

**ТРАНСКРИПТОМНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОНОЦИТОВ И ЕЕ
ВКЛАД В ФОРМИРОВАНИЕ ИММУННОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ
ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Шарифьянова Ю. В.¹,
Еникеева К. И.¹,
Коробейников В. Ю.^{1,2},
Шмелькова П. Н.¹,
Гайнуллина Д. Х.¹,
Акрамова Э. Р.¹,
Павлов В. Н.¹

¹ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; Россия, Уфа.

² Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ “Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук”, Томск, Россия.

**TRANSCRIPTOMIC HETEROGENEITY OF MONOCYTES AND ITS
CONTRIBUTION TO THE FORMATION OF THE IMMUNE
MICROENVIRONMENT IN PROSTATE CANCER**

Sharifyanova Yu. V. ^a,
Enikeeva K. I. ^a,
Korobeynikov V. Yu. ^{a, b},
Shmelkova P. N. ^a,
Gainullina D. H. ^a,
Akramova E. R. ^a,
Pavlov V. N. ^a

^a Institute of Urology and Clinical Oncology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia.

^b Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia.

Резюме

Наши современные знания о транскриптомных особенностях популяций моноцитов при раке простаты остаются весьма ограниченными. Это связано со сложностью исследования гетерогенных циркулирующих иммунных клеток, которая обусловлена изменчивостью клеточных фенотипов и антигенной экспрессией в опухоли. Применение секвенирования единичных клеток представляет возможность изучить транскрипционный профиль моноцитов, что может помочь ответить на многие вопросы, связанные с ролью различных субпопуляций моноцитов в формировании иммунного микроокружения опухоли у пациентов с раком простаты.

Целью исследования было охарактеризовать вклад транскриптомных особенностей субпопуляций моноцитов в формирование иммунного микроокружения при раке предстательной железы.

В исследование были включены 3 пациента с ацинарной аденокарциномой предстательной железы и 1 пациент с мелкоацинарной аденокарциномой предстательной железы. Транскриптомный профиль моноцитарных клеток периферической крови был получен с помощью секвенирования одноклеточной РНК (scRNA-seq). Подсчетные матрицы были получены с помощью Cell Ranger и проанализированы в R/Seurat с учетом дублетов (scDblFinder) и фильтрации низкокачественных клеток. После нормализации (SCTransform), интеграции (Harmony) и кластеризации (UMAP, PCA, FindClusters), кластеры аннотировали в Azimuth, а взаимодействия лиганд–рецептор исследовали с помощью CellChat.

Анализ транскриптомного профиля моноцитарных клеток с помощью секвенирования одноклеточной РНК (scRNA-seq) показал, что среди высокоэкспрессированных генов классических моноцитов прослеживается сеть, направленная на увеличение уровня провоспалительности иммуносреды (*S100A8*, *S100A9*, *IL-6*). Неклассические моноциты характеризовались повышением *TRPC6*, компонентами NO/cGMP-сигналинга (*GUCY1A1/B1*) и *Sema3A*, ассоциированными с ангиогенезом, рекрутированием моноцитов и их поляризацией в иммуносупрессивные фенотипы. Промежуточные моноциты демонстрировали активацию регуляторно-миграционных программ (*ETS1*, *CCL5*) вместе с элементами Т-клеточного взаимодействия (*CD3E*, *CD247*, *SKAP1*) и IL-сигналинга. Сигнальные профили моноцитарных субпопуляций при раке простаты демонстрируют разнообразие как в исходящих, так и во входящих путях, отражая их функциональную неоднородность. Отмечаются особенности, связанные с активацией TGFβ-, галлектинового и TRAIL-сигналинга, что указывает на участие различных субтипов моноцитов в формировании межклеточных взаимодействий в опухолевом микроокружении.

Таким образом, проведенный анализ подчеркивает важную роль транскриптомных особенностей субпопуляций моноцитов в организации

межклеточных взаимодействий и формировании иммунного микроокружения при раке простаты.

Ключевые слова: моноциты, рак простаты, секвенирование единичных клеток, транскриптом, микроокружение опухоли, сигнальные пути.

Abstract

Our current knowledge of the transcriptomic characteristics of monocyte populations in prostate cancer remains very limited. This is due to the complexity of studying heterogeneous circulating immune cells, which is caused by the variability of cell phenotypes and antigen expression in tumors. The use of single-cell sequencing provides an opportunity to study the transcriptional profile of monocytes, which may help answer many questions related to the role of different monocyte subpopulations in the formation of the tumor immune microenvironment in patients with prostate cancer.

The aim of the study was to characterize the contribution of transcriptional features of monocyte subpopulations to the formation of the immune microenvironment in prostate cancer.

The study included 3 patients with acinar adenocarcinoma of the prostate and 1 patient with small acinar adenocarcinoma of the prostate. The transcriptomic profile of peripheral blood monocyte cells was obtained using single-cell RNA sequencing (scRNA-seq). Counting matrices were obtained using Cell Ranger and analyzed in R/Seurat, taking into account duplicates (scDblFinder) and filtering low-quality cells. After normalization (SCTransform), integration (Harmony), and clustering (UMAP, PCA, FindClusters), clusters were annotated in Azimuth, and ligand–receptor interactions were explored using CellChat.

Transcriptome profiling of monocyte cells using single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) revealed that among the highly expressed genes of classical monocytes, there is a network aimed at increasing the level of proinflammation in the immune environment (S100A8, S100A9, IL-6). Non-classical monocytes were characterized by increased TRPC6, NO/cGMP signaling components (GUCY1A1/B1), and Sema3A, which are associated with angiogenesis, monocyte recruitment, and their polarization into immunosuppressive phenotypes. Intermediate monocytes demonstrated activation of regulatory-migratory programs (ETS1, CCL5) along with elements of T-cell interaction (CD3E, CD247, SKAP1) and IL signaling. The signaling profiles of monocyte subpopulations in prostate cancer show diversity in both outgoing and incoming pathways, reflecting their functional heterogeneity. Features associated with the activation of TGFβ-, galectin-, and TRAIL-signaling are noted, indicating the involvement of different monocyte subtypes in the formation of intercellular interactions in the tumor microenvironment.

Thus, the analysis emphasizes the important role of transcriptional features of monocyte subpopulations in the organization of intercellular interactions and the formation of the immune microenvironment in prostate cancer.

Keywords: monocytes, prostate cancer, single-cell sequencing, transcriptome, tumor microenvironment, signaling pathways.

1 Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее распространенных видов рака среди мужчин. По данным журнала The Lancet, в 2020 году зарегистрировано 1,4 миллиона новых случаев и их число может увеличиться до 2,9 миллиона в 2040 году. На долю РПЖ приходится 15% всех случаев рака в 112 странах [13].

Учитывая растущий интерес к изучению иммунного компонента при онкозаболеваниях, наше исследование посвящено периферическим мононуклеарным клеткам пациентов с раком предстательной железы [3]. Моноциты, ключевой компонент мононуклеарной фагоцитарной системы, играют важную роль в патогенезе рака, выполняя как про-, так и противоопухолевые функции, включая фагоцитоз, секрецию медиаторов, ангиогенез, ремоделирование матрикса, привлечение лимфоцитов и дифференциацию в опухолиассоциированные макрофаги и дендритные клетки, которые являются ключевыми компонентами микроокружения опухоли [27]. Моноцитарные клетки сегодня признаются чрезвычайно гетерогенной системой, а молекулярная архитектура их популяций при раке простаты все еще изучена лишь фрагментарно и нуждается в дальнейшей детализации. Это связано со сложностью исследования гетерогенных циркулирующих иммунных клеток, которая обусловлена изменчивостью клеточных фенотипов и антигенной экспрессией в опухоли. Гетерогенная среда является важнейшим фактором, влияющим на поведение опухоли и иммунный ответ, и моноциты составляют существенную ее часть. Применение секвенирования единичных клеток представляет возможность изучить транскрипционный профиль моноцитов, что может помочь ответить на многие вопросы, связанные с ролью различных субпопуляций моноцитов в формировании иммунного микроокружения опухоли у пациентов с раком простаты.

