

Влияние генетической инактивации TNF на дифференцировку и выживание миелоидных клеток *in vitro*

Научный руководитель – Друцкая Марина Сергеевна

Гоголева В.С.¹, Атретханы К.Н.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

TNF - провоспалительный цитокин, нарушенная регуляция которого приводит к развитию таких аутоиммунных заболеваний, как артрит, псориаз и болезнь Крона. Фармакологическая блокировка TNF широко применяется в клинике, однако обладает рядом побочных эффектов [2]. В данной работе было изучено влияние генетической инактивации TNF на развитие миелоидных клеток *in vitro*.

В работе были изучены мыши, дефицитные по TNF (TNF KO) или его рецептору TNFR1 (TNFR1 KO), а также контрольные мыши дикого типа (WT). Клетки костного мозга из мышей трех генотипов культивировали в течение пяти дней в присутствии ростовых факторов, GM-CSF и IL-4, необходимых для поддержания и дифференцировки гранулоцитарно-макрофагальных клеток-предшественников. На 5-й день культивирования проводили цитофлуориметрический анализ и определяли состав популяции миелоидных клеток, уровни активных форм кислорода (ROS) и азота, а также клеточную гибель. Далее, проводили магнитную сепарацию незрелых миелоидных клеток для получения популяций гранулоцитов и моноцитов, в которых оценивали уровень экспрессии генов, кодирующих про- и антиапоптотические белки, методом ПЦР в реальном времени и уровень продукции участвующих в сигналинге TNF белков методом иммуноблоттинга.

В ходе работы было показано, что генетическая инактивация TNF или его рецептора приводит к гибели моноцитарной и накоплению гранулоцитарной популяции миелоидных клеток. Методом иммуноблоттинга было показано, что в гранулоцитах происходит большая по сравнению с моноцитами активация NF κ B, транскрипционного фактора, необходимого для пролиферации и выживания клеток. Помимо этого, мы обнаружили, что инактивация TNF приводит к снижению уровня ROS в популяции гранулоцитов, что может свидетельствовать о незрелости этих клеток в отсутствие TNF [1]. Повышенная гибель моноцитов при инактивации TNF или TNFR1 коррелировала с понижением уровня экспрессии генов, кодирующих антиапоптотические белки, таких как *Bcl*, *Bcl2l1*, *Bfl1*, *Birc3*. Таким образом, используя мышей с генетической инактивацией TNF, было показано, что TNF-опосредованный сигнальный путь участвует в регуляции миелопоэза, способствует выживанию моноцитов, а также может играть роль в дифференцировке предшественников гранулоцитов.

Анализ экспрессии генов поддержан программой фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013 - 2020 год (тема № 01201363822).

Источники и литература

- 1 Drutskaya MS, Ortiz M, Liepinsh DJ, Kuprash DV, Nedospasov SA, Keller JR. Inhibitory effects of tumor necrosis factor on hematopoiesis seen *in vitro* are translated to increased numbers of both committed and multipotent progenitors in TNF-deficient mice. *Exp Hematol*. 2005;33:1348-56.

2 Kalliolias GD, Ivashkiv LB. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. Nat Rev Rheumatol. 2016;12:49-62.