

**СРАВНЕНИЕ *IN VITRO* МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ
СЕНЕСЦЕНТНЫХ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ
МАКРОФАГОВ**

Пухальская Т. В. ^{1, 2, 3},

Юракова Т. Р. ³,

Михайловская В. С. ¹,

Богданова Д. А. ^{1, 2},

Демидов О. Н. ^{1, 2}

¹ АНО ВО Научно технологический университет «Сириус», 354340, Сириус, Россия.

² Институт цитологии РАН, 194064, г. Санкт-Петербург, Россия.

³ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, 119991, Москва, Россия.

**COMPARISON OF *IN VITRO* MODELS FOR THE STUDY OF
SENESCENCE OF MACROPHAGES ASSOCIATED WITH A TUMOR**

Pukhalskaia T. V. ^{a, b, c},

Yrakova T. R. ^c,

Mikhailovskaya V. S. ^a,

Bogdanova D. A. ^{a, b},

Demidov O. N. ^{a, b}.

^a Sirius University of Science and Technology, Federal Territory Sirius, 354340, Sirius Russia.

^b Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064, Russia.

^c Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow, Russia.

Резюме

Опухоль-ассоциированные макрофаги (от англ. Tumor-associated macrophages - TAMs) являются важной и наиболее представленной популяцией иммунных клеток в микроокружении опухоли. В значительной мере именно TAMs могут определять направленность противоопухолевого иммунного ответа, они могут или дополнительно стимулировать его, или наоборот способствовать формированию иммуносупрессивного микроокружения. Одновременно под влиянием опухолевых клеток и противоопухолевой терапии многие клетки в микроокружении опухоли (от англ. tumor microenvironment, TME) могут развивать состояние сенесцентности. Последнее десятилетие особую популярность приобретает тема старения (сенесцентности, от англ. senescence) и поиска терапии, направленной на удаление сенесцентных клеток. В поисках новых терапевтических стратегий для лечения онкологических заболеваний стареющим клеткам иммунной системы в микроокружении опухоли уделяется особое внимание. Так как наличие сенесцентных TAMs в опухоли ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и плохим ответом на терапию. Учитывая актуальность изучения роли стареющих иммунных клеток в TME (в частности опухоль-ассоциированных макрофагов), мы провели сравнительный анализ экспериментальных протоколов получения опухоль-ассоциированных макрофагов *in vitro*, чтобы определить наиболее релевантный подход.

Мы проверили два протокола получения макрофагов из костного мозга мыши: (1)-путем добавления кондиционной среды от клеточной линии саркомы мыши L929 (LCCM) (LCCM-BMDM); (2)-путем добавления рекомбинантного M-CSF мыши (M-CSF-BMDM). Нами было показано, что LCCM-BMDM по сравнению с M-CSF-BMDM имеют повышенную экспрессию фермента аргиназы (Arg1), способного подавлять активность противоопухолевых цитотоксических лимфоцитов, путем истощения аргинина в микроокружении опухоли. Также LCCM-BMDM демонстрировали повышенную секрецию факторов, характерных для фенотипа, ассоциированного со старением (от англ. senescence-associated secretory phenotype, SASP) – Il-6 и Tnf. Как Arg1, так и Il-6 с Tnf являются маркерами характерными для сенесцентных макрофагов. Таким образом использование LCCM для получения первичной культуры макрофагов ограничивает дальнейшие шаги в создании модели опухоль-ассоциированных макрофагов, которая отражала бы специфичные характеристики фенотипического ответа макрофагов для различных типов опухолей. Мы считаем, что дифференцировка макрофагов в присутствии M-CSF представляется более предпочтительным протоколом для изучения TAMs и сенесцентных TAMs с последующим тестированием новых терапевтических стратегий.

Ключевые слова: сенесцентные клетки, p21^{cip1}, микроокружении опухоли, TAMs, SASP, in vitro.

