10.15789/1563-0625-CST-3214

ТРАНСКРИПТОМИКА ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК В ИССЛЕДОВАНИИ РАКА ПРОСТАТЫ

Акрамова Э. Р. [1],

Шарифьянова Ю. В. [1],

Гайнуллина Д. Х. [1],

Шмелькова П. Н. [1],

Калимуллина Л. И. [1],

Павлов В. Н. [1],

Еникеева К. И. [1]

[1] Федеральное Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа, Российская Федерация.

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

10.15789/1563-0625-CST-3214

SINGLE CELL TRANSCRIPTOMICS IN PROSTATE CANCER RESEARCH

Akramova E. R.,

Sharifyanova Yu. V.,

Gainullina D. Kh.,

Shmelkova P. N.,

Enikeeva K. I.,

Pavlov V. N.

[a] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ufa, Russian Federation.

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-CST-3214

Резюме

Цель исследования. Проанализировать современные достижения в области транскриптомных технологий, ориентированных на анализе единичных клеток с акцентом на их применение в исследовании опухолевого микроокружения и иммунного ландшафта при раке предстательной железы.

Методы. Были проанализированы научные базы данных PubMed, Medline, Web of Science, Embase.

Результаты. Рак предстательной железы (РПЖ) — злокачественное новообразование, зависящее от гормонов андрогенного происхождения, которое поражает мочеполовую систему мужчин. Данные показывают, что у мужчин младше 40 лет РПЖ встречается крайне редко, в то время как наибольшее количество случаев наблюдается в возрастной группе от 50 до 70 лет. На сегодняшний день РПЖ является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний среди мужчин и представляет собой одну из основных причин смертности от рака. Согласно данным Глобальной онкологической обсерватории (GCO), в 2022 году по всему миру было зарегистрировано 1 467 854 новых случаев РПЖ, что привело к 397 430 летальным исходам, связанным с этим заболеванием. РПЖ занимает четвертое место по заболеваемости и второе — по смертности среди всех онкологических заболеваний у мужчин. В России РПЖ занимает вторую позицию по заболеваемости среди всех видов рака у мужчин, с зарегистрированными 52 712 случаями на 2022 год, и четвертую — по смертности, с 14 635 случаями. Глубокое понимание механизмов патогенеза и прогрессирования РПЖ имеет ключевое значение для эффективной диагностики и разработки методов лечения. В обзоре представлен анализ транскриптомных техологий в разрешении единичных клеток в изучении клеточной гетерогенности при раке предстательной железы. Также подробно представлена методология анализа, охарактеризована клеточная гетерогенность при раке предстательной железы, описаны современные исследования в области транскриптомики единичных клеток при раке простаты а также обозначены перспективные направления применения полученных результатов в клинической практике. Результаты исследований в этой области имеют значительный потенциал для использования в качестве как прогностических, так и диагностических маркеров опухолевых процессов. Таким образом, работа подчеркивает важность изучения клеточной гетерогенности для совершенствования методов диагностики и терапии рака простаты.

Обсуждение. Технологии исследования транскриптома единичных клеток предоставляют уникальные возможности для углубленного понимания молекулярных и клеточных механизмов, лежащих в основе иммунного ответа при онкологических заболеваниях. Полученные данные могут стать основой для развития новых направлений в фундаментальной иммунологии, разработки инновационных терапевтических стратегий и внедрения

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-CST-3214

персонализированного подхода к лечению рака простаты, что открывает перспективы для повышения эффективности терапии.

Ключевые слова: рак, простата, транскриптомика, секвенирование, scRNAseq, РНК, ДНК.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-CST-3214

Abstract

Study Objective. To review current advances in transcriptome technologies focused on single cell analysis with emphasis on their application in the study of the tumor microenvironment and immune landscape in prostate cancer.

Methods. PubMed, Medline, Web of Science, and Embase scientific databases were analyzed.

Results. Prostate cancer (PCa) is an androgen hormone-dependent malignant neoplasm that affects the male genitourinary system. Evidence shows that in men under 40 years of age, PCa is extremely rare, while the highest number of cases occurs in the 50 to 70 age group. Today, PCa is one of the most common cancers among men and represents one of the leading causes of cancer-related deaths. According to the Global Cancer Observatory (GCO), there were 1,467,854 new cases of cancer worldwide in 2022, resulting in 397,430 deaths associated with the disease. PCa ranks fourth in terms of incidence and second in terms of mortality among all cancers in men. In Russia, PCa ranks second in incidence among all cancers in men, with 52,712 cases registered as of 2022, and fourth in mortality, with 14,635 cases. A thorough understanding of the mechanisms of the pathogenesis and progression of PCa is key to effective diagnosis and treatment development. This review presents an analysis of transcriptome-based techniques in single cell resolution in the study of cellular heterogeneity in prostate cancer. The methodology of the analysis is also presented in detail, cellular heterogeneity in prostate cancer is characterized, current research in the field of single cell transcriptomics in prostate cancer is described, and promising directions of application of the results in clinical practice are outlined. The results of research in this area have significant potential for use as both prognostic and diagnostic markers of tumor processes. Thus, the work emphasizes the importance of studying cellular heterogeneity to improve the methods of prostate cancer diagnostics and therapy.

Discussion. Technologies for studying the transcriptome of single cells provide unique opportunities for in-depth understanding of the molecular and cellular mechanisms underlying the immune response in cancer. The data obtained may become the basis for the development of new directions in fundamental immunology, the development of innovative therapeutic strategies and the introduction of a personalized approach to prostate cancer treatment, which opens prospects for improving the effectiveness of therapy.

