

МИКРОРНК И ГЕНЫ-МИШЕНИ КАК РЕГУЛЯТОРЫ ИММУННЫХ СИГНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

**Кит О.И., Гвалдин Д.Ю., Петрусенко Н.А., Тимошкина Н.Н.,
Савченко Д.А., Новикова И.А.**

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ,
г. Ростов-на-Дону, Россия*

Резюме. Колоректальный рак (КРР) относится к числу наиболее распространенных онкозаболеваний в мире, сопряженных с высоким уровнем смертности. В последнее время получили развитие иммунотерапевтические подходы лечения КРР, которые позволили добиться длительной и стойкой ремиссии у определенной группы больных. Успех иммунотерапии зависит от иммунных процессов, сопряженных с онкогенезом в толстой кишке. Ключевую роль в модуляции иммунного окружения опухоли играет активность генов, регулирующих дифференцировку и функции иммунных клеток, а также пул микроРНК, осуществляющих посттранскрипционный контроль экспрессии генов-мишеней. В связи с этим целью нашей работы являлось исследование экспрессионных профилей иммунно-ассоциированных генов и микроРНК для определения иммунных сигнальных механизмов рака толстой кишки и поиска потенциальных терапевтических мишеней. В исследование вошли 18 человек (12 женщин, 6 мужчин, медиана возраста – 66 лет) с диагнозом «ЗНО толстой кишки», проходивших лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» в 2018-2019 гг. Все опухоли имели статус микросателлитной нестабильности. Транскрипционные профили микроРНК и генов иммунного ответа были определены методом секвенирования следующего поколения. По результатам исследования, количество дифференциально экспрессирующихся в опухоли микроРНК составило 28, из них 15 микроРНК с повышенной экспрессией и 13 микроРНК с пониженной экспрессией. Из 395 исследованных генов дифференциально экспрессирующимися были 156, среди которых 62 гена обладали повышенной экспрессией и 94 – пониженной. Идентификация клеточных популяций на основании транскрипционного паттерна опухолей выявила присутствие 4 типов иммунных клеток: нейтрофилы, В-лимфоциты, CD8⁺Т-лимфоциты и макрофаги М1. Нейтрофилы оказались наиболее распространенным типом клеток (16 из 18 образцов). Поэтапный анализ наличия возможных связей между транскрипционными паттернами позволил отобрать 713 пар микроРНК-мРНК. После фильтрации по валидированным взаимодействиям количество пар составило 24, на основании чего была скон-

Адрес для переписки:

*Петрусенко Наталья Александровна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ
344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63.
Тел.: 8 (863) 200-10-00, 300-02-00.
E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru*

Address for correspondence:

*Natalia A. Petrusenko
National Medical Research Centre for Oncology
63 14th Line
Rostov-on-Don
344037 Russian Federation
Phone: +7 (863) 200-10-00, 300-02-00.
E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru*

Образец цитирования:

*О.И. Кит, Д.Ю. Гвалдин, Н.А. Петрусенко,
Н.Н. Тимошкина, Д.А. Савченко, И.А. Новикова
«МикроРНК и гены-мишени как регуляторы иммунных
сигнальных механизмов рака толстой кишки»
// Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 4.
С. 775-788. doi: 10.15789/1563-0625-MAT-3150
© Кит О.И. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*O.I. Kit, D.Yu. Gvaldin, N.A. Petrusenko, N.N. Timoshkina,
D.A. Savchenko, I.A. Novikova "MicroRNAs and target genes
as regulators of colon cancer immune signaling", Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2025,
Vol. 27, no. 4, pp. 775-788.
doi: 10.15789/1563-0625-MAT-3150
© Kit O.I. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-MAT-3150*

струирована сеть взаимодействий микроРНК-мРНК, которая участвовала в регуляции множества иммунных сигнальных механизмов и контроля клеточного цикла. В большинстве выделенных сигналингах присутствовал *CDK1*, для которого известны доступные терапевтические ингибиторы, находящиеся на разных этапах клинических испытаний. Описанные в работе возможности воздействия на *CDK1* могут послужить заделом для дальнейших клинических исследований и разработке терапевтических стратегий, основанных на молекулярно-селективном подавлении иммунных механизмов онкогенеза колоректального рака.

Ключевые слова: транскриптом, микроРНК, иммунное микроокружение, колоректальный рак, NGS, *CDK1*, таргетная терапия

MICRORNAs AND TARGET GENES AS REGULATORS OF COLON CANCER IMMUNE SIGNALING

Kit O.I., Gvaldin D.Yu., Petrusenko N.A., Timoshkina N.N., Savchenko D.A., Novikova I.A.

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Colorectal cancer (CRC) is among the most common oncological diseases in the world, associated with a high mortality rate. Recently, immunotherapeutic approaches to the treatment of CRC have been developed, which have enabled achievement of long-term and stable remission in a certain group of patients. The success of immunotherapy depends on the immune processes associated with oncogenesis in the colon. The key role in modulating immune environment of the tumor is played by the activity of genes regulating differentiation and functions of immune cells, as well as by a variety of microRNAs that perform post-transcriptional expression control of target genes. In this regard, the aim of our work was to study the expression profiles of immune-associated genes and microRNAs to determine the immune signaling mechanisms of colon cancer and search for potential therapeutic targets. The study included 18 persons (12 women, 6 men, median age – 66 years) diagnosed with colon cancer, having been treated at the National Medical Research Center of Oncology in 2018-2019. All tumors had microsatellite instability status. The transcription profiles of microRNAs and immune response genes were determined by next-generation sequencing. The study has revealed 28 differentially expressed microRNAs in the tumor tissues, including 15 microRNAs with increased expression and 13 microRNAs with decreased expression. Of the 395 genes examined, 156 were differentially expressed, including 62 genes with increased expression and 94 genes with decreased activity. Identification of cell populations based on the transcriptional pattern of tumors has discerned four types of immune cells: neutrophils, B lymphocytes, CD8⁺T lymphocytes, and M1 macrophages. Neutrophils were the most common cell type (16 of 18 samples). A stepwise analysis of possible relationships between transcriptional patterns allowed us to select 713 miRNA-mRNA pairs. After filtering by validated interactions, 24 such pairs were found. On this basis, a miRNA-mRNA interaction network was constructed, which could be involved into the regulation of multiple immune signaling mechanisms and cell cycle control. Most of the revealed signaling pathways contained *CDK1*, for which therapeutic inhibitors are known, being at different stages of clinical trials. The possibilities of influencing *CDK1* described in the present work may be used for further clinical studies and development of therapeutic strategies employing selective molecular suppression of immune-mediated carcinogenesis in colorectal cancer.

Keywords: transcriptome, microRNA, immune microenvironment, colorectal cancer, NGS, *CDK1*, targeted therapy

Введение

На сегодняшний день колоректальный рак (КРР) удерживает лидирующие позиции среди злокачественных нозологий по распространен-

ности (2-е место) и числу летальных исходов (3-е место) в мире [32]. Тенденция роста заболеваемости КРР актуальна и для России. По данным за 2020 г., темп прироста рака ободочной кишки составил 2,62%, рака прямой кишки, ректосиг-

моидного соединения, ануса – 1,62% [2]. Основные схемы лечения КРР включают хирургическое вмешательство в сочетании с химио- и/или радиотерапией. В последнее время получили развитие иммунотерапевтические подходы, которые позволили добиться длительной и стойкой ремиссии у больных КРР с определенной молекулярно-генетической классификацией [1, 44]. В первую очередь, успех иммунотерапии зависит от микроокружения опухоли и иммунных процессов, модифицированных в ходе онкогенеза КРР. Современные методы секвенирования следующего поколения открывают широкие перспективы для изучения экспрессионных профилей микроРНК и соответствующих генов-мишеней не только опухолевых клеток, но и иммунных клеток, стромальных клеток и других внеклеточных компонентов. Изучение данных экспрессионных изменений представляется ключом к пониманию иммунных сигнальных механизмов КРР и необходимым этапом для дальнейшего совершенствования иммунотерапевтических подходов.

Целью нашей работы являлось исследование экспрессионных профилей иммунно-ассоциированных генов и микроРНК для определения иммунных сигнальных механизмов рака толстой кишки и поиска потенциальных терапевтических мишеней.