Таким образом, целью исследования было охарактеризовать вклад транскриптомных особенностей субпопуляций моноцитов в формирование иммунного микроокружения при раке предстательной железы.

2 Материалы методы

Клинические образцы

В исследование было включено 4 пациента с раком простаты. Все пациенты с гистологически подтвержденным РПЖ: 3 пациента с ацинарной аденокарциномой предстательной железы и 1 пациент с мелкоацинарной аденокарциномой предстательной железы. Пациенты не имели острых патологий, инфекционных заболеваний, а также других видов рака в анамнезе помимо РПЖ. Более подробная информация представлена в таблице (таблица 1).

Все 4 образца были использованы для секвенирования единичных клеток. Исследование проводилось в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации и было одобрено локальным этическим комитетом Федерального государственного медицинского университета БГМУ

Минздрава России 13.10.2023, протокол № 10. Письменное информированное согласие было получено от всех участников, включая пациентов/добровольцев, которые добровольно дали согласие на участие в исследовании

Выделение моноцитов периферической крови

Мононуклеары периферической крови получали путем центрифугирования (450g, 30 мин) цельной крови, разведенной фосфатно-солевым буфером (PBS), на градиенте фиколла с плотностью 1,077 г/мл. Подсчет количества клеток осуществляли с помощью автоматического счетчика клеток TC20 (BIO RAD, США). Общее количество живых клеток крови в аликвоте составляло до 5×10^6 клеток. Клеточные суспензии были заморожены в 500 мкл среды RPMI (Servicebio, Китай), 400 мкл бычьей фетальной сыворотки (HiMedia, Индия) и 100 мкл диметилсульфоксида (neoFroxx, Германия). В течение семи дней при температуре -80°C , затем перенесены в жидкий азот для длительного хранения при температуре -196°C (до шести месяцев).

Секвенирование одиночных клеток

Секвенирование одиночных клеток РНК проводилось на платформе Chromium X с использованием набора реагентов 10x Genomics Chromium Next GEM Single Cell 3' Reagent Kit v3.1. (10x Genomics, США). Качество образцов определяли с помощью биоанализатора TapeStation Instrument 4150 (Agilent Technologies, США). Секвенирование проводилось с помощью платформы Illumina Nextseq 2000 (Illumina, США).

Анализ данных секвенирования РНК отдельных клеток.

Матрицы подсчета были получены с помощью пайплайна Cell Ranger (версия 7.1.0, 10x Genomics). Необработанные данные подсчета были импортированы в R (версия 4.3.3) и проанализированы с помощью Seurat R (версия 5.1.0). Эффект дублетных клеток учитывали с помощью программы scDblFinder (версия 1.16.0). Низкокачественные клетки в каждом образце были идентифицированы и исключены из анализа на основе пороговых значений количества генов и UMI, которые определялись визуально с помощью VlnPlot. Также исключались клетки с высоким содержанием митохондриальных генов ($> 10\%$). После контроля качества все образцы объединялись в интегрированный объект Seurat. Экспрессию генов нормализовали с помощью функции SCTransform Seurat. Интеграция данных разных образцов проводилась с помощью пакета Harmony. После интеграции проводили снижение размерности и кластеризацию клеток с помощью функций RunUMAP, FindNeighbors (30 лучших векторов PCA) и FindClusters (разрешение 0,3). Полученные кластеры клеток были аннотированы с помощью программы Azimuth (версия 0.5.0). Взаимодействие клеток с рецепторами профилировалось с помощью анализа взаимодействия лиганд-рецептор в CellChat (версия 2.1.2).

3 Результаты

1. Кластеризация мононуклеарных клеток

В ходе работы мы получили РВМС 4 пациентов с раком простаты (рис. 1, а). Для изучения иммунного профиля пациентов с РПЖ периферические мононуклеарные клетки, полученные от этих пациентов, были подвергнуты scRNA seq (рис. 1, а). Мы отфильтровали клетки низкого качества в соответствии с ранее упомянутыми критериями. После контроля качества в группе было выявлено 16 кластеров, представленных на рисунке (рис. 1, б).

Рисунок 1. а – дизайн исследования; б – UMAP – график идентифицированных 16 кластеров клеток.

После этого мы приступили к детальному анализу кластера моноцитарных клеток, чтобы выяснить особенности их транскрипционного профиля.

Рисунок 2. а – UMAP график популяций моноцитов у пациентов с раком простаты. б – соотношение популяций моноцитов у пациентов с раком простаты

Традиционно моноциты классифицируются на основе экспрессии поверхностных маркеров CD14 и CD16 [34]. Пространственное разделение на UMAP-графике указывает на выраженные транскриптомные различия между субпопуляциями моноцитов (рис. 2, а). В предоставленной пропорции мы видим явное преобладание кластера классических моноцитов, занимающее примерно 70-75% от общего числа моноцитов (рис. 2, б). Наименьшую фракцию представили промежуточные моноциты. Количество неклассических моноцитов составило 20 - 25%. Это распределение отличается от нормальных показателей здоровых людей, где классические моноциты обычно составляют 85% циркулирующих моноцитов, промежуточные — 5%, а неклассические — 10% [35].

2. Дифференциальная экспрессия и патологические пути

В ходе исследования мы акцентировали внимание на высокоэкспрессированных генах с $\log FC > 0.25$. Анализ дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) в кластерах клеток у пациентов с РПЖ показал, что наибольшее количество ДЭГ — как с повышенной, так и с пониженной экспрессией — наблюдалось в кластере классических моноцитов.

Популяция классических моноцитов

Большинство высокоэкспрессированных генов в кластере классических моноцитов связаны с регуляцией воспаления (рис. 3, а). [На тепловой карте мы наблюдаем](#) высокий процент экспрессии генов-маркёров ранней активации и воспаления: *S100A8*, *S100A9*, *S100A12*, *IL6ST*, *FOS* и *JUN* (рис. 3, а). *S100A9* и *S100A8* участвуют в 4 основных процессах, участвующих в воспалении, включая позитивную регуляцию воспалительного ответа (GO:0050729), позитивную регуляцию защитной реакции (GO:0031349) и реакцию на молекулу бактериального происхождения (GO:0002237) (рис. 3, б).

Так же можно выделить высокую экспрессию генов, связанных с хемотаксисом - *CCR2*, и с ангиогенезом - *S1PR3*. В общей сложности для анализа обогащения KEGG и GO Biological Process в кластере классических моноцитов было использовано 1151 общих гена. Как показано на рисунке 3, наиболее обогащены пути, связанные с воспалением, фагоцитозом, а также пути дифференциации остеокластов и Th-клеток.

Рисунок 3. а – Точечная тепловая карта маркерных генов в кластерах моноцитов.

б – анализ путей с помощью Enrichr (набор данных KEGG и GO Biological Process) в субпопуляциях классических, неклассических и промежуточных моноцитов при раке предстательной железы.

Популяция неклассических моноцитов

В кластере неклассических моноцитов наблюдается высокая экспрессия следующих генов: *INSR*, *RHOС*, *CCL5*. Данные гены связаны с миграцией и ангиогенезом. В это же время доля клеток с экспрессией маркёров ранней фагоцитической активности (*S100A8/S100A9*) здесь минимальна, и скорее всего характерна для «патрулирующих» неклассических моноцитов.

Так же увеличена экспрессия генов *RHOС* и *PRKCQ*, которые связаны с миграционной и сигнальной активностью. В ДЭГ также была показана высокая экспрессия *SEMA4С*, который является регулятором иммунных взаимодействий. Ген *RhoC* высокоэкспрессирован в кластере неклассических моноцитов, менее экспрессирован в промежуточных и подавлен в классических моноцитах (рис. 3, а).

Анализ путей обогащения в KEGG и GO Biological Process включил 962 гена и вывел наиболее значимые пути: пути В-клеточного рецептора, Fcγ-опосредованного фагоцитоза и NK-цитотоксичности (KEGG), а также усиленную внутриклеточную передачу сигналов, регуляцию малых GTPаз, гидролазной активности и положительную регуляцию фагоцитоза/эндоцитоза (GO Biological Process) (рис. 3, б). Дальнейший анализ с использованием баз данных KEGG показал, что большинство высокоэкспрессированных значимых генов задействованы в сигнальном пути cGMP-PKG (*GUCY1A1*, *GUCY1B1*, *PRKCE* и *INSR*).