Keywords: cancer, prostate, transcriptomics, sequencing, scRNAseq, RNA, DNA.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-CST-3214

1. Введение

На сегодняшний день рак предстательной железы (РПЖ) является самым распространённым злокачественным заболеванием среди мужчин во всем мире и одной из основных причин их смертности от рака [32]. РПЖ представляет собой клинически разнообразное заболевание. У некоторых пациентов выявляются опухоли низкого риска, тогда как у других диагностируется заболевание высокого риска с вероятностью рецидива, даже после применения современных методов лечения, таких как робот-ассистированная радикальная простатэктомия (РПЭ), андроген-депривационная и лучевая терапии.

Существует необходимость в более глубоком понимании и изучении биологии микроокружения РПЖ [13].

Технологии экспрессии генов на уровне отдельных клеток сделали возможным анализ тысяч клеток в одном образце, что позволило глубже понять гетерогенность опухолевых клеток и сложную систему образования микроокружения злокачественной опухоли предстательной железы.

Для установления прогрессии злокачественной опухоли простаты важно иметь представление о конкретных типах клеток, образующих рак простаты. Решение этой задачи оказалось возможным в результате разработки и применения технологий секвенирования РНК (RNA-seq) единичных клеток (scRNA-seq) или отдельных ядер — эффективного инструмента для понимания роли клеток разных типов в прогрессировании рака простаты. Эти технологии позволяют представить распределение клеток конкретного типа, анализируя экспрессию генов в контексте тканевой структуры или крови.

2. Методы и подходы в транскриптомике единичных клеток

РНК-секвенирование единичных клеток включает следующие этапы: [14, 4, 33, 3, 16, 24, 31]:

1) Получение изолированных отдельных клеток

Изолирование одиночных клеток биологического образца заключается в разделении клеток или их ядер в пространстве. Для этого обычно используют клеточные сортера, такие как CytoFLEX SRT (США), MACSQuant® Tyto (Германия), S3e Cell Sorter — Bio-Rad (США) от различных коммерческих компаний [28, 37] или систему «10X Genomics» (США), принцип работы которого заключается в том, что клетки связываются по одной с особыми гранулами в специальном микрофлюидном устройстве, а полученные комплексы затем упаковываются в отдельные масляные капли для дальнейшего анализа [41].

Также одним из решений изолирования чистых популяций клеток является микродиссекция с лазерным захватом. Этот подход позволяет работать с образцами фиксированной ткани или культурами фиксированных клеток, используя прямую визуализацию под микроскопом [8]. Микроскоп, оснащенный лазером, позволяет аккуратно иссекать выбранные участки ткани, которые затем собираются в пробирку. Изолированные фрагменты

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

могут быть использованы для дальнейшего анализа, включая исследования РНК, ДНК и протеомные исследования.

2) Подготовка и амплификация нуклеиновых кислот

Состоит из несколько этапов:

1. Изолированные единичные клетки подвергаются лизису для максимального извлечения молекул РНК.

2. Для специфического анализа полиаденилированных мРНК и предотвращения захвата рибосомной РНК обычно применяются поли(Т)-праймеры. Анализ неполиаденилированных мРНК, как правило, более сложен и требует специальных протоколов. [30, 10].

3. После этого поли(Т)-праймированная мРНК преобразуется в комплементарную ДНК (кДНК) с использованием обратной транскриптазы. В зависимости от протокола scRNA-seq к праймерам для обратной транскрипции могут добавляться дополнительные нуклеотидные последовательности, такие как адаптеры для NGS-платформ, уникальные молекулярные идентификаторы для точной маркировки отдельных молекул мРНК и последовательности, сохраняющие информацию о клеточном происхождении [17].

4. Затем небольшие объемы кДНК амплифицируются либо с помощью ПЦР, либо, в некоторых случаях, с использованием транскрипции in vitro.

5. Подготовка библиотек заключающаяся в маркировке нуклеотидным штрих-кодом для сохранения информации о клеточном происхождении [6].

3) Высокопроизводительное секвенирование

Следующим этапом после изоляции клеток является подготовка РНК к секвенированию.

Этот процесс включает в себя получение кДНК и её расщепление на считываемые фрагменты, что схоже на стандартную подготовку к NGS секвенированию, но с некоторыми изменениями. Ключевым отличием является необходимость индивидуальной маркировки каждой клетки, так как кДНК всех выделенных клеток затем необходимо объединить для достижения высокой производительности. Поэтому в каждую лунку планшета или на каждую гранулу, используемую в капельной технологии изоляции клеток, добавляют уникальные олигонуклеотидные метки, синтезированные комбинаторным методом. После получения большого объёма считываний фрагментов целевой кДНК, программное обеспечение позволяет распознавать подмножества этих считываний (ридов), относящиеся к единичным клеткам [42].

4) Анализ данных

Данные экспериментов scRNA-seq имеют ряд особенностей, которые требуют специальных подходов к биоинформатике.

После проведения предварительной обработки данных, направленной на извлечение биологической информации и описание исследуемой биологической системы, осуществляется комплексный анализ. Этот анализ включает несколько ключевых этапов [26]:

 10.15789/1563-0625-CST-3214

1) Кластеризация клеток и построение траекторий дифференцировки – выявление групп клеток на основе схожести их транскриптомных профилей и определение путей их дифференцировки в процессе развития. В результате формируются группы клеток, объединенные общими паттернами экспрессии генов, что служит основой для дальнейшего биологического анализа [26, 15]. Кластеризация данных позволяет не только идентифицировать уже известные типы клеток, характеризующиеся специфическими генами-маркерами, но и выявлять новые, ранее не описанные клеточные популяции. Этот подход открывает возможности для более глубокого понимания клеточного разнообразия и обнаружения уникальных биологических особенностей, которые могут быть упущены при использовании традиционных методов анализа. Кластеризация клеток представляет собой один из ключевых этапов анализа single cell данных и часто служит первым значимым промежуточным результатом.