Материалы и методы

В исследование вошло 18 человек (медиана возраста – 66 лет) с диагнозом КРР, проходивших лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» в 2018-2019 (табл. 1). Материалом послужили 24 образца тотальной РНК: 18 образцов экстрагированы из первичной опухоли, 6 – из нормальной ткани. Выделение тотальной РНК проводили по протоколу изготовителя Trizol (Thermo Fisher Scientific, США). Исследуемые образцы были подвергнуты секвенированию следующего поколения с использованием наборов AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel (Illumina, США) и TruSeq Small RNA Library Preparation Kits (Illumina, США) в соответствии с протоколом производителя.

Для анализа дифференциальной экспрессии генов и микроРНК в опухолевой ткани использовали пакет DESeq2 программной вычислительной среды R 4.3.2 [23]. Для последующих аналитических этапов отбирали дифференциально экспрессирующиеся гены и микроРНК, удовлетворяющие условиям: $|\log_2FC| > 1$ и $p < 0,05$. Определение типов иммунных клеток осуществляли с использованием пакета *quantiseq*. В ос-

нове данного пакета лежит модель-классификатор, которая на основании экспрессионных изменений генов, специфичных для каждого из 10 иммунных типов клеток (сигнатура TIL10), определяет, к какому типу относятся иммунные клетки, входящие в состав исследуемого образца [24]. Определяли наличие возможных связей микроРНК-мРНК с помощью пакета *miRLAB* и таких статистических методов и методов машинного обучения, как тест ранговой корреляции Спирмена, причинно-следственный анализ (causal inference), регрессионный анализ *lasso* и *elastic-net* [21]. В финальную сеть взаимодействий отбирали пары микроРНК-мРНК с помощью пакета *multiMiR* и баз данных *miRecords*, *miRTarBase* и *TarBase* [30]. Для конструирования сети взаимодействий микроРНК-мРНК применяли *Cytoscape* [34]. Анализ обогащения по функциональной принадлежности проводили с использованием пакета *pathfindR* и баз данных KEGG, Reactome и BioCarta [40]. Поиск мишеней для таргетной терапии основывался на веб-ресурсе *canSAR* и данных о доступности белковых молекул для потенциальных терапевтических лигандов [7]. Сеть взаимодействий белка-мишени с другими белками и терапевтическими лигандами конструировали при помощи *STITCH* [20].

Результаты

Все опухоли имели статус микросателлитной нестабильности высокой (MSI-H) или низкой (MSI-L) степени, 2 опухоли имели мутации V600E в гене *BRAF*, 4 опухоли мутации во втором экзоне гена *KRAS*, в гене *NRAS* мутаций не обнаружено (табл. 1).

В ходе исследования обнаружено 28 дифференциально экспрессирующихся микроРНК ($|\log_2FC| > 1$; $p < 0,05$): 15 микроРНК с повышенной экспрессией и 13 микроРНК с пониженной экспрессией (рис. 1А). Количество дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) составило 156 ($|\log_2FC| > 1$; $p < 0,05$), среди которых 62 гена обладали повышенной экспрессией и 94 гена – пониженной (рис. 1Б).

Идентификация клеточных популяций, вносящих вклад в изменения экспрессии микроРНК и генов, выявила преимущественно 4 типа иммунных клеток (рис. 2): В-лимфоциты, нейтрофилы, CD8⁺Т-лимфоциты и макрофаги M1. Нейтрофилы оказались наиболее распространенным типом клеток и единственной иммунной клеточной популяцией для 10 из 18 опухолевых образцов. Примечательно, что В-лимфоциты превалировали в паре образцов 4С

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Параметры Parameters	Частота, абс. (%) Frequency, abs. (%)
Возраст Age	
< 40	1 (5,6%)
40-60	4 (22,2%)
> 60	13 (72,2%)
Медиана, лет Median, years	66
Пол Gender	
Мужчины Men	5 (27,8%)
Женщины Women	13 (72,2%)
Стадия заболевания Stage of the disease	
II	5 (27,8%)
III	12 (66,7%)
IV	1 (5,6%)
Локализация КРР Localization of CRC	
Левосторонняя (C18.0, C18.2, C18.3) Left-handed (C18.0, C18.2, C18.3)	8 (44,4%)
Правосторонняя (C18.5, C18.6, C18.7, C19) Right-hand (C18.5, C18.6, C18.7, C19)	10 (55,6%)
Молекулярно-генетические исследования Molecular genetic research	
mutKRAS	4 (22,2%)
mutNRAS	0
mutBRAF	2 (11,1%)
MSI	18 (100%)
MSI-H	12 (66,7%)
MSI-L	6 (33,3%)

и 84С, а образцы 35С и 52С имели сходные распределение CD8⁺T-лимфоциты и нейтрофилов.

Поэтапный анализ наличия возможных микроРНК-мРНК связей позволил отобрать 713 пар, в том числе 114 пар микроРНК-мРНК было идентифицировано с помощью корреляционного анализа, 482 пары – с помощью causal inference, 19 пар – по результатам регрессионного анализа elastic-net, 98 пар – по результатам регрессионного анализа lasso. При фильтрации по валидированным взаимодействиям количество пар сократилось до 24. На их основании была скон-

струирована сеть взаимодействий микроРНК-мРНК (рис. 3).

Обнаруженные пары микроРНК-мРНК были использованы для установления их связи с сигнальными механизмами, описанными в базах данных KEGG (рис. 4А), BioCarta (рис. 4Б), Reactome (рис. 4В). Особенно стоит отметить дифференциально экспрессирующиеся гены *CXCL1*, *CXCL10*, *MAD2L1*, *MYC*, *PSMB9* и *CDK1*, которые оказались задействованы практически во всех выше упоминавшихся сигнальных механизмах.

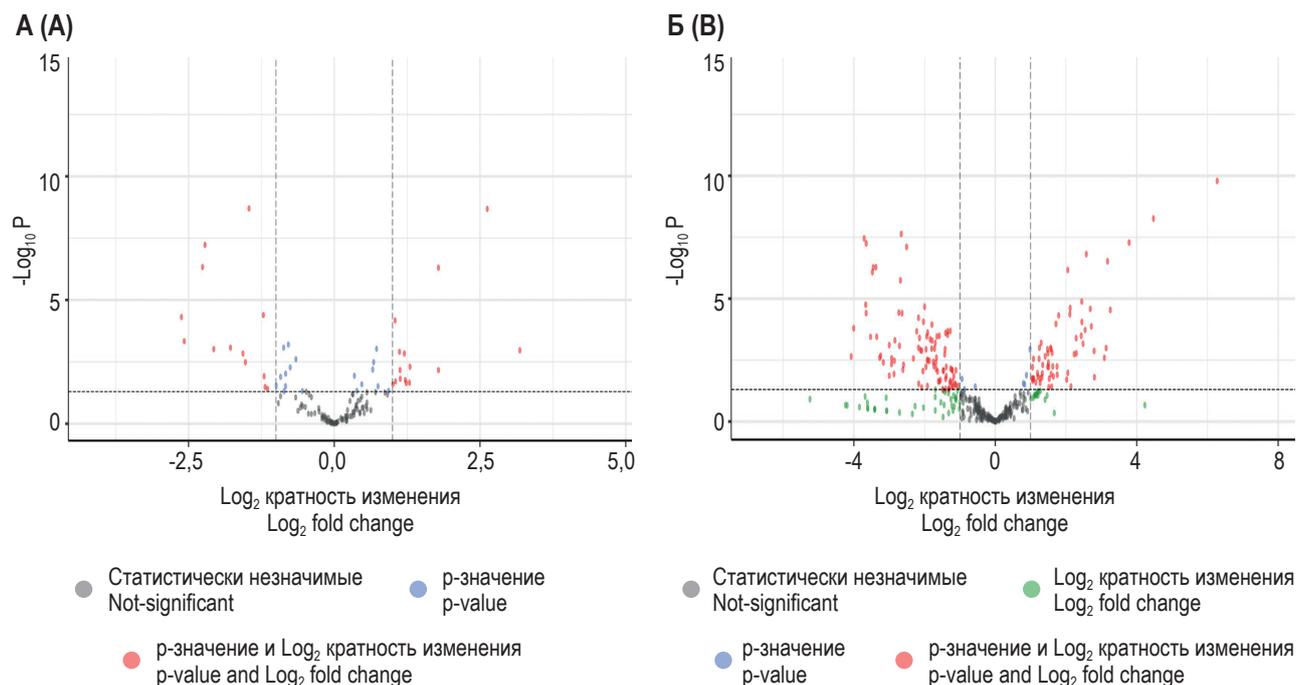


Рисунок 1. График рассеивания дифференциально экспрессирующихся (А) микроРНК и (Б) генов

Примечание. Серым цветом выделены микроРНК и гены со статистически не значимыми изменениями экспрессии ($|\text{Log}_2\text{FC}| \leq 1$ и $p \geq 0,05$); зеленым цветом выделены микроРНК и гены, изменения экспрессии которых удовлетворяет условию $|\text{Log}_2\text{FC}| > 1$, синим цветом выделены микроРНК и гены, изменения экспрессии которых удовлетворяет условию $p < 0,05$; красным цветом выделены микроРНК и гены, изменения экспрессии которых удовлетворяет обоим условиям $|\text{Log}_2\text{FC}| > 1$ и $p < 0,05$.