Abstract

Tumor-associated macrophages (TAMs) are an important and most represented population of immune cells in the tumor microenvironment. To a great extent, TAMs can determine the direction of the antitumor immune response; they can either additionally stimulate it or on the contrary contribute to the formation of immunosuppressive microenvironment. At the same time, under the influence of tumor cells and antitumor therapy, many cells in the tumor microenvironment (TME) can develop a state of senescence. Over the last decade, the topic of senescence and the search for therapies aimed at removing senescent cells has gained popularity. In the search for new therapeutic strategies to treat cancer, senescent cells of the immune system in the tumor microenvironment have received special attention. Since the presence of senescent TAMs in tumors is associated with poor prognosis and poor response to therapy. Given the relevance of studying the role of senescent immune cells in TME (in particular tumor-associated macrophages), we performed a comparative analysis of experimental protocols to obtain tumor-associated macrophages in vitro to determine the most relevant approach.

We tested two protocols for obtaining macrophages from mouse bone marrow: (1) by adding conditioned medium from the L929 mouse sarcoma cell line (LCCM) (LCCM-BMDM); (2) by adding recombinant mouse M-CSF (M-CSF-BMDM). We showed that LCCM-BMDMs, compared to M-CSF-BMDMs, have increased expression of the arginase enzyme (Arg1), which can inhibit the activity of anti-tumor cytotoxic lymphocytes by depleting arginine in the tumor microenvironment. LCCM-BMDMs also exhibited increased secretion of factors characteristic of the senescence-associated secretory phenotype (SASP) - Il-6 and Tnf. Both Arg1 and Il-6 and Tnf are markers characteristic of senescence-associated macrophages. Thus, the use of LCCM to obtain primary macrophage culture limits further steps in creating a model of tumor-associated macrophages that reflects the specific characteristics of the macrophage phenotypic response for different tumor types. And also limits studies of senescence formation in tumor-associated macrophages in models of carcinogenesis other than sarcoma. We believe that differentiation of macrophages in the presence of M-CSF appears to be a more preferable protocol to study TAMs and senescent TAMs to test new therapeutic strategies.

Keywords: senescent cells, p21^{cip1}, tumor microenvironment, TAMs, SASP, in vitro.

1 Введение

Несмотря на широкий спектр различных лекарственных средств, используемых в терапии рака, в данной области остается еще много нерешенных вопросов, а поиск новых подходов, направленных на увеличение эффективности противоопухолевой терапии, не теряет своей актуальности. Стоит учитывать, что любая терапия оказывает эффект не только на опухолевые клетки, но и на клетки микроокружения (от англ. tumor microenvironment, TME), в том числе и на клетки иммунной системы. Как опухолевые клетки, так и клетки TME могут подвергаться «старению» (сенесценс), спонтанно или под воздействием противоопухолевой терапии [1]. Сенесцентность характеризуется, необратимой остановкой клеточного цикла и устойчивостью к апоптотическим стимулам, что делает такие клетки устойчивыми и к дальнейшим вмешательствам. Кроме того, для большинства сенесцентных клеток характерны повышенная активность лизосом, увеличение гликолиза, увеличение повреждений ДНК, а также повышенная секреция хемокинов, цитокинов и факторов роста, объединённых под общим названием “секреторный фенотип, ассоциированный со старением” (от англ. senescence-associated secretory phenotype, SASP). В свою очередь SASP, паракринно влияя на клетки TME, способствует целому ряду патологических процессов и резистентности к терапии [2].

Особый интерес в контексте сенесцентности представляют макрофаги, ассоциированные с опухолью (от англ. Tumor-associated macrophages – TAMs). Макрофаги – чрезвычайно пластичные клетки. При физиологических и патологических процессах они имеют два противоположных фенотипа (поляризации): классически активированный подтип M1 и альтернативно активированный подтип M2. В TME чаще представлены так называемые M2 подобные макрофаги и супрессорные клетки миелоидного происхождения, которые формируют иммуносупрессивное микроокружение в опухоли [3]. Наличие сенесцентных TAMs в опухоли ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и плохим ответом на терапию. Суммируя данные, полученные в различных моделях *in vivo* и *in vitro*, можно выделить некоторые общие черты черты, характерные для сенесцентных TAMs, такие как: совместное увеличение экспрессии ингибиторов циклин-зависимых киназ p16^{INK4} и/или p21^{cip1}, Arg1, CD206, CXCR1, CD38; увеличенный метаболизм аргинина и гликолиз. SASP сенесцентных TAMs характеризуется секрецией Tgf-β, Il-10, Il-6, Tnf, Il-1β, Mmp12, Timp2, Cxcl12, Cxcl13, Hgf [4].