Анализ дифференциальной экспрессии генов – идентификация генов, уровень экспрессии которых значимо различается между различными клеточными популяциями, что позволяет выявить молекулярные механизмы, лежащие в основе их функциональных различий. Анализ дифференциальной экспрессии позволяет выявить, как различные клеточные популяции изменяют свою транскрипционную активность в ответ на конкретные экспериментальные условия. Это помогает понять молекулярные механизмы, лежащие в основе клеточных реакций, и выделить ключевые гены, которые могут играть важную роль в этих процессах.

2) Исследование межклеточных взаимодействий – изучение коммуникации между клетками, включая анализ сигнальных путей и молекулярных сетей, которые регулируют клеточное поведение и координацию в системе.

3) Оценка динамики клеточного цикла – мониторинг изменений в прохождении клетками различных фаз клеточного цикла, что позволяет понять закономерности пролиферации и дифференцировки в контексте изучаемой биологической системы.

Таким образом, данные подходы не только углубляют понимание генной регуляции, но и связывают её с клеточной гетерогенностью, что позволяет получить более полную картину биологических процессов на уровне отдельных клеток [26].

2. Клеточная гетерогенность при раке простаты

В последние годы метод секвенирования РНК единичных клеток (scRNA-seq) находит все более широкое применение в различных научных дисциплинах, таких как иммунология, молекулярная биология и онкология.

Метод scRNA-seq открыл новые горизонты для одновременного анализа тысяч клеток в образце, что позволило выявить гетерогенность и сложность опухолевых клеток [1, 21, 35]. Этот подход также предоставляет уникальные возможности для изучения регуляции, эволюции и взаимодействий отдельных клеток [35, 9, 19, 36, 38]. Понимание клеточной коммуникации и эволюции

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

является важным шагом к осознанию роли различных компонентов опухоли и её микроокружения, а также к формированию сети их взаимодействия [18].

Метод scRNA-seq становится все более популярным, его использование в исследованиях рака предстательной железы ограничивается не только циркулирующими опухолевыми клетками, но и иммортализованными клеточными линиями [22]. Применение scRNA-seq в изучении гетерогенности РПЖ позволяет создавать подробные клеточные транскрипционные профили, что в дальнейшем может помочь предсказать сигнальные пути и прояснить процессы дифференцировки, функций и развития клеток [18].

Опухолевая ткань предстательной железы состоят из раковых клеток, стромальных клеток (включая фибробласты, связанные с опухолью — cancer-associated fibroblasts (CAF), гладкомышечных клеток, эндотелиальных клеток и перицитов) и иммунных клеток (миелоидные клетки: CD4+ и CD8+ Т-клетки, NK-клетки и В-клетки). CAF обычно расположены на границах опухоли. Гладкомышечные клетки, перициты и эндотелиальные клетки участвуют в формировании микрососудов. Микроокружение опухоли (TME) характеризуется иммуносупрессией: увеличением миелоидных клеток, снижением Т-клеток, активацией Treg, увеличением количества обедненных CD56DIM NK-клеток и активацией В-клеток [22].

На данный момент актуальной задачей является углубленное изучение микроокружения опухоли предстательной железы. Это направление может открыть новые перспективы для идентификации терапевтических мишеней и разработки эффективных методов лечения [32].

Как показывают исследования De Vargas Roditi L и др. выявили в микроокружении опухоли простаты пять фенотипов Т-клеток (CD3+, CD45+) и пять фенотипов макрофагов (CD68+, CD45+). Также были обнаружены три гранулоцитарных (CD24+/CD15+), один стромальный (SMA+, S100A4+), один В-клеточный (CD20+) и один эндотелиальный (CD31+) метакластеры. Эти метакластеры содержали разнообразные клетки, характерные для большинства пациентов [5].

Исследование M. C. Haffner показало, что большинство метастатических поражений при mCRPC (метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы, являющимся агрессивной формой заболевания, которое не поддается хирургическому вмешательству и гормонотерапии и распространяющееся за пределы предстательной железы) сохраняют дифференцировку по линии предстательной железы, характеризующийся экспрессией маркеров эпителия предстательной железы: AR (андрогеновый рецептор), NKX3.1 и PSA (простатический специфический антиген) [20, 2, 11]. Однако терапия может вызывать изменения клеточной дифференцировки, приводящие к резистентности [11]. У пациентов с mCRPC наблюдалась потеря экспрессии AR и усиление нейроэндокринной дифференцировки, что указывает на фенотипическую пластичность опухолей [2]. Эти данные позволяют классифицировать mCRPC на подгруппы, определяемые экспрессией AR, его генов-мишеней и нейроэндокринных маркеров [11].

Исследование, проведенное B. Dong и др., показало, что повторная кластеризация эпителиальных клеток из каждой опухоли в сочетании с анализом тепловой карты позволяет выделить субкластеры эпителиальных клеток в каждом образце. Эти субкластеры характеризировались высокой экспрессией маркеров люминальных клеток, таких как KRT8 и KRT18. В то же время, экспрессия генов, связанных с базальными клетками, нейроэндокринными (NE) и андрогенными (AR) сигнатурами, демонстрировала заметную гетерогенность как внутри опухоли, так и между различными опухолями [7].

3. Single cell и рак простаты: текущие исследования

В исследовании Bao Zhang и соавт. выявили, что базальные и промежуточные эпителиальные клетки экспрессируют гены, связанные с прогрессированием РПЖ, включая гены PIGR, MMP7 и AGR2. Анализ показал, что люминальные эпителиальные клетки могут служить предшественниками, дифференцируясь в базальные или промежуточные. Онкогенные пути, такие как катаболизм липидов и метаболизм жирных кислот, активны в этих клетках. Также обнаружено их тесное взаимодействие с нервными клетками, что может способствовать периневральной инвазии при РПЖ [39].