Популяция промежуточных моноцитов

Промежуточные моноциты демонстрируют смешанный профиль: сохраняется экспрессия *S100A9/S100A8*, но уже в более скромном проценте клеток, при этом возникает усиление экспрессии таких регуляторов воспаления и активации, как *IL6ST* и *ETS1* (рис. 3, а). Также повышена экспрессия *IL7R* по сравнению с кластерами неклассических и классических моноцитов. Наблюдается специфичная для промежуточных моноцитов высокая экспрессия таких генов как ***RORA***, и генов, связанных с взаимодействием с Т-клетками: ***CD3E*** и ***CD247***, ***SKAP1***. На тепловой карте можно выделить гены *PRELID1*, *PRKCQ*, связанных с регуляцией дифференцировки и роста клеток, *PRELID1* также высокоэкспрессирован в кластере неклассических

моноцитов (рис. 3, а). А также повышение экспрессии генов *CCL5* и *RhoH*, связанных с регуляцией активации и апоптозом Т-клеток (рис. 3, б.).

Профиль промежуточных моноцитов обогащён путями трансляционного аппарата (рибосомы, биогенез рибосом, макромолекулярный биосинтез) и путями Т-клеточного взаимодействия/активации (Th1/Th2, Th17, TCR-сигналинг, PD-1/PD-L1) (рис. 3, б.).

3. Анализ сигнальных путей и межклеточных взаимодействий субпопуляций моноцитов в опухолевом микроокружении рака простаты

На нижеприведенной тепловой карте (рис. 4) представлены паттерны исходящих и входящих сигнальных путей в кластерах классических, промежуточных и неклассических моноцитов у пациентов с раком простаты.

(Рисунок 4. Тепловая карта исходящих и входящих сигнальных путей в кластерах классических, промежуточных и неклассических моноцитов у пациентов с раком простаты.

Наиболее выраженная активность среди исходящих сигналов сосредоточена в путях TGFβ и GALectin и прослеживается во всех кластерах моноцитов, в отличие от них ANNEXIN хорошо выражен преимущественно в кластере классических моноцитов, сохраняя умеренную сигнализацию в остальных популяциях моноцитов. Также в классических моноцитах высока активность сигнального пути GRN. Согласно графику, исходящий паттерн пути MIF выборочно высоко активен в промежуточных моноцитах. Сигнальный путь TRAIL является единственным выявленным нами путем, который инициируется непосредственно только в неклассических моноцитах.

Тепловая карта активности входящих сигналов на фоне исходящих путей менее выражена. Среди входящих сигналов, только в кластере моноцитов выявлена восприимчивость ко всем путям. Единственным путем с максимальной активностью во всех кластерах моноцитов является сигнальный путь GRN. Паттерн TGFβ прослеживается в популяциях неклассических и классических моноцитов.

4 Обсуждение

Среди высокоэкспрессированных генов в кластере классических моноцитов прослеживается сеть, направленная на увеличение уровня провоспалительности иммуносреды. *S100A8/A9* через активацию MAPK-путей и последующую активацию транскрипционных факторов AP-1 и *NF-κB* индуцируют экспрессию *IL-6* и способствуют усилению воспаления [22; 33].

Роль *S100A8/A9* в развитии рака простаты изучалась ранее, и есть данные, свидетельствующие о том, что *S100A8/A9* повышен при раке простаты и может быть вовлечен в сигнализацию MAP-киназы и *NFK-B*, тем самым усиливая миграцию и инвазию⁸. Повышение уровня экспрессии белков c-Fos и c-Jun происходит на поздних стадиях заболевания и коррелирует с активацией Erk MAPK-пути, также высокий уровень экспрессии c-Jun ассоциируется с рецидивом заболевания [28]. В свою очередь, экспрессия

CCR2 была связана с более высокой оценкой по шкале Глисона и более высокими клинико-патологическими стадиями [21]. В недавнем исследовании было показано, что нокдаун *S1PR3* подавляет S1P-индуцированную пролиферацию простатических клеток через ослабление pAKT/pERK1/2 [19]. Таким образом, можно предположить, что классические моноциты при РПЖ формируют провоспалительный и про-миграционный фон.

При злокачественных новообразованиях для фракции *неклассических моноцитов* характерно отклонение в сторону иммуносупрессии [15]. Одним из значимых генов с высокой экспрессией в кластере неклассических моноцитов являлся транзиторный рецепторный потенциал канонический 6 (*TRPC6*). *TRPC6* относят к аномальным ионным каналам и появляется все больше доказательств того, что развитие рака простаты связано с аномальной экспрессией и функциональными изменениями ионных каналов [4]. Повышенная экспрессия *GUCY1A1* и *GUCY1B1* свидетельствует об усилении передачи сигналов через NO/cGMP в этих моноцитах. Этот путь может быть связан с ангиогенезом, стимулируемым VEGF [12].

К дополнению к этому, повышенная экспрессия *Sema3A* (семафорина 3A), вероятно играет важную роль в поддержании иммуносупрессивного состояния среды. Доказана связь значительного повышения *Sema3A* с усиленным привлечением моноцитов и их поляризацией в подтип M2 (альтернативно активированные макрофаги), в том числе и при кастрато-резистентном РПЖ [20]. Альтернативной поляризации макрофагов может также способствовать ген семейства Ras-гомологов *RhoC*. При раке толстой кишки было показано, что нокдаун *RhoC* способствовал поляризации макрофагов в сторону M1, подавляя поляризацию в сторону M2 [37].

В кластере *промежуточных* моноцитов было выявлено повышение экспрессии ряда генов, кодирующих провоспалительный и гомеостатический IL, в том числе и *IL-7*, высокая экспрессия которого на ранней стадии РПЖ по сравнению с тканями ДППЖ говорит о возможной роли *IL-7* в онкогенеза предстательной железы при раке простаты [24].

Были выявлены последовательности, играющие ключевую роль в формировании опухолевого микроокружения и прогрессии заболевания. Наиболее значимым среди них оказался *ETS1*, который регулирует экспрессию иммуносупрессивных факторов, таких как TGF-β. Этот фактор способствует активации и пролиферации Т-клеток, одновременно усиливая функцию регуляторных Т-клеток (Treg) и миелоидных супрессорных клеток (MDSC), что в итоге облегчает уклонение от иммунного ответа. [16]. Увеличена экспрессия генов необходимых для активации Т-клеток, – *CD3E* и *CD247*, которые являются компонентами TCR-комплекса, – что может способствовать взаимодействию моноцитов с Т-клетками в опухолевом микроокружении [30]. В свою очередь, роль *SKAP1* была описана при раке толстой кишки и заключалась в инфильтрации опухоли иммунными клетками [6].

Другим важным высокоэкспрессированным геном является хемокиновый (C-C-мотив) лиганд 5 (*CCL5*)- хемокин, который рекрутирует моноциты и Т-клетки в участки с воспалением и способствует воспалительной инфильтрации опухоли [11]. Также наряду с *CCL5* были высокоэкспрессированы гены: *PRELID1*, *PRKCQ*. Среди которых не было выявлено ранее роли при развитии РПЖ, однако оба гена связаны с развитием рака молочной железы: альтернативное полиаденилирование *PRELID1* играет роль в регуляции реакции на стресс и выработку митохондриями активных форм кислорода (АФК) [7]; изоформа протеинтирозинкиназы C тета (*PRKCQ*) преимущественно экспрессируется при трижды негативном раке молочной железы и регулирует рост и выживаемость клеток данного подтипа рака [2]. Известно, что в покое циркулирующие моноциты практически не экспрессируют *PRKCQ* на уровне мРНК и белка. Однако повышение экспрессии мРНК *PRKCQ* происходит при индуцированной липополисахаридной (LPS) /интерферон-гамма IFN- γ клеточной поляризации (M1 макрофаги), тогда как при альтернативной M2-поляризации (IL-4) это не наблюдается [29]. Возможно, высокая экспрессия *PRKCQ* в промежуточных моноцитах имеет схожее значение и играет роль при поляризации моноцитов. Обычно экспрессия *RhoH* для всех типов миелоидных клеток довольно низкая [31]. Однако ранее было описано, что на терминальной стадии дифференцировки моноцитарных миелоидных клеток в макрофаги экспрессия *RhoH* значительно повышается. Это приводит к подавлению внутриклеточных сигнальных путей Cdc42 и Wnt, тем самым способствуя остановке роста клеток [5].