Figure 1. Scatter plot of differentially expressed (A) microRNAs and (B) genes

Note. MicroRNAs and genes with statistically insignificant expression changes ($|\text{Log}_2\text{FC}| \leq 1$ and $p \geq 0.05$) are highlighted in gray; microRNAs and genes whose expression changes satisfy the condition $|\text{Log}_2\text{FC}| > 1$ are highlighted in green; microRNAs and genes whose expression changes satisfy the condition $p < 0.05$ are highlighted in blue; microRNAs and genes whose expression changes satisfy both conditions $|\text{Log}_2\text{FC}| > 1$ and $p < 0.05$ are highlighted in red.

Обсуждение

Стремительно накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что иммунное микроокружение играет ключевую роль в развитии и опухолевом росте, метастазировании, прогрессировании колоректального рака и формировании химиорезистентности [12]. Микроокружение опухоли обладает сложной гетерогенной структурой, представленной, помимо опухолевых клеток, различными типами иммунных клеток, стромальными клетками, адипоцитами, фибробластами и внеклеточным матриксом [27]. Клеточный состав иммунного окружения тесно связан с молекулярным подтипом КРР. Так, подтип КРР с MSI-статусом характеризуется высоким уровнем цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺T-клетки) и макрофагов [38]. На молекулярно-генетическом уровне изменения, характерные для иммунного профиля опухоли, могут существенно варьировать внутри одного молекулярного подтипа. Ранее Kim J.H. и соавт. сообщали о мутационных и экспрессионных различиях, наблюдаемых в

образцах опухолей, принадлежащих к разным подтипам КРР [17]. Авторы классифицировали исследуемые опухоли с MSI-статусом на основании уровня опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и активности третичных лимфоидных структур на три подгруппы: подгруппа с низким уровнем иммунитета, подгруппа с промежуточным уровнем иммунитета и подгруппа с высоким уровнем иммунитета. Для подгруппы с высоким уровнем иммунитета оказались характерны слияния генов тирозинкиназ, повышение экспрессии *CTSC*, *CCL5*, *CCL18*, *CXCL9* и дисрегуляция сигнальных путей IL-2-STAT5, IL-6-JAK-STAT3, α/γ -интерферонов. Тогда как для подгруппы с низким уровнем иммунитета были свойственны мутации *KRAS*, сверхэкспрессия *POSTN*, *ZEB1*, *SFRP2* и дисрегуляция сигнальных путей WNT/ β -катенин и NOTCH [17]. Gherman A. и соавт. считают, что различия в экспрессионных профилях генов опухолей, принадлежащих подтипу CMS1, обусловлены активностью различных паттернов микроРНК. Проведя комплексный метаанализ

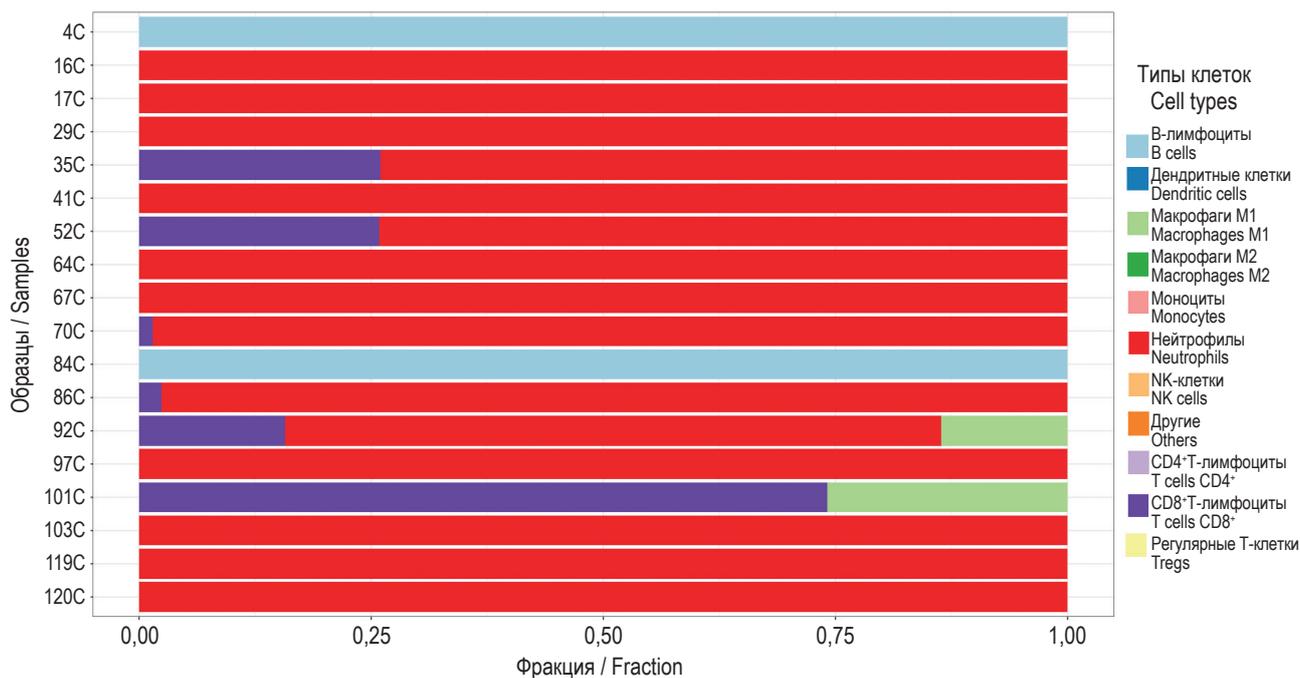


Рисунок 2. Распределение иммунных клеточных популяций среди исследуемых опухолевых образцов пациентов с КРП

Figure 2. Distribution of immune cell populations among the studied tumor samples of patients with CRC