Yitian Ou и соавт. исследовали девять генов, ассоциированных с макрофагами M2 (SMOC2, PLPP1, HES1, STMN1, GPR160, ABCG1, MAZ, MYC, EPCAM), как потенциальные прогностические маркеры. Используя данные RNA-seq из когорта TCGA-PRAD (496 опухолевых и 52 нормальных образцов), полученные из информационного портала Genomic Data Commons (GDC) (https://portal.gdc.cancer.gov) в атласе Tumor Cancer Genomic Atlas (TCGA), а также наборы данных GSE54691 и GSE116918. Авторы провели анализ дифференциально экспрессируемых генов, иммунной и стромальной оценки, а также изучили чистоту опухоли и инфильтрацию иммунных клеток. Дополнительно был проанализирован транскриптом единичных клеток из GSE137829. Результаты подтвердили, что макрофаги M2 способствуют пролиферации, инвазии и миграции клеток рака предстательной железы [27] .

Joseph C Siefert и соавт. провели транскриптомный анализ единичных клеток резидентных макрофагов рака предстательной железы человека, в результате чего были выявлены три различные популяции в пораженной простате. Удивительно, но не было обнаружено значительных различий между макрофагами, выделенными из опухолевых и неопухолевых участков образцов, полученных при простатэктомии. Хотя в опухолевой ткани были идентифицированы маркеры – CD68, PLAC8, CD2017, связанные с классическими фенотипами макрофагов M1 и M2, они не оказались ключевыми факторами, определяющими уникальные подтипы макрофагов [31].

Wen Liu и соавт. с помощью scRNA-seq выделили кластер клеток, ассоциированных с фибробластами опухоли (CAF), состоящий из 783 клеток и определили 183 маркерных гена. Анализ межклеточной коммуникации

выявил активное взаимодействие CAF с иммунными клетками. На основе 7 генов (ASPN, AEBP1, ALDH1A1, BGN, COL1A1, PAGE4, RASD1) разработана модель прогноза безрецидивной выживаемости (bRFS), валидированная на четырех когортах с использованием bulk РНК-секвенирования. Группа высокого риска по этой модели характеризовалась иммуносупрессивным микроокружением с повышенным уровнем M2-макрофагов, сниженным количеством плазматических и CD8+ Т-клеток и меньшей эффективностью иммунотерапии. Неконтролируемая кластеризация выявила три подтипа CAF: миофибробластоподобные (myCAFs), иммунные и воспалительные (iCAF) и антигенпрезентирующие (apCAFs) [23].

Исследование Isabel Heidegger и соавт. с использованием scRNA-seq выявило 27 подтипов клеток, включая эндотелиальные клетки с артериальными, венозными и ангиогенными сигнатурами. Артериальные опухолевые эндотелиальные клетки (ОЭК) экспрессируют ген CXCL12 на высоком уровне по сравнению с другими клетками опухолевого микроокружения рака простаты, что связано с негативной прогностической ролью. Установлено взаимодействие CXCL12 с рецептором CXCR4 на ангиогенных клетках. Эксперименты in vitro и in vivo подтвердили роль CXCL12 как мишени: ингибитор CXCR4-AMD3100 снижал плотность и количество сосудов, пролиферацию и миграцию ОЭК. Результаты указывают на CXCR4/CXCL12 как потенциальную мишень для подавления ангиогенеза при раке предстательной железы [12].

Zhou Sun и др. в 2024 году предоставили новые идеи для борьбы с раком предстательной железы и улучшения клинических результатов, тем самым открывая новые возможности для индивидуальных альтернатив лечения. Была разработана инновационная прогностическая модель, заключающаяся в модификации гистонов и высокой прогностической эффективностью гена YWHAH- в качестве возможных диагностических и терапевтических биомаркеров РПЖ [34].

4. Перспективы и прикладное значение исследований транскриптома единичных клеток при раке простаты

Методы транскриптомики применяют для создания атласов экспрессии генов в любых тканевых компартментах рака предстательной железы, описывающих дорожную карту прогрессирования опухоли качественным и количественным образом [25].

Секвенирование РНК единичных клеток в исследованиях рака может быть использован для идентификации редких субпопуляций и циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК); в определении гетерогенности опухоли и механизмов, связанных с онкогенезом, прогрессированием, метастазированием, эволюцией, рецидивом и резистентностью к терапии [43, 40].

Интегрируя клиническую патологическую информацию и данные секвенирования единичных клеток, можно расшифровать новые

 10.15789/1563-0625-CST-3214

диагностические и прогностические биомаркеры и потенциально терапевтически значимые типы или состояния клеток [29].

Например, в исследовании Joseph C. Siefert и др., генетические маркеры, специфично ассоциированные с каждым кластером макрофагов, были использованы для создания генетической сигнатуры, которая оказалась тесно связанной как с безрецидивной, так и с метастазированной выживаемостью. Эти результаты подчеркивают важность тканеспецифичных подтипов макрофагов в опухолевом микроокружении для прогрессирования рака предстательной железы и демонстрируют полезность профилирования транскриптомики единичных клеток в образцах опухолей человека как стратегии для разработки генетических классификаторов, способствующих прогнозированию течения заболевания у пациентов [31].