Несмотря на то, что эталоном для изучения процессов старения и канцерогенеза является использование *in vivo* моделей, на этапах масштабных скринингов препаратов также необходимо иметь подходящие *in vitro* модели TAMs. Таким образом, задачей данного исследования было провести сравнительный анализ экспериментальных протоколов получения TAMs *in vitro*, чтобы определить наиболее релевантный подход.

2 Материалы и методы

Мыши. В работе использовали мышей линии C57Bl/6 в возрасте 6-8 недель, полученных из питомника лабораторных животных «Пушино», филиала Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН в г. Пушкино. Животных содержали в автономном экспериментально-биологическом комплексе для временного размещения и исследования генетически модифицированных линий лабораторных мышей категории SPF. Эксперименты были одобрены Комиссией по биоэтике ИМБ РАН (Протокол №3 от 27.10.2023).

Выделение и дифференцировка первичных макрофагов мыши. Макрофаги костного мозга (от англ. bone-marrow-derived macrophage, BMDM) дифференцировали из клеток костного мозга мыши C57B6j в соответствии с ранее опубликованными протоколами [5]. Костный мозг был выделен из большеберцовых и бедренных костей мышей дикого типа.

Культивирование клеток. Клеточные линии колоректального рака мыши MC38 получены из Kerafast и фибробласты L929 (ATCC CCL-1) были получены из ATCC (American Type Culture Collection, США) и культивировались в среде DMEM 4.5 г/л глюкозы (ПанЭко, Россия) с добавлением 10 % FBS, 4 mM L-глутамин и антибиотиков при 37°C во влажной атмосфере с 5 % содержанием CO₂.

Модель получения опухоль-ассоциированных макрофагов

После окончания дифференцировки BMDM рассаживали в концентрации 1×10^6 на лунку 24-х луночного планшета в объеме 500 мкл, давали прикрепиться клеткам в течении 3-4 часов, после чего добавляли 500 мкл 3-х дневной кондиционной опухолевой среды от линии клеток MC38. В качестве положительного контроля использовали LPS (10 нг/мл), Ifn- γ (10 нг/мл) и И-4 (20 нг/мл) мыши для M1 и M2 поляризации соответственно.

Выделение РНК и обратная транскрипция. Клетки из одной лунки 24-луночного планшета лизировали в ExtractRNA (Евроген). Суммарную мРНК выделяли в соответствии с инструкцией производителя. Обратную транскрипцию РНК, очищенной от геномной ДНК, проводили с использованием набора Thermo Scientific RevertAid RT Kit («Thermo Scientific») и проводили синтез в соответствии с инструкцией производителя.

Анализ экспрессии генов методом количественной ПЦР в реальном времени. Для постановки количественной ПЦР использовали готовый набор с SYBR (qPCRmix-HS SYBR+LowROX, «Евроген», Россия), последовательности праймеров приведены в Таблице 1. Синтез производился на амплификаторе MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate, «Applied Biosystems». Для каждого образца реакцию проводили в трех технических повторях. Уровень экспрессии анализируемых генов был нормализован относительно уровня *Actb*. Относительную экспрессию генов подсчитывали методом сравнительной количественной оценки величины порогового цикла

($\Delta\Delta Ct$) [6].

Иммуноферментный анализ (ИФА). Содержание Il-6 и Tnf в надклеточной среде анализировали с помощью набора Invitrogen™ Mouse Il-6 Uncoated ELISA Kit («Thermo») и Invitrogen™ Mouse Tnf Uncoated ELISA Kit («Thermo») в соответствии с рекомендациями производителя.