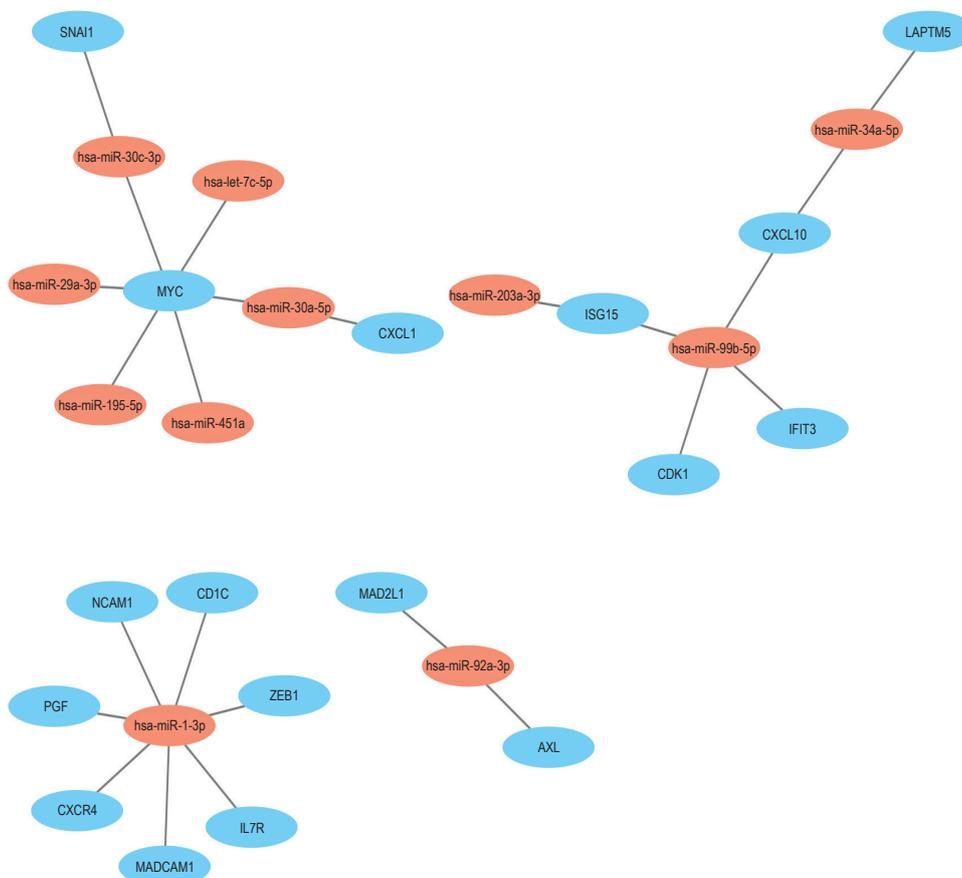


Рисунок 3. Сеть взаимодействий микроРНК-мРНК

Figure 3. Network of microRNA-mRNA interactions

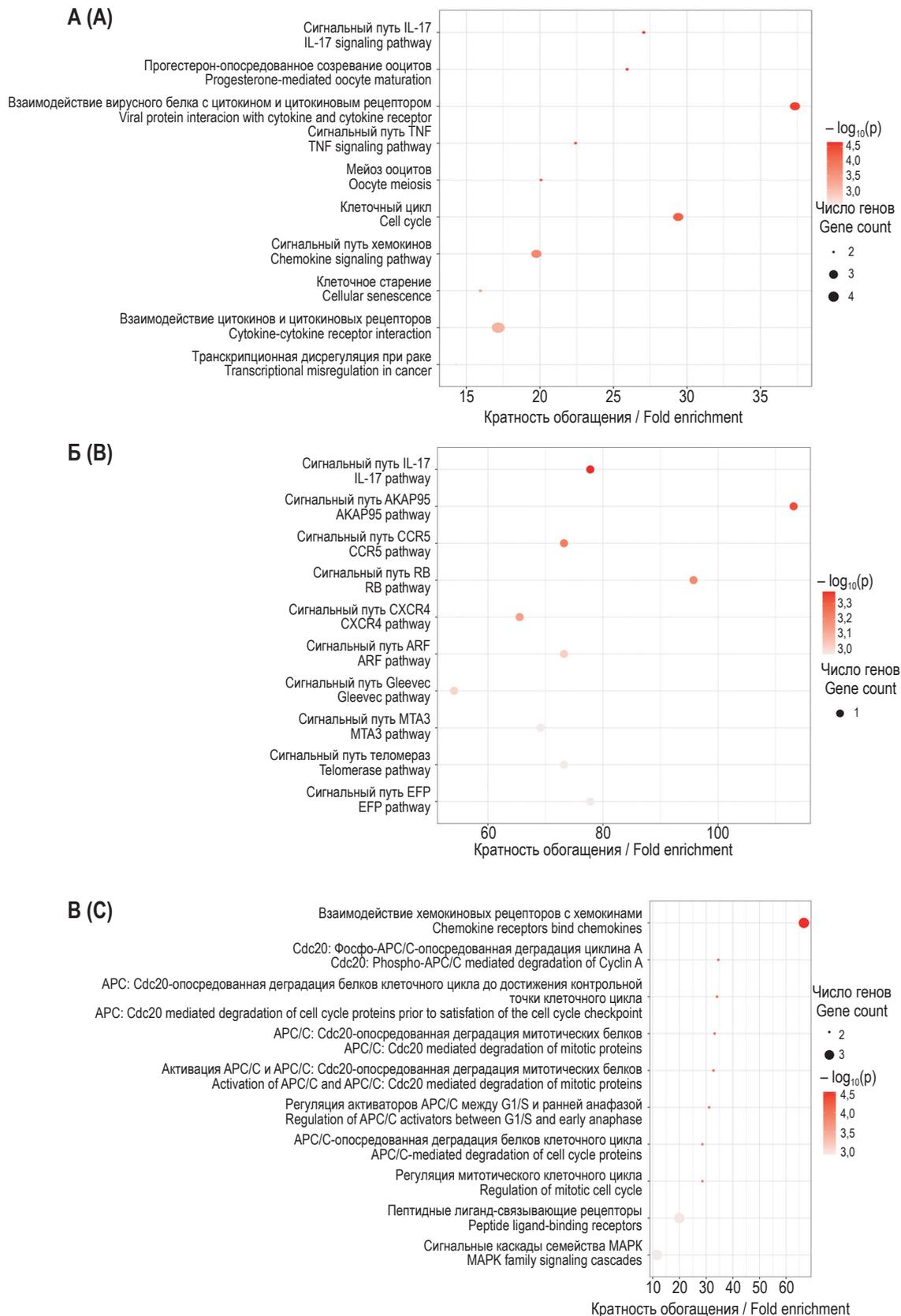


Рисунок 4. Анализ обогащения по функциональной принадлежности: А – сигнальные пути из KEGG, Б – сигнальные пути из BioCarta и В – сигнальные пути из Reactome

Figure 4. Functional enrichment analysis: A, pathways from KEGG; B, pathways from BioCarta, and C, pathways from Reactome

работ, опубликованных по 2023 г. включительно, авторы установили, что микроРНК способны модулировать экспрессию иммуно-ассоциированных онкобелков, таких как PD-L1, и тем самым выступать в качестве промежуточного звена в механизмах иммунного уклонения [10].

Нами был исследован спектр иммуно-ассоциированных микроРНК и их генов, дифференциально экспрессирующихся у больных КРР подтипа CMS1. По результатам исследования были определены экспрессионные профили опухолевой ткани, в которые вошли 28 микроРНК и 156 генов. Экспрессионные изменения микроРНК и генов свидетельствовали о превалировании в клеточном составе иммунного микроокружения В-лимфоцитов, нейтрофилов, CD8⁺Т-лимфоцитов и макрофагов M1.

Согласно классической парадигме, макрофаги M1 участвуют в подавлении опухолевого роста и в иммуностимуляции [19]. В норме M1-макрофаги индуцируют апоптоз за счет секреции TNF α и оксида азота NO [46]. Тем не менее с каждым годом появляются новые подтверждения проонкогенной роли макрофагов M1 при КРР. Как было показано Koelzer V.H. и соавт., преобладание в иммунном микроокружении iNOS⁺ макрофагов M1 ассоциируется с наличием метастазов в лимфоузлах и неблагоприятным прогнозом [18]. Данный тип клеток способен выделять VEGF, который участвует в ангиогенных процессах. Индукция ангиогенеза обеспечивает опухоль достаточным количеством питательных веществ и кислорода для последующего роста [33]. Еще одним ключевым компонентом в структуре иммунного микроокружения являются нейтрофилы. В процессе онкогенеза нейтрофилы трансформируются в опухоль-ассоциированные нейтрофилы (TAN). TGF- β в опухолевом микроокружении индуцирует их переход в N1 или N2-типы [39]. Развитие и прогрессирование КРР связано с тесным взаимодействием интерлейкинов и TAN. Так, хемокины CXCL8, выделяемые опухолевыми клетками, способны рекрутировать TAN, миелоидные супрессорные клетки и моноциты. TAN, в свою очередь, высвобождают MMP2, MMP9, ARG1 и IDO, обладающие ангиогенной и иммуносупрессивной активностями, и тем самым способствуют прогрессированию опухоли [25]. TAN также активно секретируют цитокины IL-17, IL-23 и TNF α , которые могут активировать сигнальный путь Akt/p38. Активация данного сигнального механизма запускает превращение мезенхимальных стволовых клеток в опухолевые фибробласты и индуцирует пролиферацию опухолевых клеток [47]. Однако уча-

стие TAN в прогрессировании опухолей КРР не ограничивается вышеописанными механизмами. TAN способны поляризоваться в проопухолевый тип N2. Один из известных механизмов, индуцирующий поляризацию TAN, реализуется через экзосомы. Экзосомы, выделяемые опухолевыми клетками, несут белковый медиатор HMGB1, который способен взаимодействовать с рецептором TLR4 и запускать сигнальный путь NF- κ B, что в конечном счете приводит к поляризации TAN [48].

В последнее время TAN рассматриваются как основной барьер, препятствующий иммунотерапии, так как в активном состоянии они способны высвобождать аргиназу-1 с последующей выработкой NO, что приводит к подавлению иммунного ответа. TAN также могут ингибировать пролиферацию Т-клеток через сигнальный механизм PD-L1/PD-1 [51]. В связи с этим наличие MSI-статуса не может гарантировать эффективность иммунотерапии. Интересно, что по данным Sun Z. и соавт. размеры фракций макрофагов M1 и нейтрофилов иммунного микроокружения достоверно больше в группе больных КРР с MSI-статусом по сравнению с группой больных КРР с MSS-статусом [38].