Таким образом, анализ показал, что в то время, как у классических моноцитов в большей степени прослеживается выраженный провоспалительный профиль, у неклассических иммуносупрессивный и проангиогенный профиль. Промежуточные моноциты сочетают в себе регуляцию воспаления, хемотаксис и иммунное уклонение.

При анализе представленных паттернов исходящих и входящих сигнальных путей, можно заметить, что сигнальный ландшафт моноцитарных субпопуляций при раке простаты отличается не только по набору активируемых путей, но и по характеру их участия в межклеточных взаимодействиях и регуляции клеточной судьбы. На этом фоне высокая экспрессия сигнального пути TGF β занимает особое место и говорит о вовлеченности всех кластеров моноцитов в моделирование иммунного ответа, больше направленного на его иммуносупрессивность [10]. В главную очередь идентификация моноцитов как источника TGF- β сигнализации показывает, что моноциты могут координировать различные сигнальные пути, включая TGF- β , TNF, IL1 и другие, формируя комплексную сеть иммуносупрессивных сигналов [1; 8; 23].

Сигнальный путь TRAIL является единственным выявленным нами путем, который инициируется непосредственно только в неклассических моноцитах. TRAIL связан с фактором некроза опухоли (TNF) и индуцирует

апоптоз, к которому опухолевые клетки значительно более чувствительны, чем нормальные клетки. Это может указывать на вовлеченность неклассических моноцитов в апоптотические процессы [14]. Способность только классических моноцитов воспринимать входящие сигналы TRAIL указывает на преимущественную экспрессию функциональных TRAIL-рецепторов (DR4/TRAIL-R1 и DR5/TRAIL-R2) именно в этой субпопуляции моноцитов [18].

Галлектиновый сигнальный путь присутствует во всех кластерах моноцитов как для исходящих, так и для входящих сигналов. Известно, что галлектин-1 (Gal-1) действует как индуктор иммунной толерантности при раке. Хорошо известен механизм регулирования воспалительного процесса, через модулирование Gal-1 выработки цитокинов Т-клетками и их гибелью при раке простаты [32]. В свою очередь, секреция Gal-9 способствует поляризации макрофагов в направлении M2, активируя рецептор TIM-3 и последующие пути [26]. Также альтернативной поляризации макрофагов может способствовать аннексиновый путь как это было показано при раке печени [17]. В исследовании [Kavitha Yaddanapudi](#) и др. выявлено, что и другой путь – MIF, вырабатываемый стромальными макрофагами, может играть роль при поляризации TAM в сторону фенотипа M2 при меланоме [36]. Отсутствие входящих сигналов MIF во всех трех субпопуляциях моноцитов противоречит обычной способности моноцитов отвечать на MIF-стимуляцию через рецепторы CD74/CD44 [25]. Это может быть связано с патологическими состояниями рецепторных систем моноцитов в условиях хронического воспаления при раке простаты.

Разница в преобладании исходящей сигнализации указывает на активную роль моноцитов как источников сигналов, что может иметь значение для формирования иммунного микроокружения. Выявленные различия в паттернах исходящих и входящих сигнальных путей между субпопуляциями моноцитов у пациентов с раком простаты подчеркивают их функциональную гетерогенность и сложную роль в формировании иммунного микроокружения опухоли. Стоит отметить вовлеченность большинства путей в формирование про-опухолевого микроокружения и поддержке опухолевого роста и активность сигнальных путей, которые могут играть роль в альтернативной поляризации макрофагов (MIF, ANNEXIN, GALECTIN).

5 Заключение

В ходе исследования особенностей транскриптомного профиля мононуклеарных клеток был выявлен дуализм роли разных кластеров моноцитов в опухолевой микросреде: классические моноциты играют роль в увеличении провоспалительности иммуносреды, тогда как неклассические и промежуточные могут оказывать как противоопухолевые и про-опухолевые эффекты, преимущественно иммуносупрессивные и проангиогенные. Несмотря на наличие потенциальных противоопухолевых механизмов (TRAIL), преобладает поддержка иммуносупрессии и опухолевого роста через активацию соответствующих сигнальных путей (TGFβ, галлектины, аннексин,

350 GRN, MIF). Понимание этих особенностей и идентификация конкретных
351 генов, вовлеченных в эти процессы, открывает новые перспективы для
352 таргетной терапии и прогнозирования рака простаты.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Сведения о когорте пациентов

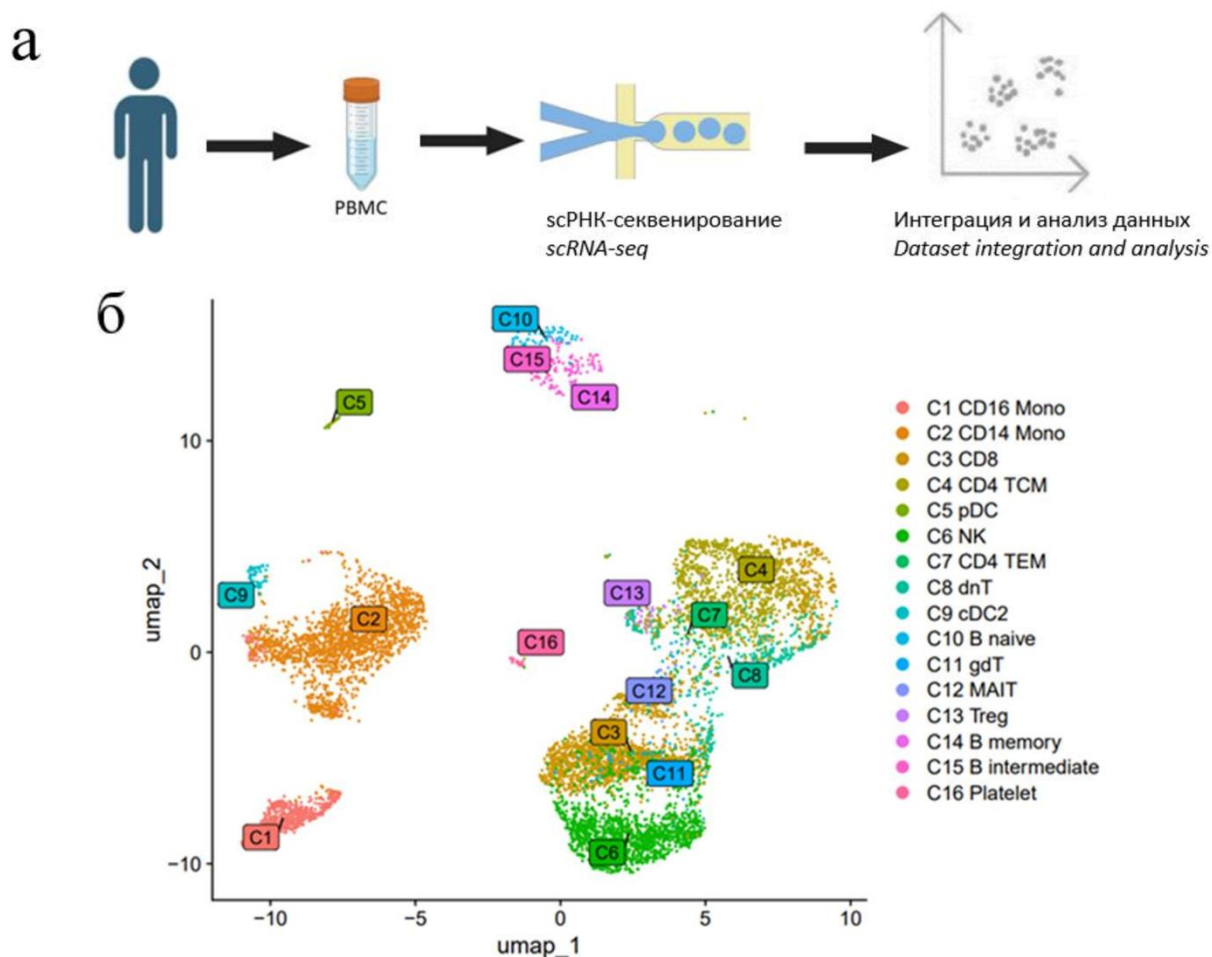
Table 1. Information about the patient cohort

