DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-163

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ АКТИВАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС

INVESTIGATION OF PRO-INFLAMMATORY MACROPHAGE ACTIVATION AND DIFFERENTIATION BY LC-MS ANALYSIS

О. В. Друсалевич, А. М. Рыскина, И. С. Кокаева, С. И. Ковальчук, И. В. Шелухина

Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

O. V. Drusalevich, A. M. Riskina, I. S. Kokaeva, S. I. Kovalchuk, I. V. Shelukhina

Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

✉ yaselodru@yandex.ru

Аннотация

В работе проведено исследование протеомных изменений при дифференцировке моноцитов линии THP-1 в макрофаги под действием форбол-12-мирристат-13-ацетата (PMA) и их последующей активации липополисахаридом (LPS) с использованием методов высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС).

Abstract

This study investigated proteomic changes during PMA-induced differentiation of THP-1 monocytes into macrophages and their subsequent LPS activation using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Through comprehensive proteomic profiling, we characterized molecular signatures associated with macrophage polarization, identifying key pathways involved in immune response regulation.

Макрофаги играют центральную роль в иммунном ответе, обеспечивая защиту организма от патогенов и участвуя в регуляции воспалительных процессов. В исследовании был проведен комплексный протеомный анализ клеток линии THP-1 с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрией (ВЭЖХ/МС), который позволил идентифицировать и количественно оценить 4534 белка в трех экспериментальных группах: недифференцированные клетки (Control); клетки, дифференцированные под действием форбол-12-мирристат-13-ацетата (PMA); макрофаги, активированные липополисахаридом (LPS). Для обработки полученных данных применялись современные биоинформатические инструменты: программы PEAKS Studio, MaxQuant и Perseus, а функциональная интерпретация результатов проводилась с использованием баз данных Gene Ontology и KEGG.

С помощью t-критерия Стьюдента был обнаружен 151 статистически значимый белок для групп сравнения PMA-Control и 225 статистически значимых LPS-Control. Анализ показал, что обработка PMA приводит к значительным изменениям в экспрессии белков, связанных с реорганизацией цитоскелета (актин, тубулин) и процессами клеточной адгезии, что подтверждается обогащением таких KEGG-путей, как «регуляция актинового цитоскелета», а также к активации пути Rap1 (VASP, VAV3, MAP2K3, ITGB1, RRAS, SRC, F2R, RAPGEF1, BCAR1), что объясняется способностью PMA активировать PKC-зависимые процессы, влияющие на клеточную морфологию, адгезию и миграцию [1].

В случае активации LPS наблюдались выраженные изменения в компонентах иммунного ответа, включая активацию NOD-like рецепторного сигнального пути (IFI16, OAS1, OAS2, RIPK2, OAS3, TXN, GBP2, ANTXR2, GBP1, IRGM, GBP4, IRF9), который играет центральную роль в формировании инфламмасомы и продукции провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-18) [2]. Также активация LPS приводит к усилению TNF-зависимых сигнальных каскадов (MAP2K3, TRAF1, JUNB, ICAM1), что соответствует классическому воспалительному ответу через TLR4/NF-κB [3]. Воздействие PMA (в меньшей степени) и LPS (в большей степени) приводит к активации TNF-сигнального пути (MAP2K3, MMP14, TRAF1, TNFRSF1B, JUNB, MMP9, ICAM1,TNFRSF1A), что свидетельствует о различной степени воспалительного ответа на разных стадиях дифференцировки. Интересным наблюдением стало неожиданное обогащение пути «инфекция вирусом папилломы человека», что может свидетельствовать о перекрестной активации противовирусных механизмов при бактериальном воспалении.

Полученные результаты демонстрируют принципиальные различия в клеточных ответах на PMA и LPS, что имеет важное значение для понимания роли макрофагов в иммунной защите и воспалительных процессах. Выяв-

© О. В. Друсалевич, А. М. Рыскина, И. С. Кокаева, С. И. Ковальчук, И. В. Шелухина, 2025

ленные закономерности открывают новые перспективы для разработки target-терапии хронических воспалительных заболеваний. В дальнейших исследованиях планируется расширить анализ за счет включения биологических повторностей и дополнительных методов валидации (например, вестерн-блоттинга) для уточнения функциональной роли идентифицированных белков-кандидатов. Проведенная работа вносит существенный вклад в фундаментальное понимание молекулярных механизмов дифференцировки и активации макрофагов и подтверждает высокую эффективность современных протеомных технологий для изучения сложных клеточных процессов.

Литература

1. Cai Y., Sukhova, G. K., Wong, H. K. et al. Rap1 induces cytokine production in pro-inflammatory macrophages through NFκB signaling and is highly expressed in human atherosclerotic lesions // Cell Cycle. 2015. Vol. 14 (22). P. 3580–3592. URL: https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1100771.

2. Chu J. Q., Shi G., Fan Y. M. et al. Production of IL-1β and Inflammasome with Up-Regulated Expressions of NOD-Like Receptor Related Genes in Toxoplasma gondii-Infected THP-1 Macrophages // Korean J. Parasitol. 2016. Vol. 54 (6). P. 711–717.

3. Liu T., Zhang L., Joo D. et al. NF-κB signaling in inflammation // Sig. Transduct. Target. Ther. 2017. Vol. 2. P. 17023. URL: https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23.