CD8⁺Т-лимфоциты являются эффекторными клетками адаптивной иммунной системы, они распознают антигены, представленные молекулами МНС I на поверхности клеток-мишеней. CD8⁺Т-лимфоциты выполняют противоопухолевую роль, поскольку способны аккумулировать цитотоксические молекулы гранзима, перфорина или FasL и уничтожить злокачественные опухолевые клетки [50]. Хемокины CXCL9, CXCL10 и CXCL11 обеспечивают рекрутировку CD8⁺Т-лимфоцитов в опухоль. На их поверхности локализованы рецепторы CXCR3, которые связывают хемокины и позволяют CD8⁺Т-лимфоцитам проникнуть в опухоль [5].

Микросателлитная нестабильность опухоли приводит к синтезу неоантигенов опухолевыми клетками, а экспрессия неоантигенов, как правило, сопряжена с высокой инфильтрацией CD8⁺Т-лимфоцитов [43]. Размер фракций макрофагов M1 и CD8⁺Т-лимфоцитов может выступать в качестве предиктора эффективности иммунотерапии. Как было показано в недавнем исследовании, включавшем 473 пациента с диагнозом КРР, фракция макрофагов M1 положительно коррелировала, а фракция CD8⁺Т-лимфоцитов отрицательно коррелировала с прогрессированием опухоли [13].

В-лимфоциты выполняют двойную функцию в иммунном микроокружении опухоли. С одной

стороны, как антигенпрезентирующие клетки, продуценты цитокинов или участники прямого уничтожения опухолевых клеток, В-лимфоциты могут проявлять противоопухолевую активность. С другой стороны, среди В-лимфоцитов выделяют субпопуляцию регуляторных В-клеток, которые через секрецию IL-10, TGF- β и IL-35 реализуют проонкогенный эффект [26]. Ранее сообщалось, что размер фракции В-лимфоцитов иммунного микроокружения КРР положительно коррелировал со снижением общей выживаемости больных [36]. У больных на более продвинутой стадии преобладает инфильтрация опухолей регуляторными В-клетками [35]. Показано, что регуляторные В-клетки участвуют в развитии M2-подобных макрофагов, которые индуцируют создание толерогенной среды, что приводит к прогрессированию опухоли и снижению общей выживаемости больных с КРР [16].

В целом, учитывая вышеперечисленные факты, распределение иммунных клеточных популяций не дает однозначного ответа, какие свойства иммунного микроокружения опухолей толстой кишки преобладают – противоопухолевые или онкогенные. Более точные представления о вкладе в онкогенез иммуно-ассоциированных генов и таргетирующих их микроРНК были получены в ходе анализа сигнальных путей.

Результаты свидетельствовали о том, что среди сигнальных механизмов, подверженных изменениям, значительная доля приходилась на сигнальные пути, включавшие цитокины. Прежде всего стоит отметить сигнальный путь IL-17, IL-7 и взаимодействие хемокиновых рецепторов с хемокинами. Не менее значимой представляется активация классических онкогенных механизмов, к которым можно отнести сигнальную регуляцию клеточного цикла.

Сигнальный путь IL-17 тесно связан с активностью и размерами фракций следующих популяций иммунных клеток опухолевого микроокружения: Т-хелперы-17, НК-клетки, CD8⁺ $\gamma\delta$ Т-клетки, нейтрофилы, эозинофилы, макрофаги и дендритные клетки [28]. IL-17 способен активировать экспрессию множества генов, в том числе интерлейкинов (IL-6, IL-19, IL-20, IL-24 и TNF α), гранулоцитарно-колониестимулирующего фактора (G-CSF), хемокинов (IL-8, CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL9, CXCL10, CCL2, CCL7 и CCL20), матриксной металлопротеиназы-13 (MMP13), лиганда активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL) и антимикробных пептидов (липокалин 2, β -дефенсин-2, S100A7 и S100A8/9) [11]. Подтверждением служит гиперэкспрессия CXCL1 и CXCL10 в настоящем исследовании. Активация

сигнального пути IL-17 сопряжена с онкогенными процессами, такими как рекрутировка и активация нейтрофилов, привлечение миелоидных супрессорных клеток, сокращение популяции CD8⁺Т-лимфоцитов, подавление апоптоза, что в совокупности способствует пролиферации, росту и выживанию опухолевых клеток [4, 15, 29, 37].

В отличие от сигнального пути IL-17, сигнальным механизмам, ассоциированным с IL-7, приписывают исключительно противоопухолевую роль. Источником IL-7 являются преимущественно стромальные и эпителиальные клетки, в меньшей степени – дендритные клетки, тогда как его рецептор, IL-7R может экспрессироваться в естественных киллерах, дендритных предшественниках, в зрелых Т-лимфоцитах и макрофагах, в развивающихся Т-лимфоцитах и В-лимфоцитах [6]. IL-7, взаимодействуя с соответствующим рецептором, способен привлекать Т-лимфоциты и обеспечивать их проникновение в опухоль. Он усиливает цитотоксические свойства Т-лимфоцитов и индуцирует лимфокин-активированные киллеры. Кроме того, IL-7 может выступать как цитотоксический агент, стимулирует нейтрофилы, которые высвобождают IFN γ , IL-1 β и IL-1 α [9]. Результаты нашего исследования свидетельствовали о снижении экспрессии IL-7R, что позволяет предположить возможное ингибирование сигнального пути IL-7 и существенное ограничение его противоопухолевого потенциала у больных с ЗНО толстой кишки, имеющих MSI-статус.

Взаимодействие хемокинов с соответствующими рецепторами представляет собой обширную сигнальную сеть, которая, будучи неотъемлемой частью иммунного микроокружения опухоли, участвует в прогрессировании КРР. В нашем исследовании определенный вклад в данную сигнальную сеть вносят гиперэкспрессия CXCL1, CXCL10 и снижение экспрессии CXCR4. Хемокин CXCL1 секретируется опухолевыми клетками и взаимодействует с рецепторами CXCR2, локализованными на TAN, что приводит к рекрутировке TAN в опухоль, аккумуляции VEGF и ангиогенезу [42]. Кроме того, сообщалось, что сверхэкспрессия CXCL1 в опухолевых клетках толстой кишки приводит к увеличению числа кровеносных сосудов в опухоли и значительно ускоряет рост рака толстой кишки. Такой эффект достигается благодаря активации сигнального пути NF- κ B/P300 [52]. Уровень экспрессии hsa-miR-30a-5p, микроРНК, нацеленной на CXCL1, снижается, что может свидетельствовать об ослаблении ограничений, сдерживающих онкогенный потенциал хемокина у больных с ЗНО

в нашем исследовании. Источником CXCL10 также может служить опухолевая ткань кишки. Данный хемокин взаимодействует с рецептором CXCR3, локализованном на поверхности мембраны Т-лимфоцитов, активирует сигнальный путь PI3K/Akt, что способствует эпителиально-мезенхимальному переходу и метастазированию опухоли [41]. Нами определены микроРНК, мишенью которых является CXCL10 – hsa-miR-99b-5p и hsa-miR-34a-5p. Интересно, что экспрессионные профили данных микроРНК различались: уровень hsa-miR-99b-5p снижался, тогда как для hsa-miR-34a-5p был характерен повышенный уровень экспрессии. То есть ожидаемой отрицательной корреляцией были связаны динамика экспрессии hsa-miR-99b-5p и CXCL10, тогда как уровень транскриптов hsa-miR-34a-5p в опухолях оставался высоким.

Трансформация сигнальных путей клеточного цикла необходима для стимулирования пролиферации опухолевых клеток. В ходе онкогенеза часто происходят молекулярные нарушения в контрольных точках G1 и G2. Ослабление функции контрольной точки G2 приводит к хромосомной нестабильности, дисрегуляции генов, связанных с клеточным циклом, что может стать причиной неконтролируемого роста и пролиферации опухолевых клеток [14]. Одним из механизмов дисрегуляции клеточного цикла может выступать перестройка микроРНК-связанного контроля транскрипционной активности иммунно-ассоциированных генов. В нашей работе изменения в микроРНК-профиле отразились на уровне hsa-miR-30c-5, hsa-let-7c-5p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-451a, hsa-miR-195-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-92a-3p и hsa-miR-99b-5p. Мишенями данных микроРНК являются гены MYC, MAD2L1 и CDK1.