Предсказать эффективно прогноз при раке предстательной железы, а также послужить индикатором для иммунотерапии позволяет сигнатура полученная от CAF (кластер клеток, ассоциированных с фибробластами опухоли), стимулярующие ремоделирование внеклеточного матрикса, рост раковых клеток и ангиогенез, что приводит к ухудшению прогноза заболевания. Проведенное исследование также выявило три субпопуляции CAF с различными функциями в контексте рака предстательной железы [23].

5. Вывод

Исследования транскриптома единичных клеток (scRNA-seq) при РПЖ открывают новые перспективы для понимания опухолевой биологии и разработки персонализированных подходов к лечению. Кроме того scRNA-seq позволяет анализировать гетерогенность клеток в пределах одной опухоли, выявляя различные подтипы раковых клеток, которые могут иметь разные молекулярные профили и иммунный ответ на лечение, а также может помочь выявить механизмы резистентности к терапии, позволяя исследовать, как отдельные единичные клетки адаптируются к лечению и какие молекулярные пути активируются. Анализ транскриптома единичных клеток может привести к открытию новых биомаркеров для диагностики и прогноза РПЖ. Сравнение транскриптомов клеток на разных стадиях заболевания может дать представление о том, как рак прогрессирует и какие молекулярные изменения происходят в ходе этого процесса.

Источник финансирования. Программа стратегического академического лидерства БГМУ ПРИОРИТЕТ-2030.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-CST-3214

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Акрамова Элина Ринатовна — лаборант-исследователь лаборатории иммунологии Института урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, магистрант 2-го года обучения Института развития образования по направлению Биология ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;
адрес: ул. Шафиева, 2, корп. 5, г. Уфа, Россия, 450083;
телефон: 8(996)256-98-57;
e-mail: erakramova@bashgmu.ru

Elina Rinatovna Akramova — laboratory assistant-researcher at the immunology laboratory of the Institute of Urology and Clinical Oncology of FSBEI HE BSMU MOH Russia, 2nd year Master's student at the Institute for Education Development in the field of Biology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
address: st. Shafieva, 2, bldg. 5, Ufa, Russia, 450083;
telephone: 8(996)256-98-57;
e-mail: erakramova@bashgmu.ru

Блок 2. Информация об авторах

Шарифьянова Юлия Вакилевна - младший научный сотрудник лаборатории иммунологии Института урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;
Sharifyanova Yulia Vakilevna - Junior Researcher, Laboratory of Immunology, Institute of Urology and Clinical Oncology FSBEI HE BSMU MOH Russia;

Гайнуллина Диана Халиловна - лаборант-исследователь лаборатории иммунологии Института урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, студент 5 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;
Gainullina Diana Khalilovna - laboratory assistant-researcher at the immunology laboratory of the Institute of Urology and Clinical Oncology of FSBEI HE BSMU MOH Russia, 5th year student of the pediatric faculty of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;

Шмелькова Полина Николаевна - лаборант-исследователь лаборатории иммунологии Института урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, студент 5 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;
Shmelkova Polina Nikolaevna - laboratory assistant-researcher at the immunology laboratory of the Institute of Urology and Clinical Oncology of FSBEI HE BSMU

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

MOH Russia, 5th year student of the pediatric faculty of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;

Калимуллина Лилия Ильгизовна - младший научный сотрудник лаборатории иммунологии Института урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;
Kalimullina Lilia Ilgizovna - Junior Researcher, Laboratory of Immunology, Institute of Urology and Clinical Oncology FSBEI HE BSMU MOH Russia;

Павлов Валентин Николаевич - Академик РАН, ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор;
Pavlov Valentin Nikolaevich - Academician of the Russian Academy of Sciences, Rector of the FSBEI HE BSMU MOH Russia, Doctor of Medical Sciences, Professor;

Еникеева Кадрия Ильдаровна - канд. фарм. наук; заведующий лабораторией иммунологии Института урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;
Enikeeva Kadriya Ildarovna - Cand. Sci. (Farm); Head of the Laboratory of Immunology, Institute of Urology and Clinical Oncology FSBEI HE BSMU MOH Russia;

Блок 3. Метаданные статьи
ТРАНСКРИПТОМИКА ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК В ИССЛЕДОВАНИИ РАКА ПРОСТАТЫ
SINGLE CELL TRANSCRIPTOMICS IN PROSTATE CANCER RESEARCH

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
scRNAseq В ИССЛЕДОВАНИИ РАКА ПРОСТАТЫ
scRNAseq IN PROSTATE CANCER RESEARCH

Ключевые слова: рак, простата, транскриптомика, секвенирование, scRNAseq, РНК, ДНК.

Keywords: cancer, prostate, transcriptomics, sequencing, scRNAseq, RNA, DNA.

Обзоры.
Количество страниц текста – 7,
Количество таблиц – 0,
Количество рисунков – 0.
25.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Azizi E., Carr A.J., Plitas G., Cornish A.E., Konopacki C., Prabhakaran S., Nainys J., Wu K., Kiseliovas V., Setty M., Choi K., Fromme R.M., Dao P., McKenney P.T., Wasti R.C., Kadaveru K., Mazutis L., Rudensky A.Y., Pe'er D. Single-Cell Map of Diverse Immune Phenotypes in the Breast Tumor Microenvironment. Cell., 2018, Vol. 174, no. 5, pp. 1293-1308.	-	10.1016/j.cell.2018.05.060
2	Beltran H., Hruszkewycz A., Scher H.I., Hildesheim J., Isaacs J., Yu E.Y., Kelly K., Lin D., Dicker A., Arnold J., Hecht T., Wicha M., Sears R., Rowley D., White R., Gulley J.L., Lee J., Diaz Meco M., Small E.J., Shen	-	10.1158/1078-0432

