культур.

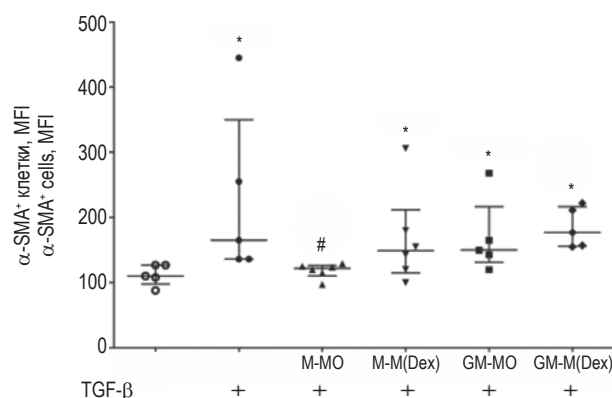
Функциональная активность миофибробластов определяется их способностью активно продуцировать компоненты внеклеточного матрикса [1], поэтому следующей задачей исследования являлась оценка продукции коллагена I типа клетками HLF210. Поскольку извлечение фибробластов из коллагеновой матрицы вклю-

чает этап обработки коллагеназой, что могло повлиять на содержание коллагена в супернатантах, анализ продукции коллагена проводился только в двухмерных культурах фибробластов. Подобно тому, как это было показано ранее в отношении α-SMA, TGF-β-индуцированная продукция коллагена клетками HLF210 в присутствии кондиционных сред М-М0 была ниже по сравнению с TGF-β-индуцированным контролем (54 (41,2-

А (А)



Б (В)



**Рисунок 2. Эффект влияния кондиционных сред макрофагов на экспрессию α-SMA клетками HLF210**

Примечание. А – доля α-SMA-экспрессирующих клеток в культурах фибробластов (в %), n = 5-6; Б – значение средней интенсивности флюоресценции α-SMA, n = 5-6; \* – статистически значимые различия с контролем ( $p_w < 0,05$ ); # – статистически значимые различия с TGF-β-индуцированным контролем ( $p_w < 0,05$ ).

Figure 2. Effect of macrophage conditioned media on the α-SMA expression by HLF210 cells

Note. A, the content of α-SMA-expressing cells in fibroblast cultures (%), n = 5-6; B, the mean fluorescence intensity of α-SMA, n = 5-6; \*, statistically significant difference compared to control ( $p_w < 0.05$ ); #, statistically significant difference compared to TGF-β-induced cultures ( $p_w < 0.05$ ).

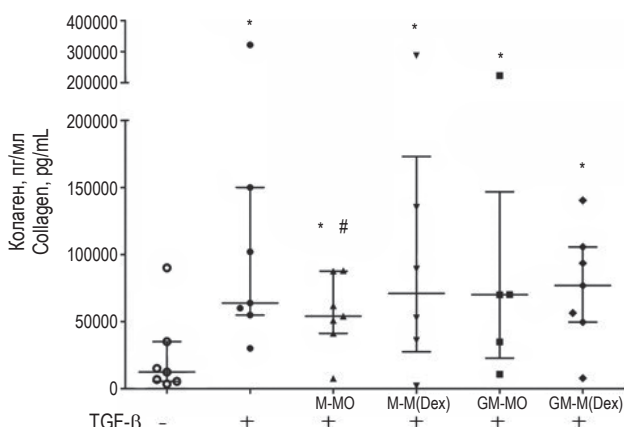
87,6) нг/мл vs 63,8 (54,8-150) нг/мл) ( $p_w = 0,07$ ) (рис. 3). В присутствии других кондиционных сред макрофагов значимых различий с TGF-β-индуцированными фибробластами не наблюдалось (70 (34,8-70,1) нг/мл, 71 (36-135,2) нг/мл и 76,8 (49,6-105,6) нг/мл при добавлении конди-

ционных сред GM-MO, M-M(Dex) и GM-M(Dex) соответственно).

Таким образом, в совокупности полученные данные указывают на то, что растворимые факторы M-MO макрофагов, в отличие от других исследуемых подтипов, способны подавлять TGF-β-индуцированную дифференцировку легочных фибробластов.