Cas e ID	Возрас т Age	Гистология Histology	Стади я Stage	TNM	Глисон Gleason Score	ПСА перед операцией, , <i>ng/ml</i> PSA prior to surgery, <i>ng/ml</i>
1	68	Ацинарная карцинома предстательной железы acinar adenocarcinoma of the prostate	стадия 2 группа 3 stage 2 group 3	T2N0M0	3+4	8,64
2	71	Мелкоацинарна я аденокарцинома предстательной железы small-acinar adenocarcinoma of the prostate	стадия 2 группа 3 stage 2 group 3	T2c- T3bN0M 0	3+4	23,6
3	75	Ацинарная карцинома предстательной железы acinar adenocarcinoma of the prostate	стадия 2 группа 3 stage 2 group 3	T2N0M0	3+3	5,95
4	62	Ацинарная карцинома предстательной железы acinar adenocarcinoma of the prostate	стадия 1 группа 3 stage 1 group 3	T2N0M0	3+4	4,59

РИСУНКИ

Рисунок 1. а – дизайн исследования; б – UMAP – график идентифицированных 16 кластеров клеток.

Figure 1. a – the design of the study; b – the UMAP graph of the identified 16 cell clusters.

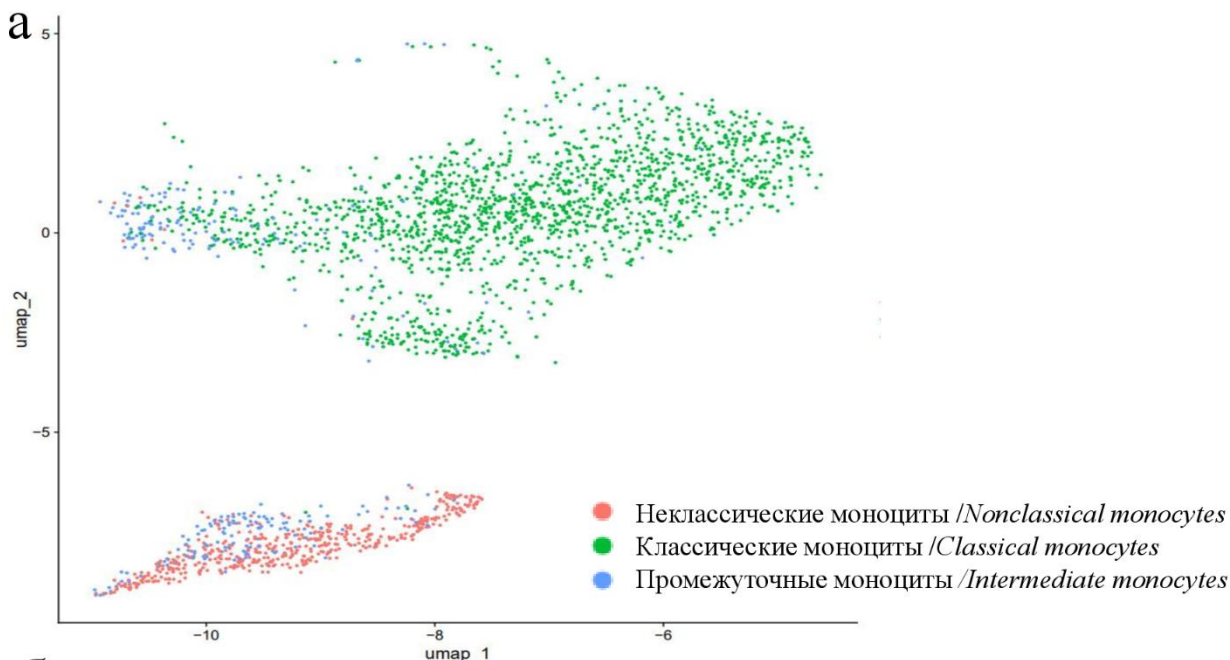


Примечание. Каждый цвет соответствует отдельному кластеру, а каждая точка — отдельной клетке.

Note. Each color corresponds to a separate cluster, and each dot corresponds to a separate cell.

Рисунок 2. а – UMAP график популяций моноцитов у пациентов с раком простаты. б – соотношение популяций моноцитов у пациентов с раком простаты

Figure 2. а – UMAP plot of monocyte populations in patients with prostate cancer. б – Proportions of monocyte populations in patients with prostate cancer.

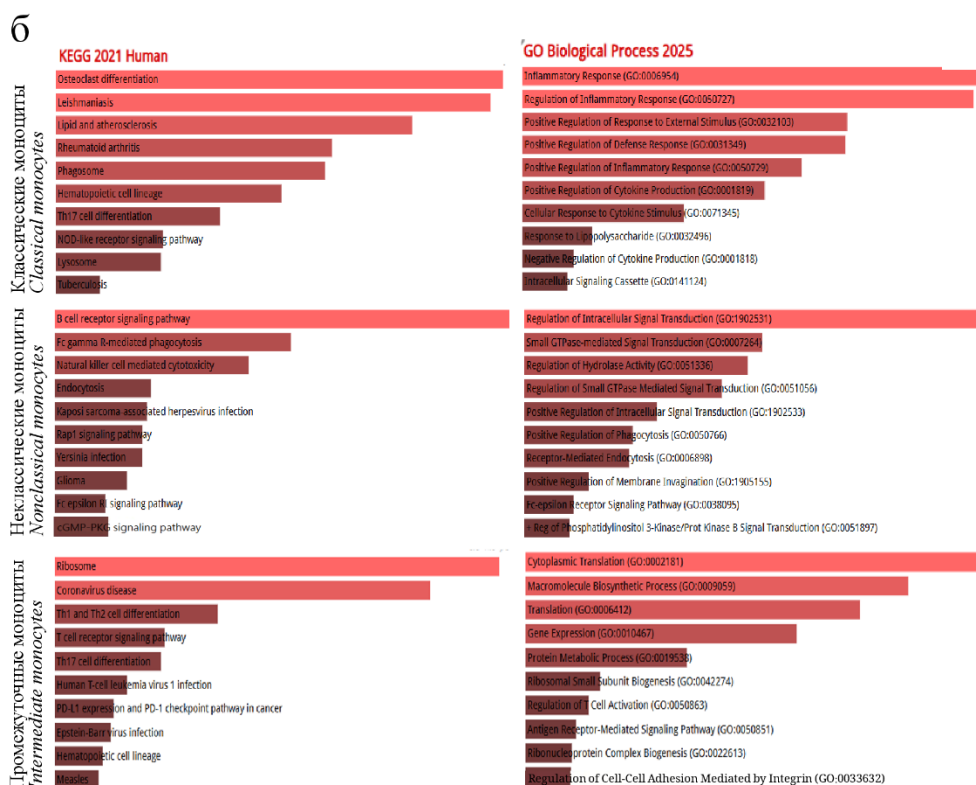
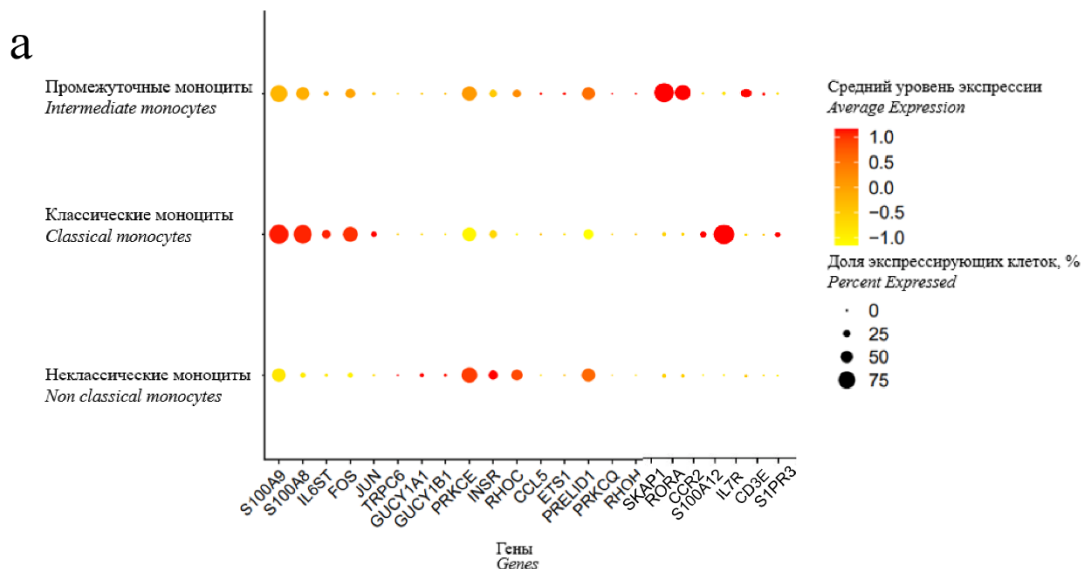