MYC кодируется одноименным геном и представляет собой транскрипционный фактор, регулирующий транскрипцию 15% экспрессируемых в клетке генов. Помимо регуляции клеточного цикла, он участвует в реализации и других биологических функций, в том числе пролиферации, дифференцировке клеток, апоптозе и метаболизме [3]. Однако MYC известен как протоонкоген, который интенсивно экспрессируется при многих злокачественных патологиях, индуцируя повышение экспрессии генов циклин-зависимых киназ. Кроме того, MYC способен подавлять активность негативных регуляторов клеточного цикла, как, например, p15 [3]. Известно, что высокий уровень экспрессии MYC способствует адаптации опухолевых клеток к стрессу, метаболическому перепрограммированию, иммунному уклонению

и терапевтической резистентности [31]. В нашем исследовании было зафиксировано повышение экспрессии MYC и снижении экспрессии соответствующих таргетирующих микроРНК, за исключением hsa-miR-29a-3p.

Белок митотической контрольной точки сборки веретена деления, MAD2L1, проявляет онкогенные функции. Ранее было показано, что в опухолевых образцах больных с КРР, наблюдается сверхэкспрессия MAD2L1 [8]. В нашей работе также установлено повышение экспрессии MAD2L1, несмотря на высокий уровень экспрессии таргетирующей этот онкоген hsa-miR-92a-3p. В связи с этим можно предположить, что существуют иные эпигенетические факторы, которые обеспечивают сверхэкспрессию MAD2L1.

Циклинзависимая киназа-1, CDK1, является важнейшим драйвером перехода клетки в стадию митоза. Известно, что повышенная транскрипционная активность CDK1 обуславливают быстрый рост опухоли и спонтанную пролиферацию опухолевых клеток. Согласно биоинформационному исследованию Li J. и соавт., сверхэкспрессия CDK1 в опухолевых тканях больных с КРР была сопряжена с неблагоприятным прогнозом и прогрессированием опухоли. Авторы отметили перспективность терапии, нацеленной на CDK1 [22].

В ходе поиска потенциальных мишеней для таргетной терапии нами был выбран именно CDK1 (рис. 5). Ген CDK1 является мишенью hsa-miR-99b-5p. Согласно полученным данным, экспрессия этой пары микроРНК-мРНК была связана отрицательной корреляцией: уровень hsa-miR-99b-5p в опухоли снижался, тогда как уровень экспрессии самого CDK1 вырос. Гиперэкспрессия CDK1 может быть связана с нарушением сигнального пути AKAP95 и RB. В работе Zhang P. и соавт. сообщалось об эффективности применения ингибитора CDK1 dinaciclib, индуцировавшего апоптоз в клеточных линиях КРР. Авторы установили, что сверхэкспрессия CDK1 в сочетании с мутантным BRAF сопряжена с подавлением апоптоза в опухолевой ткани [46]. В отличие от dinaciclib, который способен ингибировать помимо CDK1 также другие циклин-зависимые киназы, существуют CDK1-высокоспецифичные таргетные препараты, такие как RO-3306. В недавнем исследовании было показано, что RO-3306 способен восстанавливать чувствительность опухолевых клеток КРР к препаратам платины [45]. В связи с этим CDK1 представляется перспективной мишенью для терапии КРР.

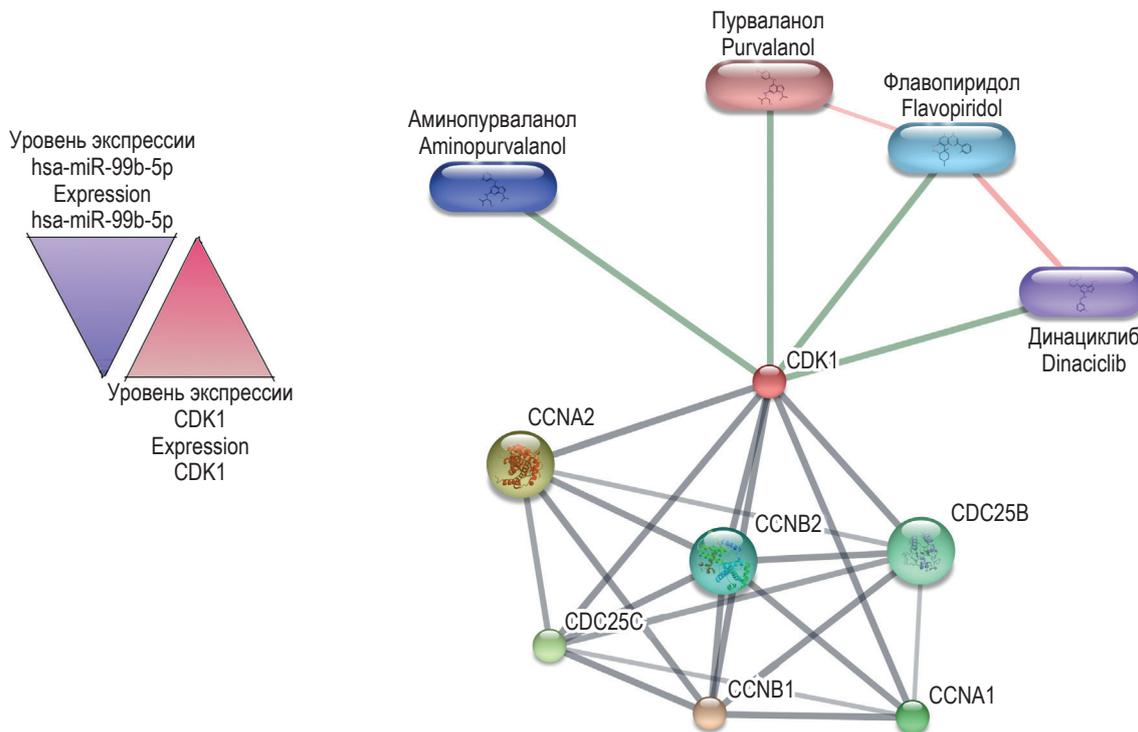


Рисунок 5. Сеть взаимодействий CDK1 с таргетными препаратами и другими белками

Figure 5. Network of CDK1 interactions with targeted drugs and other proteins

Заключение

Методом высокопроизводительного секвенирования были идентифицированы иммунно-ассоциированные гены-мишени и их микроРНК, дифференциально экспрессирующиеся в опухоли, сконструирована сеть взаимодействий микроРНК-мРНК и определены дисрегулированные иммунные сигнальные механизмы в злокачественных опухолях толстой кишки с микросателлитной нестабильностью. Предполагается, что при КРР имеет место значительный вклад

микроокружения опухоли, обуславливающий дисрегуляцию многих сигнальных путей, в том числе сигнальный путь IL-17, сигнальный путь IL-7, сигнальный путь хемокинов. В сочетании с нарушением клеточного цикла дисрегуляция данных сигнальных путей представляет неотъемлемой частью онкогенеза. Ключевым звеном, участвующим в регуляции вышеперечисленных механизмов, является *CDK1*. Разработка терапевтических схем, нацеленных на ингибирование *CDK1*, может оказаться важным шагом на пути к персонализированной терапии.

Список литературы / References

1. Кит О.И., Дженкова Е.А., Мирзоян Э.А., Геворкян Ю.А., Сагакянц А.Б., Тимошкина Н.Н., Каймакчи О.Ю., Каймакчи Д.О., Толмах Р.Е., Дашков А.В., Колесников В.Е., Милакин А.Г., Полуэктов С.И. Молекулярно-генетическая классификация подтипов колоректального рака: современное состояние проблемы // Южно-Российский онкологический журнал, 2021. Т. 2, № 2. С. 50-56. [Kit O.I., Dzhenkova E.A., Mirzoyan E.A., Gevorkyan Yu.A., Sagakyants A.B., Timoshkina N.N., Kaymakchi O.Yu., Kaymakchi D.O., Tolmakh R.E., Dashkov A.V., Kolesnikov V.E., Milakin A.G., Poluektov S.I. Molecular genetic classification of colorectal cancer subtypes: current state of the problem. *Yuzhno-Rossiyskiy onkologicheskiy zhurnal = South Russian Journal of Cancer* 2021, Vol. 2, no. 2, pp. 50-56. (In Russ.)]
2. Максимова П.Е., Голубинская Е.П., Сеферов Б.Д., Зяблицкая Е.Ю. Колоректальный рак: эпидемиология, канцерогенез, молекулярно-генетические и клеточные механизмы резистентности к терапии (аналитический обзор) // Колопроктология, 2023. Т. 22, № 2. С. 160-171. [Maksimova P.E., Golubinskaya E.P., Seferov B.D., Zyablitskaya E.Yu. Colorectal cancer: epidemiology, carcinogenesis, molecular subtypes and cellular

mechanisms of therapy resistance (analytical review). *Koloproktologiya = Koloproktologia*, 2023, Vol. 22, no. 2, pp. 160-171. (In Russ.)]