В литературе имеются единичные работы, характеризующие влияние макрофагов, генерируемых из моноцитов, на фибробласты легких. Так, Song и соавт. продемонстрировали, что различно активированные макрофаги способны оказывать разнонаправленное влияние на функциональную активность фибробластов [12]. Авторы показали, что макрофаги, поляризованные дексаметазоном, стимулируют пролиферацию и продукцию коллагена недифференцированными легочными фибробластами. Наше исследование дополняет эти данные, демонстрируя, что дексаметазон-поляризованные макрофаги, независимо от дифференцировочного стимула (M-CSF или GM-CSF), не способны ингибировать TGF-β-индуцированную дифференцировку фибробластов легких.

Ранее было показано, что макрофаги с M2c-фенотипом обладают антифиброгенными свойствами в отношении фибробластов дермы, по крайней мере, клетки, индуцированные IL-10 [10]. При этом M2c фенотип может быть также индуцирован глюкокортикоидами или TGF-β. Однако согласно полученным нами результатам, дексаметазон не направляет макрофаги в клетки с вы-



**Рисунок 3. Влияние кондиционных сред макрофагов на TGF-β-индуцированную продукцию коллагена клетками HLF210, n = 5-7**

Примечание. \* – статистически значимые различия с контролем ( $p_w < 0,05$ ), # – различия с TGF-β-индуцированным контролем на уровне тренда ( $p_w = 0,07$ ).

Figure 3. Effect of macrophage conditioned media on TGF-β-induced collagen production by HLF210 cells, n = 5-7

Note. \*, statistically significant difference compared to control ( $p_w < 0.05$ ); #, difference compared to TGF-β-induced cultures at the trend level ( $p_w = 0.07$ ).

раженным антифиброгенным потенциалом. Это согласуется с идеей гетерогенности макрофагов, отраженной в руководстве Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines, в котором рекомендовано указывать поляризующий стимул генерируемых макрофагов в скобках [9], а не использовать аббревиатуру M2a, M2b, M2c и т. д.

## Заключение

Полученные в данном исследовании данные, демонстрирующие ингибирование дифференцировки фибробластов растворимыми факторами макрофагов, дифференцированных в присутствии M-CSF, но не GM-CSF, свидетельствует о важной роли дифференцировочного фактора в

формировании функционального фенотипа макрофагов с антифиброгенными свойствами. Действительно, дифференцировочные факторы вносят значительный вклад в формирующийся фенотип макрофагов, что было отражено во многих исследованиях, сравнивающих макрофаги, генерируемые под влиянием M-CSF или GM-CSF [13, 15]. Механизмы антифиброгенной активности M-M0 макрофагов еще предстоит выяснить.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность Институту регенеративной медицины, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, за предоставление клеточной линии HLF210.