	M., Knudsen K., Goodrich D.W., Lotan T., Zoubeidi A., Sawyers C.L., Rudin C.M., Loda M., Thompson T., Rubin M.A., Tawab-Amiri A., Dahut W., Nelson P.S. The Role of Lineage Plasticity in Prostate Cancer Therapy Resistance. Clin Cancer Res., 2019, Vol. 25, no. 23, pp. 6916-6924.		
3	Cao Y., Zhu S., Yu B., Yao C. Single-cell RNA sequencing for traumatic spinal cord injury. FASEB J., 2022, Vol. 36, no. 12.	-	10.1096/fj.202200943r
4	Chen G., Ning B., Shi T. Single-Cell RNA-Seq Technologies and Related Computational Data Analysis. Front Genet., 2019, pp. 310-317.	-	10.3389/fgene.2019.00317

5	De Vargas Roditi L., Jacobs A., Rueschoff J.H., Bankhead P., Chevrier S., Jackson H.W., Hermanns T., Fankhauser C.D., Poyet C., Chun F., Rupp N.J., Tschaebunin A., Bodenmiller B., Wild P.J. Single-cell proteomics defines the cellular heterogeneity of localized prostate cancer. Cell Rep Med., 2022, Vol. 3, no.4.	-	10.1016/j.xcrm.2022.100604
6	Donati G. The niche in single-cell technologies. Immunol Cell Biol., 2016, Vol. 94, no. 3, pp.250-255.	-	10.1038/icb.2015.107
7	Dong B., Miao J., Wang Y., Luo W., Ji Z., Lai H., Zhang M., Cheng X., Wang J., Fang Y., Zhu H.H., Chua C.W., Fan L., Zhu Y., Pan J., Wang J., Xue W., Gao W.Q., Single-cell	-	10.1038/s42003-020-01476-1

	analysis supports a luminal-neuroendocrine transdifferentiation in human prostate cancer. Commun Biol., 2020,Vol. 3, no. 1, pp.778.		
8	Emmert-Buck M.R., Bonner R.F., Smith P.D., Chuaqui R.F., Zhuang Z., Goldstein S.R., Weiss R.A., Liotta L.A. Laser capture microdissection. Science., 1996,Vol. 274, no. 5, pp.998-1001.	-	10.1126/science.274.5289.998
9	Enikeeva K., Rafikova G., Sharifyanova Y., Mulyukova D., Vanzin A., Pavlov V. Epigenetics as a Key Factor in Prostate Cancer. Adv Biol (Weinh)., 2024, Vol. 8, no. 5, pp. e2300520.	-	10.1002/adbi.202300520
10	Fan X., Zhang X., Wu X., Guo H., Hu Y., Tang F., Huang Y. Single-cell RNA-seq	-	10.1186/s13059-015-0706-1

	transcriptome analysis of linear and circular RNAs in mouse preimplantation embryos. Genome Biol., 2015, Vol. 16, no. 1, pp.148.		
11	Haffner M.C., Zwart W., Roudier M.P., True L.D., Nelson W.G., Epstein J.I., De Marzo A.M., Nelson P.S., Yegnasubramanian S. Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer. Nat Rev Urol., 2021, Vol. 18, no. 2, pp.79-92.	-	10.1038/s41585-020-00400-w
12	Heidegger I., Fotakis G., Offermann A., Goveia J., Daum S., Salcher S., Noureen A., Timmer-Bosscha H., Schäfer G., Walenkamp A., Perner S., Beatovic A., Moisse M., Plattner C., Krogsdam A., Haybaeck J., Sopper S., Thaler S., Keller M.A., Klocker H., Trajanoski Z., Wolf D., Pircher A. Comprehensive characterization of the	-	10.1186/s12943-022-01597-7

	prostate tumor microenvironment identifies CXCR4/CXCL12 crosstalk as a novel antiangiogenic therapeutic target in prostate cancer. Mol Cancer., 2022, Vol. 21, no. 1.		
13	Held-Warmkessel J. Treatment of advanced prostate cancer. Semin Oncol Nurs., 2001, Vol. 17, no. 2, pp. 118-128.	-	10.1053/sonu.2001.23078
14	Hwang B., Lee J.H., Bang D. Single-cell RNA sequencing technologies and bioinformatics pipelines. Exp Mol Med., 2018, Vol. 50, no. 8, pp. 1-14.	-	10.1038/s12276-018-0071-8
15	Islam S., Zeisel A., Joost S., La Manno G., Zajac P., Kasper M., Lönnerberg P.,	-	10.1038/nmeth.2772

	Linnarsson S. Quantitative single-cell RNA-seq with unique molecular identifiers. Nat Methods., 2014, Vol. 11, no. 2, pp. 163-166.		
16	Jovic D., Liang X., Zeng H., Lin L., Xu F., Luo Y. Single-cell RNA sequencing technologies and applications: A brief overview. Clin Transl Med., 2022, Vol. 12, no. 3.	-	10.1002/ctm2.694
17	Kivioja T., Vähärautio A., Karlsson K., Bonke M., Enge M., Linnarsson S., Taipale J. Counting absolute numbers of molecules using unique molecular identifiers. Nat Methods., 2011, Vol. 9, no. 1, pp.72-74.	-	10.1038/nmeth.1778

10.15789/1563-0625-CST-3214

18	Koukourakis I.M., Platoni K., Kouloulias V., Arelaki S., Zygogianni A. Prostate cancer stem cells: biology and treatment implications. Int J Mol Sci., 2023, Vol. 24, no. 19.	-	10.3390/ijms241914890
19	Kumar M.P., Du J., Lagoudas G., Jiao Y., Sawyer A., Drummond D.C., Lauffenburger D.A., Raue A. Analysis of Single-Cell RNA-Seq Identifies Cell-Cell Communication Associated with Tumor Characteristics. Cell Rep., 2018, Vol. 25, no. 6, pp. 1458-1468.	-	10.1016/j.celrep.2018.10.047
20	Labrecque M.P., Coleman I.M., Brown L.G., True L.D., Kollath L., Lakely B., Nguyen H.M., Yang Y.C., da Costa R.M.G., Kaipainen A., Coleman R., Higano C.S., Yu E.Y., Cheng H.H., Mostaghel E.A., Montgomery B., Schweizer M.T., Hsieh A.C.,	-	10.1172/JCI128212