3. Ahmadi S.E., Rahimi S., Zarandi B., Chegeni R., Safa M. MYC: a multipurpose oncogene with prognostic and therapeutic implications in blood malignancies. *J. Hematol Oncol.*, 2021, Vol. 14, no. 1, 121. doi: 10.1186/s13045-021-01111-4.

4. Amicarella F., Muraro M.G., Hirt C., Cremonesi E., Padovan E., Mele V., Governa V., Han J., Huber X., Droeser R.A., Zuber M., Adamina M., Bolli M., Rosso R., Lugli A., Zlobec I., Terracciano L., Tornillo L., Zajac P., Eppenberger-Castori S., Trapani F., Oertli D., Iezzi G. Dual role of tumour-infiltrating T helper 17 cells in human colorectal cancer. *Gut*, 2017, Vol. 66, no. 4, pp. 692-704.

5. Bai Z., Zhou Y., Ye Z., Xiong J., Lan H., Wang F. Tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer: the fundamental indication and application on immunotherapy. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 12, 808964. doi: 10.3389/fimmu.2021.808964.

6. Bednarz-Misa I., Bromke M.A., Krzystek-Korpaczka M. Interleukin (IL)-7 signaling in the tumor microenvironment. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2021, Vol. 1290, pp. 9-49.

7. Coker E.A., Mitsopoulos C., Tym J.E., Komianou A., Kannas C., Di Micco P., Villasclaras Fernandez E., Ozer B., Antolin A.A., Workman P., Al-Lazikani B. canSAR: update to the cancer translational research and drug discovery knowledgebase. *Nucleic Acids Res.*, 2019, Vol. 47, pp. D917-D922.

8. Ding X., Duan H., Luo H. Identification of core gene expression signature and key pathways in colorectal cancer. *Front. Genet.*, 2020, Vol. 11, 45. doi: 10.3389/fgene.2020.00045.

9. Fu C., Zhang X., Zhang X., Wang D., Han S., Ma Z. Advances in IL-7 research on tumour therapy. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, Vol. 17, no. 4, 415. doi: 10.3390/ph17040415.

10. Gherman A., Bolundut D., Ecea R., Balacescu L., Curcean S., Dina C., Balacescu O., Cainap C. Molecular subtypes, microRNAs and immunotherapy response in metastatic colorectal cancer. *Medicina (Kaunas)*, 2024, Vol. 60, no. 3, 397. doi: 10.3390/medicina60030397.

11. Guo N., Shen G., Zhang Y., Moustafa A.A., Ge D., You Z. Interleukin-17 promotes migration and invasion of human cancer cells through upregulation of MTA1 expression. *Front. Oncol.*, 2019, Vol. 9, 546. doi: 10.3389/fonc.2019.00546.

12. Han L., Chen S., Luan Z., Fan M., Wang Y., Sun G., Dai G. Immune function of colon cancer associated miRNA and target genes. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1203070. doi: 10.3389/fimmu.2023.1203070.

13. Hao M., Li H., Yi M., Zhu Y., Wang K., Liu Y., Liang X., Ding L. Development of an immune-related gene prognostic risk model and identification of an immune infiltration signature in the tumor microenvironment of colon cancer. *BMC Gastroenterol.*, 2023, Vol. 23, no. 1, 58. doi: 10.1186/s12876-023-02679-6.

14. Holubekova V., Loderer D., Grendar M., Mikolajcik P., Kolkova Z., Turyova E., Kudelova E., Kalman M., Marcinek J., Miklusica J., Laca L., Lasabova Z. Differential gene expression of immunity and inflammation genes in colorectal cancer using targeted RNA sequencing. *Front. Oncol.*, 2023, Vol. 13, 1206482. doi: 10.3389/fonc.2023.1206482.

15. Jiang J.K., Lin C.H., Chang T.A., Lo L.C., Lin C.P., Lu R.H., Yang C.Y. Decreased interleukin-17RA expression is associated with good prognosis in patients with colorectal cancer and inhibits tumor growth and vascularity in mice. *Cancer Med.*, 2024, Vol. 13, no. 5, e7059. doi: 10.1002/cam4.7059.

16. Jordakieva G., Bianchini R., Reichhold D., Piehslinger J., Groschopf A., Jensen S.A., Mearini E., Nocentini G., Crevenna R., Zlabinger G.J., Karagiannis S.N., Klaus A., Jensen-Jarolim E. IgG4 induces tolerogenic M2-like macrophages and correlates with disease progression in colon cancer. *Oncoimmunology*, 2021, Vol. 10, no. 1, 1880687. doi: 10.1080/2162402X.2021.1880687.

17. Kim J.H., Seo M.K., Lee J.A., Yoo S.Y., Oh H.J., Kang H., Cho N.Y., Bae J.M., Kang G.H., Kim S. Genomic and transcriptomic characterization of heterogeneous immune subgroups of microsatellite instability-high colorectal cancers. *J. Immunother. Cancer*, 2021, Vol. 9, no. 12, e003414. doi: 10.1136/jitc-2021-003414.

18. Koelzer V.H., Canonica K., Dawson H., Sokol L., Karamitopoulou-Diamantis E., Lugli A., Zlobec I. Phenotyping of tumor-associated macrophages in colorectal cancer: Impact on single cell invasion (tumor budding) and clinicopathological outcome. *Oncoimmunology*, 2015, Vol. 5, no. 4, e1106677. doi: 10.1080/2162402X.2015.1106677.

19. Konstantinov A.S., Kovaleva O.V., Samoilova D.V., Shelekhova K.V. Role of macrophages in progression of colorectal cancer: a contrast with the traditional paradigm. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 2022, Vol. 15, no. 10, pp. 403-411.

20. Kuhn M., von Mering C., Campillos M., Jensen L.J., Bork P. STITCH: interaction networks of chemicals and proteins. *Nucleic Acids Res.*, 2008, Vol. 36, pp. D684-D688.

21. Le T.D., Zhang J., Liu L., Liu H., Li J. miRLAB: An R based dry lab for exploring miRNA-mRNA regulatory relationships. *PLoS One*, 2015, Vol. 10, no. 12, e0145386. doi: 10.1371/journal.pone.0145386.

22. Li J., Wang Y., Wang X., Yang Q. CDK1 and CDC20 overexpression in patients with colorectal cancer are associated with poor prognosis: evidence from integrated bioinformatics analysis. *World J. Surg. Oncol.*, 2020, Vol. 18, no. 1, 50. doi: 10.1186/s12957-020-01817-8.

23. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.*, 2014, Vol. 15, no. 12, 550. doi: 10.1186/s13059-014-0550-8.