## Список литературы / References

1. Bagalad B.S., Mohan Kumar K.P., Puneeth H.K. Myofibroblasts: Master of disguise. *J. Oral Maxillofac. Pathol.*, 2017, Vol. 21, no. 3, pp. 462-463.
2. Brennan P.N., MacMillan M., Manship T., Moroni F., Glover A., Graham C., Semple S., Morris D.M., Fraser A.R., Pass C., McGowan N.W.A., Turner M.L., Lachlan N., Dillon J.F., Campbell J.D.M., Fallowfield J.A., Forbes S.J. Study protocol: a multicentre, open-label, parallel-group, phase 2, randomised controlled trial of autologous macrophage therapy for liver cirrhosis (MATCH). *BMJ Open*, 2021, Vol. 11, no. 11, e053190. doi: 10.1136/bmjopen-2021-053190.
3. Chang C.H., Juan Y.H., Hu H.C., Kao K.C., Lee C.S. Reversal of lung fibrosis: an unexpected finding in survivor of acute respiratory distress syndrome. *QJM*, 2018, Vol. 111, no. 1, pp. 47-48.
4. Koudelka A., Cechova V., Rojas M., Mitash N., Bondonese A., St Croix C., Ross M.A., Freeman B.A. Fatty acid nitroalkene reversal of established lung fibrosis. *Redox Biology*, 2022, Vol. 50, 102226. doi: 10.1016/j.redox.2021.102226.
5. Landry N.M., Rattan S.G., Dixon I.M.C. An improved method of maintaining primary murine cardiac fibroblasts in two-dimensional cell culture. *Sci. Rep.*, 2019, no. 9, 12889. doi: 10.1038/s41598-019-49285-9.
6. Machahua C., Vicens-Zygmunt V., Ríos-Martín J., Llatjós R., Escobar-Campuzano I., Molina-Molina M., Montes-Worboys A. Collagen 3D matrices as a model for the study of cell behavior in pulmonary fibrosis. *Exp. Lung Res.*, 2022, Vol. 48, no. 3, pp. 126-136.
7. Meng X.M., Nikolic-Paterson D.J., Lan H.Y. TGF- $\beta$ : the master regulator of fibrosis. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2016, Vol. 12, no. 6, pp. 325-338.
8. Mikkelsen L.F., Rubak S. Reversible lung fibrosis in a 6-year-old girl after long term nitrofurantoin treatment. *BMC Pulm. Med.*, 2020, Vol. 20, 313. doi: 10.1186/s12890-020-01353-x.
9. Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K., Fisher E.A., Gilroy D.W., Goerdt S., Gordon S., Hamilton J.A., Ivashkiv L.B., Lawrence T., Locati M., Mantovani A., Martinez F.O., Mege J.L., Mosser D.M., Natoli G., Saeij J.P., Schultze J.L., Shirey K.A., Sica A., Suttles J., Udalova I., van Ginderachter J.A., Vogel S.N., Wynn T.A. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 2014, Vol. 41, no. 1, pp. 14-20.
10. Sapudom J., Karaman S., Mohamed W.K.E., Garcia-Sabaté A., Quartey B.C., Teo J.C.M. 3D in vitro M2 macrophage model to mimic modulation of tissue repair. *NPJ Regen. Med.*, 2021, no. 6, 83. doi: 10.1038/s41536-021-00193-5.
11. Sari E., He C., Margaroli C. Plasticity towards rigidity: a macrophage conundrum in pulmonary fibrosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 19, 11443. doi: 10.3390/ijms231911443.
12. Song E., Ouyang N., Hörbelt M., Antus B., Wang M., Exton M.S. Influence of alternatively and classically activated macrophages on fibrogenic activities of human fibroblasts. *Cell. Immunol.*, 2000, Vol. 204, no. 1, pp. 19-28.
13. Tarique A.A., Logan J., Thomas E., Holt P.G., Sly P.D., Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2015, Vol. 53, no. 5, pp. 676-688.



14. Ullm F, Riedl P, Machado de Amorim A., Patzschke A., Weiß R., Hauschildt S., Franke K., Anderegg U., Pompe T. 3D scaffold-based macrophage fibroblast coculture model reveals IL-10 dependence of wound resolution phase. *Adv. Biosyst.*, 2020, Vol. 4, no. 1, e1900220. doi: 10.1002/adbi.201900220.
15. Xue J., Schmidt S.V., Sander J., Draffehn A., Krebs W., Quester I., de Nardo D., Gohel T.D., Emde M., Schmidleithner L., Ganesan H., Nino-Castro A., Mallmann M.R., Labzin L., Theis H., Kraut M., Beyer M., Latz E., Freeman T.C., Ulas T., Schultze J.L. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation. *Immunity*, 2014, Vol. 40, no. 2, pp. 274-288.

---

**Авторы:**

**Максимова А.А.** — к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Шевела Е.Я.** — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Сахно Л.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

---

**Authors:**

**Maksimova A.A.**, PhD (Medicine), Junior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Shevela E.Ya.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Sakhno L.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

---

Поступила 27.03.2024  
Отправлена на доработку 30.03.2024  
Принята к печати 01.04.2024

---

Received 27.03.2024  
Revision received 30.03.2024  
Accepted 01.04.2024