б Пропорции моноцитов / *Monocyte proportions (%)*



Рисунок 3. а – Точечная тепловая карта маркерных генов в кластерах моноцитов.

Figure 3. а – Dot plot (bubble heatmap) of marker genes across monocyte clusters.



Примечание. На точечной тепловой карте показаны выбранные гены-маркеры для различных кластеров моноцитов. Слева отображены кластеры с соответствующими аннотациями типов клеток. Цветовой градиент отражает средний уровень экспрессии генов, а размер точек указывает на процент клеток в каждом кластере, экспрессирующих эти гены;

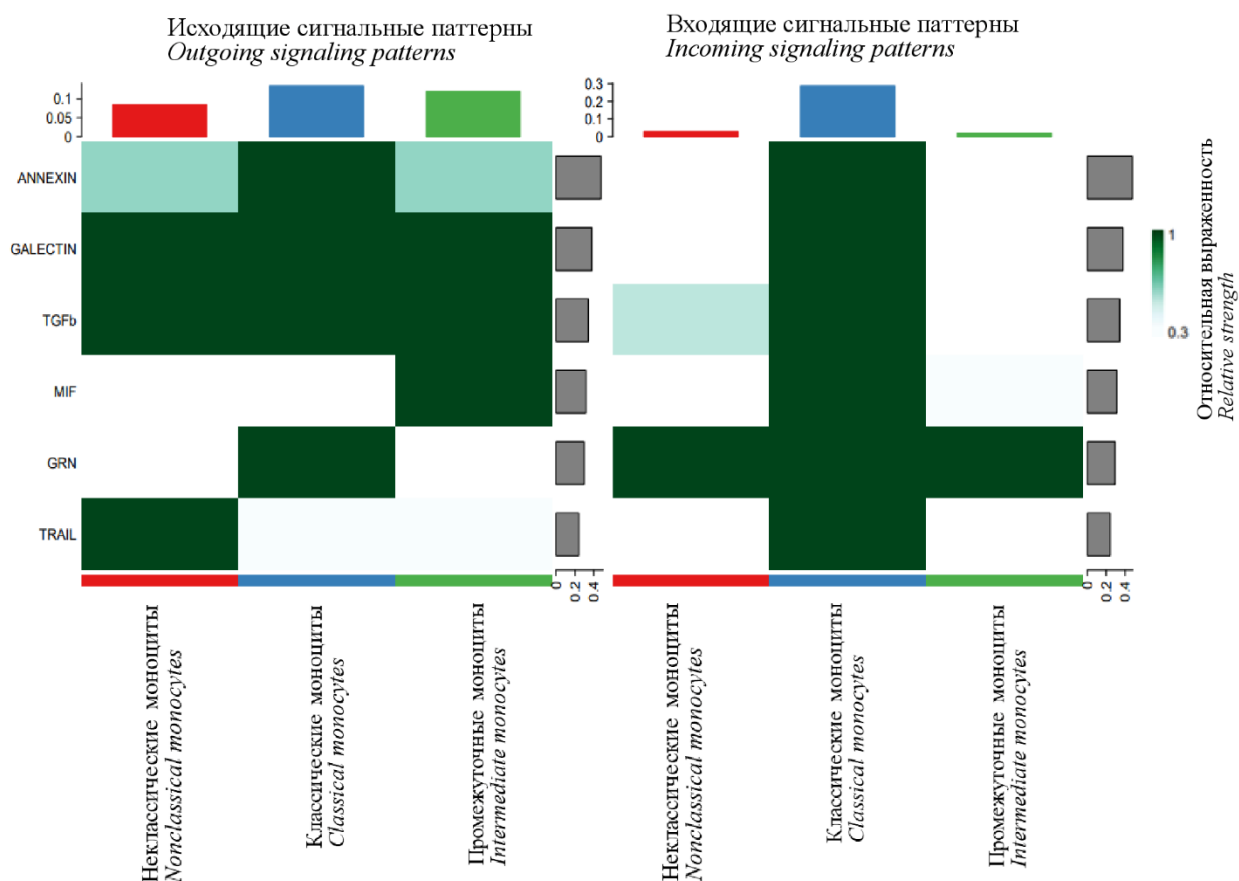
б – анализ путей с помощью Enrichr (набор данных KEGG и GO Biological Process) в субпопуляциях классических, неклассических и промежуточных моноцитов при раке предстательной железы.

Note. Dot plot of selected marker genes across different monocyte clusters. Color represents the average expression level, and dot size corresponds to the percentage of cells expressing the gene in each cluster.

б – Enrichr pathway analysis (KEGG and GO Biological Process) of classical, non-classical, and intermediate monocytes subpopulations in prostate cancer.

Рисунок 4. Тепловая карта исходящих и входящих сигнальных путей в кластерах классических, промежуточных и неклассических моноцитов у пациентов с раком простаты.

Figure 4. Heatmap of outgoing and incoming signaling pathways in clusters of classical, intermediate, and non-classical monocytes in patients with prostate cancer.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Шарифьянова Юлия Вакилевна — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии; ученая степень – нет, ученое звание – нет; адрес: Лаборатория иммунологии. Институт урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3; факс: (347) 2723751; телефон: 89371639395; e-mail: yuvsharifyanova@bashgmu.ru

Sharifyanova Yuliya Vakilevna — junior Researcher, academic degree, academic title – no; address: the Laboratory of Immunology. Institute of Urology and Clinical Oncology, Bashkir State Medical University, 3 Lenin St., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450008; fax: (347) 2723751; telephone: 89371639395; e-mail: yuvsharifyanova@bashgmu.ru

Блок 2. Информация об авторах

Еникеева Кадрия Ильдаровна—заведующий лабораторией. Институт урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; ученая степень, ученое звание – канд. фарм. Наук; **Enikeeva Kadriya Ildarovna** is the head of the laboratory; Institute of Urology and Clinical Oncology, Bashkir State Medical University; academic degree, academic title – Candidate of Pharmaceutical Sciences;

Коробейников Вячеслав Юрьевич - младший научный сотрудник, Институт урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ “Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук” ученая степень, ученое звание – нет; **Vyacheslav Korobeynikov** - junior Researcher; Institute of Urology and Clinical Oncology, Bashkir State Medical University; Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; academic degree, academic title – no;

Шмелькова Полина Николаевна — лаборант-исследователь, Институт урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; студент 5 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;

Shmelkova Polina Nikolaevna — laboratory researcher: Institute of Urology and Clinical Oncology, Bashkir State Medical University; 5th year student of the Pediatric Faculty of the BSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation;

Гайнуллина Диана Халиловна — лаборант-исследователь, Институт урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; студент 5 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;

Gainullina Diana Khalilovna — laboratory researcher; Institute of Urology and Clinical Oncology, Bashkir State Medical University; 5th year student of the Pediatric Faculty of the BSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation;

Акрамова Элина Ринатовна — младший научный сотрудник, Институт урологии и клинической онкологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; ученая степень, ученое звание – нет;

Akramova Elina Rinatovna — Junior Researcher: Institute of Urology and Clinical Oncology, Bashkir State Medical University; academic degree, academic title – no;

Валентин Николаевич Павлов — Академик РАН, ректор ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; ученая степень, ученое звание - доктор медицинских наук, профессор;

Valentin Nikolaevich Pavlov — Academician of the Russian Academy of Sciences, Rector of Bashkir State Medical University; academic degree, academic title - Doctor of Medical Sciences, Professor.