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

	Lin D.W., Corey E., Nelson P.S., Morrissey C. Molecular profiling stratifies diverse phenotypes of treatment-refractory metastatic castration-resistant prostate cancer. J Clin Invest., 2019, Vol. 129, no. 10, pp.4492-4505.		
21	Lambrechts D., Wauters E., Boeckx B., Aibar S., Nittner D., Burton O., Bassez A., Decaluwé H., Pircher A., Van den Eynde K., Weynand B., Verbeken E., De Leyn P., Liston A., Vansteenkiste J., Carmeliet P., Aerts S., Thienpont B., Phenotype molding of stromal cells in the lung tumor microenvironment. *Nature medicine.*, 2018, Vol. 24, no. 8, pp.1277–1289.	-	10.1038/s41591-018-0096-5
22	Li Z., Li Z., Luo Y., Chen W., Fang Y., Xiong Y., Zhang Q., Yuan D., Yan B., Zhu J.	-	10.1186/s13619-024-00206-w

	Application and new findings of scRNA-seq and ST-seq in prostate cancer. Cell Regen., 2024, Vol. 13, no. 1, pp.23.		
23	Liu W., Wang M., Wang M., Liu M. Single-cell and bulk RNA sequencing reveal cancer-associated fibroblast heterogeneity and a prognostic signature in prostate cancer. Medicine (Baltimore)., 2023, Vol. 102, no. 32, pp.e34611.	-	10.1097/MD.0000000000034611
24	Liu Y., Liang S., Wang B., Zhao J., Zi X., Yan S., Dou T., Jia J., Wang K., Ge C. Advances in Single-Cell Sequencing Technology and Its Application in Poultry Science. Genes (Basel)., 2022, Vol. 13, no. 12, pp. 2211.	-	10.3390/genes13122211

10.15789/1563-0625-CST-3214

25	Liudahl S.M., Betts C.B., Sivagnanam S., Morales-Oyarvide V., da Silva A., Yuan C., Hwang S., Grossblatt-Wait A., Leis K.R., Larson W., Lavoie M.B., Robinson P., Dias Costa A., Väyrynen S.A., Clancy T.E., Rubinson D.A., Link J., Keith D., Horton W., Tempero M.A., Vonderheide R.H., Jaffee E.M., Sheppard B., Goecks J., Sears R.C., Park B.S., Mori M., Nowak J.A., Wolpin B.M., Coussens L.M. Leukocyte Heterogeneity in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Phenotypic and Spatial Features Associated with Clinical Outcome. Cancer Discov., 2021; Vol. 11, no. 8, pp.2014-2031.	-	10.1158/2159-8290.CD-20-0841

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

26	Luecken M.D., Theis F.J. Current best practices in single-cell RNA-seq analysis: a tutorial. Mol Syst Biol., 2019, Vol. 15, no. 6.	-	10.15252/msb.20188746
27	Ou Y., Xia C., Ye C., Liu M., Jiang H., Zhu Y., Yang D. Comprehensive scRNA-seq analysis to identify new markers of M2 macrophages for predicting the prognosis of prostate cancer. Ann Med., 2024, Vol. 56, no. 1.	-	10.1080/07853890.2024.2398195
28	Picelli S., Björklund Å.K., Faridani O.R., Sagasser S., Winberg G., Sandberg R. Smart-seq2 for sensitive full-length transcriptome profiling in single cells. Nat Methods., 2013, Vol. 10, no. 11, pp. 1096-1108	-	10.1038/nmeth.2639
29	Rozenblatt-Rosen O., Regev A., Oberdoerffer P., Nawy T., Hupalowska A., Rood J.E., Ashenberg O., Cerami E., Coffey R.J., Demir	-	10.1016/j.cell.2020.03.053

	E., Ding L., Esplin E.D., Ford J.M., Goecks J., Ghosh S., Gray J.W., Guinney J., Hanlon S.E., Hughes S.K., Hwang E.S., Iacobuzio-Donahue C.A., Jané-Valbuena J., Johnson B.E., Lau K.S., Lively T., Mazzilli S.A., Pe'er D., Santagata S., Shalek A.K., Schapiro D., Snyder M.P., Sorger P.K., Spira A.E., Srivastava S., Tan K., West R.B., Williams E.H. Human Tumor Atlas Network. The Human Tumor Atlas Network: Charting Tumor Transitions across Space and Time at Single-Cell Resolution. Cell., 2020, Vol. 181, no. 2, pp. 236-249.		
30	Sheng K., Cao W., Niu Y., Deng Q., Zong C. Effective detection of variation in single-cell transcriptomes using MATQ-seq. Nat Methods., 2017, Vol. 14, no. 3, pp. 267-270.	-	10.1038/nmeth.4145