24. Marini F, Finotello F. quantiseqr: Quantification of the Tumor Immune contexture from RNA-seq data. 2023. Available at: <https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/quantiseqr.html>.
25. Ogawa R., Yamamoto T., Hirai H., Hanada K., Kiyasu Y., Nishikawa G., Mizuno R., Inamoto S., Itatani Y., Sakai Y., Kawada K. Loss of SMAD4 promotes colorectal cancer progression by recruiting tumor-associated neutrophils via the CXCL1/8-CXCR2 Axis. *Clin. Cancer Res.*, 2019, Vol. 25, no. 9, pp. 2887-2899. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3684.
26. Pieniadz P., Piet M., Paduch R. Characteristics of the colorectal cancer microenvironment – role in cancer progression and therapeutic possibilities. *Appl. Sci.*, 2024, Vol. 14, no. 7, 2930. doi: 10.3390/app14072930.
27. Rajtmajerová M., Trailin A., Liška V., Hemminki K., Ambrozkiwicz F. Long Non-Coding RNA and microRNA interplay in colorectal cancer and their effect on the tumor microenvironment. *Cancers (Basel)*, 2022, Vol. 14, no. 21, 5450. doi: 10.3390/cancers14215450.
28. Razi S., Baradaran Noveiry B., Keshavarz-Fathi M., Rezaei N. IL-17 and colorectal cancer: From carcinogenesis to treatment. *Cytokine*, 2019, Vol. 116, pp. 7-12.
29. Rodriguez C., Araujo Furlan C.L., Tosello Boari J., Bossio S.N., Boccardo S., Fozzatti L., Canale F.P., Beccaria C.G., Nuñez N.G., Ceschin D.G., Piaggio E., Gruppi A., Montes C.L., Acosta Rodríguez E.V. Interleukin-17 signaling influences CD8⁺ T cell immunity and tumor progression according to the IL-17 receptor subunit expression pattern in cancer cells. *Oncoimmunology*, 2023, Vol. 12, no. 1, 2261326. doi: 10.1080/2162402X.2023.2261326.
30. Ru Y., Kechris K.J., Tabakoff B., Hoffman P., Radcliffe R.A., Bowler R., Mahaffey S, Rossi S, Calin G.A., Bemis L., Theodorescu D. The multiMiR R package and database: integration of microRNA-target interactions along with their disease and drug associations. *Nucleic Acids Res.*, 2014, Vol. 42, no. 17, e133. doi: 10.1093/nar/gku631
31. Saeed H., Leibowitz B.J., Zhang L., Yu J. Targeting Myc-driven stress addiction in colorectal cancer. *Drug Resist. Updat.*, 2023, Vol. 69, 100963. doi: 10.1016/j.drup.2023.100963.
32. Sawicki T., Ruszkowska M., Danielewicz A., Niedźwiedzka E., Arlu-kowicz T., Przybyłowicz K.E. A review of colorectal cancer in terms of epidemi-ology, risk factors, development, symptoms and diagnosis. *Cancers (Basel)*, 2021, Vol. 13, no. 9, 2025. doi: 10.3390/cancers13092025.
33. Shah A.A., Kamal M.A., Akhtar S. Tumor Angiogenesis and VEGFR-2: Mechanism, pathways and current biological therapeutic interventions. *Curr. Drug Metab.*, 2021, Vol. 22, no. 1, pp. 50-59.
34. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.*, 2003, Vol. 13, no. 11, pp. 2498-2504.
35. Shimabukuro-Vornhagen A., Schlöber H.A., Gryschok L., Malcher J., Wennhold K., Garcia-Marquez M., Herbold T., Neuhaus L.S., Becker H.J., Fiedler A., Scherwitz P., Koslowsky T., Hake R., Stippel D.L., Hölscher A.H., Eidt S., Hallek M., Theurich S., von Bergwelt-Baildon M.S. Characterization of tumor-associated B-cell subsets in patients with colorectal cancer. *Oncotarget*, 2014, Vol. 5, no. 13, pp. 4651-4664.
36. Sorrentino C., D'Antonio L., Fieni C., Ciummo S.L., Di Carlo E. Colorectal cancer-associated immune exhaustion involves T and B lymphocytes and conventional NK cells and correlates with a shorter overall survival. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 778329. doi: 10.3389/fimmu.2021.778329.
37. Sui G., Qiu Y., Yu H., Kong Q., Zhen B. Interleukin-17 promotes the development of cisplatin resistance in colorectal cancer. *Oncol. Lett.*, 2019, Vol. 17, no. 1, pp. 944-950.
38. Sun Z., Li G., Shang D., Zhang J., Ai L., Liu M. Identification of microsatellite instability and immune-related prognostic biomarkers in colon adenocarcinoma. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 988303. doi: 10.3389/fimmu.2022.988303
39. Talaat I.M., Elemam N.M., Zaher S., Saber-Ayad M. Checkpoint molecules on infiltrating immune cells in colorectal tumor microenvironment. *Front. Med. (Lausanne)*, 2022, Vol. 9, 955599. doi: 10.3389/fmed.2022.955599.
40. Ulgen E., Ozisik O., Sezerman O.U. pathfindR: An R package for comprehensive identification of enriched pathways in omics data through active subnetworks. *Front. Genet.*, 2019, Vol. 10, 858. doi: 10.3389/fgene.2019.00858.
41. Wang Z., Ao X., Shen Z., Ao L., Wu X., Pu C., Guo W., Xing W., He M., Yuan H., Yu J., Li L., Xu X. TNF- α augments CXCL10/CXCR3 axis activity to induce Epithelial-Mesenchymal Transition in colon cancer cell. *Int. J. Biol. Sci.*, 2021, Vol. 17, no. 11, pp. 2683-2702.
42. Wu T., Yang W., Sun A., Wei Z., Lin Q. The Role of CXC chemokines in cancer progression. *Cancers (Basel)*, 2022, Vol. 15, no. 1, 167. doi: 10.3390/cancers15010167
43. Xiao Y, Freeman GJ. The microsatellite instable subset of colorectal cancer is a particularly good candidate for checkpoint blockade immunotherapy. *Cancer Discov.*, 2015, Vol. 5, no. 1, pp. 16-18. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1397.
44. Xie S., Cai Y., Chen D., Xiang Y., Cai W., Mao J., Ye J. Single-cell tran-scriptome analysis reveals heterogeneity and convergence of the tumor microenvi-ronment in colorectal cancer. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 13, 1003419. doi: 10.3389/fimmu.2022.1003419.

45. Zeng K., Li W., Wang Y., Zhang Z., Zhang L., Zhang W., Xing Y., Zhou C. Inhibition of CDK1 overcomes oxaliplatin resistance by regulating ACSL4-mediated ferroptosis in colorectal cancer. *Adv. Sci. (Weinh.)*, 2023, Vol. 10, no. 25, e2301088. doi: 10.1002/advs.202301088.
46. Zhang P., Kawakami H., Liu W., Zeng X., Strebhardt K., Tao K., Huang S., Sinicrope F.A. Targeting CDK1 and MEK/ERK Overcomes Apoptotic Resistance in BRAF-mutant human colorectal cancer. *Mol. Cancer Res.*, 2018, Vol. 16, no. 3, pp. 378-389.
47. Zhang J., Ji C., Li W., Mao Z., Shi Y., Shi H., Ji R., Qian H., Xu W., Zhang X. Tumor-educated neutrophils activate mesenchymal stem cells to promote gastric cancer growth and metastasis. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2020, Vol. 8, 788. doi: 10.3389/fcell.2020.00788.
48. Zhang X., Shi H., Yuan X., Jiang P., Qian H., Xu W. Tumor-derived exosomes induce N2 polarization of neutrophils to promote gastric cancer cell migration. *Mol. Cancer*, 2018, Vol. 17, no. 1, 146. doi: 10.1186/s12943-018-0898-6.
49. Zhang Y., Zhao Y., Li Q., Wang Y. Macrophages, as a promising strategy to targeted treatment for colorectal cancer metastasis in tumor immune microenvironment. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 685978. doi: 10.3389/fimmu.2021.685978.
50. Zheng Z., Wieder T., Mauerer B., Schäfer L., Kesselring R., Braumüller H. T cells in colorectal cancer: unravelling the function of different T cell subsets in the tumor microenvironment. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 14, 11673. doi: 10.3390/ijms241411673.
51. Zheng W., Wu J., Peng Y., Sun J., Cheng P., Huang Q. Tumor-associated neutrophils in colorectal cancer development, progression and immunotherapy. *Cancers (Basel)*, 2022, Vol. 14, no. 19, 4755. doi: 10.3390/cancers14194755.
52. Zhuo C., Ruan Q., Zhao X., Shen Y., Lin R. CXCL1 promotes colon cancer progression through activation of NF- κ B/P300 signaling pathway. *Biol. Direct*, 2022, Vol. 17, no.1, pp. 34. doi: 10.1186/s13062-022-00348-4.

Авторы:

Кит О.И. — д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Гвалдин Д.Ю. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Петрусенко Н.А. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Тимошкина Н.Н. — к.б.н., заведующая лабораторией молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Савченко Д.А. — врач-онколог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Новикова И.А. — д.м.н., заместитель генерального директора по науке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Authors:

Kit O.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, General Director, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Gvaldin D. Yu., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Petrusenko N.A., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Timoshkina N.N., PhD (Biology), Head, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Savchenko D.A., Clinical Oncologist, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Novikova I.A., PhD, MD (Medicine), Deputy Director for Research, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Поступила 22.11.2024

Отправлена на доработку 02.12.2024

Принята к печати 23.03.2025

Received 22.11.2024

Revision received 02.12.2024

Accepted 23.03.2025