Блок 3. Метаданные статьи

ТРАНСКРИПТОМНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОНОЦИТОВ И ЕЕ ВКЛАД В
ФОРМИРОВАНИЕ ИММУННОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ ПРИ РАКЕ
ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

TRANSCRIPTOMIC HETEROGENEITY OF MONOCYTES AND ITS
CONTRIBUTION TO THE FORMATION OF THE IMMUNE
MICROENVIRONMENT IN PROSTATE CANCER

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ТРАНСКРИПТОМ МОНОЦИТОВ ПРИ РПЖ
MONOCYTE TRANSCRIPTOME IN PC

Ключевые слова: моноциты, рак простаты, секвенирование единичных
клеток, транскриптом, микроокружение опухоли, сигнальные пути.

Keywords: monocytes, prostate cancer, single-cell sequencing, transcriptome,
tumor microenvironment, signaling pathways.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 9,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 4.

23.09.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядк овый 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	Bluml S., Scheinecker C., Smolen J.S., Redlich K. Targeting TNF receptors in rheumatoid arthritis. International Immunology, 2012, Vol. 24, No. 5, P. 275-281.		DOI: 10.1093/intimm/dxs047
2	Byerly J., Halstead-Nussloch G., Ito K., Katsyv I., Irie H.Y. PRKCQ promotes oncogenic growth and anoikis resistance of a subset of triple-negative breast cancer cells. Breast Cancer Research, 2016, Vol. 18, No. 1, P. 95.		DOI: 10.1186/s13058-016-0749-6
3	Cavassani K.A., Meza R.J., Habieli D.M., Chen J., Montes A., Tripathi M., Martins G.A., Crother T.R., You S., Hogaboam C.M., Bhowmick N., Posadas E.M. Circulating monocytes from prostate cancer patients promote invasion and motility of epithelial cells. Cancer Medicine, 2018, Vol. 7, No. 9, P. 4639-4649.		DOI: 10.1002/cam4.1695
4	Farfariello V., Prevarskaya N., Gkika D. Ion Channel Profiling in Prostate Cancer: Toward Cell Population-Specific Screening. Transportome Malfunction in the Cancer Spectrum : Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology.eds. C. Stock, L.A. Pardo. Cham: Springer International Publishing, 2020. Vol. 181. Ion Channel Profiling in Prostate Cancer. P. 39-56.		DOI: 10.1007/112_2020_22

5	Galiègue-Zouitina S., Fu Q., Carton-Latreche C., Poret N., Cheok M., Leprêtre F., Figeac M., Quesnel B., El Bouazzati H., Shelley C.S. Bimodal expression of <i>RHOH</i> during myelomonocytic differentiation: Implications for the expansion of AML differentiation therapy. <i>eJHaem</i> , 2021, Vol. 2, Bimodal expression of <i>RHOH</i> during myelomonocytic differentiation, No. 2, P. 196-210.		DOI: 10.1002/jha2.128
6	Gao J., Liu J., Lu J., Zhang X., Zhang W., Li Q., Cai J., Li M., Gan Y., Tang Y., Wu S. SKAP1 Expression in Cancer Cells Enhances Colon Tumor Growth and Impairs Cytotoxic Immunity by Promoting Neutrophil Extracellular Trap Formation via the NFATc1/CXCL8 Axis. <i>Advanced Science</i> (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany), 2024, T. 11, N 41, C. e2403430.		DOI: 10.1002/advs.202403430
7	Gillen A.E., Brechbuhl H.M., Yamamoto T.M., Kline E., Pillai M.M., Hesselberth J.R., Kabos P. Alternative Polyadenylation of PRELID1 Regulates Mitochondrial ROS Signaling and Cancer Outcomes. <i>Molecular Cancer Research</i> , 2017, Vol. 15, No. 12, P. 1741-1751.		DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-17-0010
8	Gonzalez-Junca A., Driscoll K.E., Pellicciotta I., Du S., Lo C.H., Roy R., Parry R., Tenvooren I., Marquez D.M., Spitzer M.H., Barcellos-Hoff M.H. Autocrine TGF β Is a Survival Factor for Monocytes and Drives Immunosuppressive Lineage Commitment. <i>Cancer Immunology Research</i> , 2019, Vol. 7, No. 2, P. 306-320.		DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0310
9	Hermani A., Deservi B., Medunjanin S., Tessier P., Mayer D. S100A8 and S100A9 activate MAP kinase and NF- κ B		DOI: 10.1016/j.yexcr.2005.10.013

	signaling pathways and trigger translocation of RAGE in human prostate cancer cells. Experimental Cell Research, 2006, Vol. 312, No. 2, P. 184-197.		
10	Hourani T., Sharma A., Luwor R.B., Achuthan A.A. Transforming growth factor- β in tumor microenvironment: Understanding its impact on monocytes and macrophages for its targeting. International Reviews of Immunology, 2025, Vol. 44, Transforming growth factor- β in tumor microenvironment, No. 2, P. 82-97.		DOI: 10.1080/08830185.2024.2411998
11	Huang R., Guo L., Gao M., Li J., Xiang S. Research Trends and Regulation of CCL5 in Prostate Cancer. OncoTargets and Therapy, 2021, Vol. Volume 14, P. 1417-1427.		DOI: 10.2147/OTT.S279189
12	Jäger R., Groneberg D., Friebe A. Role of NO/cGMP signalling in VEGF-mediated angiogenesis. BMC Pharmacology, 2011, Vol. 11, No. S1, P. P35, 1471-2210-11-S1-P35.		DOI: 10.1016/S0140-6736(24)00651-2
13	James N.D., Tannock I., N'Dow J., Feng F., Gillesen S., Ali S.A., Trujillo B., Al-Lazikani B., Attard G., Bray F., Compérat E., Eeles R., Fatiregun O., Grist E., Halabi S., Haran A., Herchenhorn D., Hofman M.S., Jalloh M., Loeb S., MacNair A., Mahal B., Mendes L., Moghul M., Moore C., Morgans A., Morris M., Murphy D., Murthy V., Nguyen P.L., Padhani A., Parker C., Rush H., Sculpher M., Soule H., Sydes M.R., Tilki D., Tunariu N., Villanti P., Xie L.-P. The Lancet Commission on prostate cancer: planning for the		DOI: 10.1016/S0140-6736(24)00651-2