31	Siefert J.C., Cioni B., Muraro M.J., Alshalalfa M., Vivié J., van der Poel H.G., Schoots I.G., Bekers E., Feng F.Y., Wessels L.F.A., Zwart W., Bergman A.M. The Prognostic Potential of Human Prostate Cancer-Associated Macrophage Subtypes as Revealed by Single-Cell Transcriptomics. Mol Cancer Res., 2021, Vol. 19, no. 10, pp. 1778-1791.	-	10.1158/1541-7786.MCR-20-0740
32	Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2020. CA Cancer J Clin., 2020, Vol. 70, no. 1, pp. 7-30.	-	10.3322/caac.21590
33	Slovin S., Carissimo A., Panariello F., Grimaldi A., Bouché V., Gambardella G., Cacchiarelli D. Single-Cell RNA Sequencing Analysis: A Step-by-Step Overview. Methods Mol Biol., 2021, Vol. 2284, pp. 343-365.	-	10.1007/978-1-0716-1307-8_19

34	Sun Z., Wang J., Zhang Q., Meng X., Ma Z., Niu J., Guo R., Tran L.J., Zhang J., Liu Y., Ye F., Ma B. Coordinating single-cell and bulk RNA-seq in deciphering the intratumoral immune landscape and prognostic stratification of prostate cancer patients. Environ Toxicol., 2024, Vol. 39, no. 2, pp. 657-668.	-	10.1002/tox.23928
35	Tirosh I., Izar B., Prakadan S.M., Wadsworth M.H. 2nd, Treacy D., Trombetta J.J., Rotem A., Rodman C., Lian C., Murphy G., Fallahi-Sichani M., Dutton-Regester K., Lin J.R., Cohen O., Shah P., Lu D., Genshaft A.S., Hughes T.K., Ziegler C.G., Kazer S.W., Gaillard A., Kolb K.E., Villani A.C., Johannessen C.M., Andreev A.Y., Van Allen E.M., Bertagnolli M., Sorger P.K., Sullivan R.J., Flaherty K.T., Frederick D.T., Jané-	-	10.1126/science.aad0501

	Valbuena J., Yoon C.H., Rozenblatt-Rosen O., Shalek A.K., Regev A., Garraway L.A. Dissecting the multicellular ecosystem of metastatic melanoma by single-cell RNA-seq. Science., 2016, Vol. 352, no. 6282,, pp. 189-196.		
36	Trapnell C., Cacchiarelli D., Grimsby J., Pokharel P., Li S., Morse M., Lennon N.J., Livak K.J., Mikkelsen T.S., Rinn J.L. The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells. Nat Biotechnol., 2014, Vol. 32, no. 4, pp. 381-386.	-	10.1038/nbt.2859
37	Valihrach L., Androvic P., Kubista M. Platforms for Single-Cell Collection and Analysis. Int J Mol Sci., 2018, Vol. 19, no. 3.	-	10.3390/ijms19030807

38	Vento-Tormo R., Efremova M., Botting R.A., Turco M.Y., Vento-Tormo M., Meyer K.B., Park J.E., Stephenson E., Polański K., Goncalves A., Gardner L., Holmqvist S., Henriksson J., Zou A., Sharkey A.M., Millar B., Innes B., Wood L., Wilbrey-Clark A., Payne R.P., Ivarsson M.A., Lisgo S., Filby A., Rowitch D.H., Bulmer J.N., Wright G.J., Stubbington M.J.T., Haniffa M., Moffett A., Teichmann S.A. Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans. Nature., 2018, Vol. 563, no. 7731, pp. 347-353.	-	10.1038/s41586-018-0698-6
39	Zhang B., Wang S., Fu Z., Gao Q., Yang L., Lei Z., Shi Y., Le K., Xiong J., Liu S., Zhang J., Su J., Chen J., Liu M., Niu B. Single-cell RNA sequencing reveals intratumoral heterogeneity and potential mechanisms of	-	10.3389/fgene.2022.1073232

	malignant progression in prostate cancer with perineural invasion. Front Genet., 2023, Vol. 13.		
40	Zhang L, Li Z, Skrzypczynska KM, Fang Q, Zhang W, O'Brien SA, et al. Single-cell analyses inform mechanisms of myeloid-targeted therapies in colon cancer. Cell., 2020, Vol. 181, no. 2, pp. 442-459.	-	10.1016/j.cell.2020.03.048
41	Zheng GX, Terry JM, Belgrader P, Ryvkin P, Bent ZW, Wilson R, Ziraldo SB, Wheeler TD, McDermott GP, Zhu J, Gregory MT, Shuga J, Montesclaros L, Underwood JG, Masquelier DA, Nishimura SY, Schnall-Levin M, Wyatt PW, Hindson CM, Bharadwaj R, Wong A, Ness KD, Beppu LW, Deeg HJ, McFarland C, Loeb KR, Valente WJ, Ericson NG, Stevens	-	10.1038/ncomms14049

	EA, Radich JP, Mikkelsen TS, Hindson BJ, Bielas JH. Massively parallel digital transcriptional profiling of single cells. Nat Commun., 2017, Vol. 8.		
42	Ziegenhain C, Vieth B, Parekh S, Reinius B, Guillaumet-Adkins A, Smets M, Leonhardt H, Heyn H, Hellmann I, Enard W. Comparative Analysis of Single-Cell RNA Sequencing Methods. Mol Cell., 2017, Vol. 65, no. 4, pp. 631-643.	-	10.1016/j.molcel.2017.01.023
43	Zilionis R, Engblom C, Pfirschke C, Savova V, Zemmour D, Saatcioglu HD, Krishnan I, Maroni G, Meyerovitz CV, Kerwin CM, Choi S, Richards WG, De Rienzo A, Tenen DG, Bueno R, Levantini E, Pittet MJ, Klein AM.	-	10.1016/j.immuni.2019.03.009

10.15789/1563-0625-CST-3214

	Single-Cell Transcriptomics of Human and Mouse Lung Cancers Reveals Conserved Myeloid Populations across Individuals and Species. Immunity., 2019, Vol. 50, no. 5, pp. 1317-1334.		

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)