	surge in cases. The Lancet, 2024, Vol. 403, The Lancet Commission on prostate cancer, No. 10437, P. 1683-1722.		
14	Johnstone R.W., Frew A.J., Smyth M.J. The TRAIL apoptotic pathway in cancer onset, progression and therapy. Nature Reviews Cancer, 2008, Vol. 8, No. 10, P. 782-798.		DOI: 10.1038/nrc2465
15	Le Gallou S., Lhomme F., Irish J.M., Mingam A., Pangault C., Monvoisin C., Ferrant J., Azzaoui I., Rossille D., Bouabdallah K., Damaj G., Cartron G., Godmer P., Le Gouill S., Casasnovas R.-O., Molina T.J., Houot R., Lamy T., Tarte K., Fest T., Roussel M. Nonclassical Monocytes Are Prone to Migrate Into Tumor in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Frontiers in Immunology, 2021, T. 12, C. 755623.		DOI: 10.3389/fimmu.2021.755623 Abstract
16	Lee C.-R., Lee W., Cho S., Park S.-G. Characterization of Multiple Cytokine Combinations and TGF- β on Differentiation and Functions of Myeloid-Derived Suppressor Cells. International Journal of Molecular Sciences, 2018, Vol. 19, No. 3, P. 869.		DOI: 10.3390/ijms19030869
17	Li Y., Cai L., Wang H., Wu P., Gu W., Chen Y., Hao H., Tang K., Yi P., Liu M., Miao S., Ye D. Pleiotropic regulation of macrophage polarization and tumorigenesis by formyl peptide receptor-2. Oncogene, 2011, Vol. 30, No. 36, P. 3887-3899.		DOI: 10.1038/onc.2011.112
18	Liguori M., Buracchi C., Pasqualini F., Bergomas F., Pesce S., Sironi M., Grizzi F., Mantovani A., Belgiovine C., Allavena P. Functional TRAIL receptors in monocytes and tumor-associated macrophages: A possible targeting		DOI: 10.18632/oncotarget.9340

	pathway in the tumor microenvironment. Oncotarget, 2106, Vol. 7, Functional TRAIL receptors in monocytes and tumor-associated macrophages, No. 27, P. 41662-41676.		
19	Liu D., Liu J., Li Y., Du L., Cao Q., Yang L., Zhou Y., Chen P., Guo Y., Zeng G., DiSanto M.E., Hu W., Zhang X. Broad and diverse roles of sphingosine-1-phosphate/sphingosine-1-phosphate receptors in the prostate. iScience, 2024, T. 27, N 12, C. 111290.		DOI: 10.1016/j.isci.2024.111290
20	Liu F., Wang C., Huang H., Yang Y., Dai L., Han S., Xing N., Ren S. SEMA3A-mediated crosstalk between prostate cancer cells and tumor-associated macrophages promotes androgen deprivation therapy resistance. Cellular & Molecular Immunology, 2021, T. 18, N 3, C. 752-754.		DOI: 10.1038/s41423-021-00637-4
21	Lu Y., Cai Z., Xiao G., Liu Y., Keller E.T., Yao Z., Zhang J. CCR2 expression correlates with prostate cancer progression. Journal of Cellular Biochemistry, 2007, Vol. 101, No. 3, P. 676-685.		DOI: 10.1002/jcb.21220
22	Ma L., Sun P., Zhang J.-C., Zhang Q., Yao S.-L. Proinflammatory effects of S100A8/A9 via TLR4 and RAGE signaling pathways in BV-2 microglial cells. International Journal of Molecular Medicine, 2017, Vol. 40, No. 1, P. 31-38.		DOI: 10.3892/ijmm.2017.2987
23	Mayernik D.G., Haq A., Rinehart J.J. Interleukin 1 Secretion by Human Monocytes and Macrophages. Journal of Leukocyte Biology, 1984, Vol. 36, No. 4, P. 551-557.		DOI: 10.1002/jlb.36.4.551
24	Mengus C., Le Magnen C., Trella E., Yousef K., Bubendorf L., Provenzano M., Bachmann A., Heberer M., Spagnoli		DOI: 10.1186/1479-5876-9-162

	G.C., Wyler S. Elevated levels of circulating IL-7 and IL-15 in patients with early stage prostate cancer. Journal of Translational Medicine, 2011, Vol. 9, No. 1, P. 162.		
25	Meyer-Siegler K.L., Iczkowski K.A., Leng L., Bucala R., Vera P.L. Inhibition of Macrophage Migration Inhibitory Factor or Its Receptor (CD74) Attenuates Growth and Invasion of DU-145 Prostate Cancer Cells. The Journal of Immunology, 2006, Vol. 177, No. 12, P. 8730-8739.		DOI: 10.1038/sj.gene.6364427
26	Nobumoto A., Oomizu S., Arikawa T., Katoh S., Nagahara K., Miyake M., Nishi N., Takeshita K., Niki T., Yamauchi A., Hirashima M. Galectin-9 expands unique macrophages exhibiting plasmacytoid dendritic cell-like phenotypes that activate NK cells in tumor-bearing mice. Clinical Immunology, 2009, Vol. 130, No. 3, P. 322-330.		DOI: 10.1016/j.clim.2008.09.014
27	Olingy C.E., Dinh H.Q., Hedrick C.C. Monocyte heterogeneity and functions in cancer. Journal of Leukocyte Biology, 2019, Vol. 106, No. 2, P. 309-322.		DOI: 10.1002/JLB.4RI0818-311R
28	Ouyang X., Jessen W.J., Al-Ahmadie H., Serio A.M., Lin Y., Shih W.-J., Reuter V.E., Scardino P.T., Shen M.M., Aronow B.J., Vickers A.J., Gerald W.L., Abate-Shen C. Activator Protein-1 Transcription Factors Are Associated with Progression and Recurrence of Prostate Cancer. Cancer Research, 2008, Vol. 68, No. 7, P. 2132-2144.		DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-6055
29	Pfeifhofer-Obermair C., Albrecht-Schgoer K., Peer S., Nairz M., Siegmund K., Klepsch V., Haschka D., Thuille N., Hermann-Kleiter N., Gruber T., Weiss G., Baier G. Role of PKCtheta in macrophage-mediated immune response to		DOI: 10.1186/s12964-016-0137-y

	Salmonella typhimurium infection in mice. Cell Communication and Signaling, 2016, Vol. 14, No. 1, P. 14.		
30	Smith-Garvin J.E., Koretzky G.A., Jordan M.S. T Cell Activation. Annual Review of Immunology, 2009, Vol. 27, No. 1, P. 591-619.		DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132706
31	Van Helden S.F.G., Anthony E.C., Dee R., Hordijk P.L. Rho GTPase Expression in Human Myeloid Cells. PLoS ONE, 2012, Vol. 7, No. 8, P. e42563.		DOI: 10.1371/journal.pone.0042563
32	Wang H.-C., Xia R., Chang W.-H., Hsu S.-W., Wu C.-T., Chen C.-H., Shih T.-C. Improving cancer immunotherapy in prostate cancer by modulating T cell function through targeting the galectin-1. Frontiers in Immunology, 2024, T. 15.		DOI: 10.3389/fimmu.2024.1372956
33	Wang S., Song R., Wang Z., Jing Z., Wang S., Ma J. S100A8/A9 in Inflammation. Frontiers in Immunology, 2018, T. 9, C. 1298.		DOI: 10.3389/fimmu.2018.01298
34	Williams H., Mack C., Baraz R., Marimuthu R., Naralashetty S., Li S., Medbury H. Monocyte Differentiation and Heterogeneity: Inter-Subset and Interindividual Differences. International Journal of Molecular Sciences, 2023, Vol. 24, Monocyte Differentiation and Heterogeneity, No. 10, P. 8757.		DOI:10.3390/ijms24108757
35	Wong K.L., Tai J.J.-Y., Wong W.-C., Han H., Sem X., Yeap W.-H., Kourilsky P., Wong S.-C. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate,		DOI: 10.1182/blood-2010-12-326355

	and nonclassical human monocyte subsets. Blood, 2011, Vol. 118, No. 5, P. e16-e31.		
36	Yaddanapudi K., Putty K., Rendon B.E., Lamont G.J., Faughn J.D., Satoskar A., Lasnik A., Eaton J.W., Mitchell R.A. Control of tumor-associated macrophage alternative activation by macrophage migration inhibitory factor. Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 2013, T. 190, N 6, C. 2984-2993.		DOI: 10.4049/jimmunol.1201650
37	Yang B., Wang L., Tian Z. Silencing of RHOC induces macrophage M1 polarization to inhibit migration and invasion in colon cancer via regulating the PTEN / FOXO1 pathway. International Journal of Experimental Pathology, 2023, Vol. 104, No. 1, P. 33-42		DOI: 10.1111/iep.12460