Мультиплексный анализ продукции цитокинов. Профиль продукции цитокинов в LCCM был исследован с помощью технологии мультиплексного анализа Luminex xMAP (Merck). В настоящей работе был использован набор MILLIPLEX MAP Mouse Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel. Анализ был проведен в соответствии с инструкциями производителя, обработку данных проводили в программе Analyst (Merck).

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили попарно при помощи *t*-критерия Стьюдента. в программе GraphPad Prism 10. Различия считали достоверными при **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001, *****p* < 0.0001, ns (non-significant) – нет разницы.

3 Результаты и обсуждение

Для сравнения как дифференцировка макрофагов с помощью различных протоколов влияет на последующее моделирование TAMs была выбрана следующая схема эксперимента (рис.1А). Согласно полученным результатам, LCCM-BMDM демонстрируют повышенную экспрессию *Arg1* и *Mrc1* по сравнению с M-CSF-BMDM (Рис.1Б). На основании полученных результатов и ранее опубликованных данных о повышенном базовом уровне экспрессии Il-10 [7] можно предположить, что LCCM-BMDM изначально демонстрируют предрасположенность к M2-подобному фенотипу после дифференцировки по сравнению с M-CSF-BMDM.

Макрофаги, полученные путем добавления LCCM, секретировали более высокие уровни Il-6 и Tnf (Рис.1В). Данные изменения могут быть обусловлены наличием Il-6 в составе LCCM (Рис.1Г). Это может способствовать проявлению более выраженного M2 фенотипа при активации макрофагов Il-4, увеличивая *Arg1* и *Mrc1* [8]. Помимо Il-6, LCCM также содержит фактор, ингибирующий лейкемию, который может стимулировать макрофаги к M2-подобному фенотипу через активацию STAT3 [9].

Несмотря на эти отличия между макрофагами, полученными путем дифференцировки из клеток костного мозга в присутствии рекомбинантного M-CSF или LCCM в качестве основного источника M-CSF, LCCM-BMDM широко используются для изучения биологии макрофагов [10]. Тем не менее, такой подход, на наш взгляд, является спорным в случае получения первичной культуры TAMs *in vitro*. Использование LCCM-BMDM для дальнейшей ассоциации с опухолью может приводить к искаженным фенотипическим

характеристикам TAMs (Рис.1Г). Кроме пластичности, для макрофагов характерна способность «запоминать» различные сигналы, с которыми они раньше встречались, посредством метаболических и эпигенетических изменений. Данное явление получило название тренированный иммунитет [11]. Можно предположить, что подобный механизм может лежать в основе различий M-CSF-BMDM и LCCM-BMDM.

Таким образом, переход макрофагов в фенотип, подразумеваемый конкретной моделью опухолевой ассоциации, может быть «смазан» или затруднен на фоне влияния, которое макрофаги уже получили в процессе дифференцировки от LCCM. Так, например, в полученных нами данных были показаны фенотипические различия LCCM-BMDM и M-CSF-BMDM после ассоциации кондиционной средой от аденокарциномы толстой кишки мыши (MC38). Ассоциация M-CSF-BMDM с MC38 вызывала увеличение экспрессии аргиназы *Arg1* (Рис.2А). В то же время наблюдалось снижение экспрессии *Egr2* и *Mrc1* относительно контроля (Рис.2А). При ассоциации LCCM-BMDM с MC38 наблюдалось увеличение экспрессии *Fpr2*, в отличие от M-CSF-BMDM, где экспрессия *Fpr2* (Рис.2Б) не изменялась. Так же в отличие от M-CSF-BMDM в LCCM BMDM не наблюдалось увеличения *Arg1* (Рис.2А).

Тем не менее, в отдельных случаях моделирование TAMs с использованием LCCM-BMDM может быть актуально - например, в моделях, в которых опухоли являются источником M-CSF. При гепатоцеллюлярной карциноме человека существует значительная связь между высокой экспрессией M-CSF и повышенной инфильтрацией макрофагов, что связано с плохой выживаемостью пациентов [12]. Однако к TAMs, которые были получены с использованием LCCM-BMDM стоит относиться осторожнее, принимая во внимание ограничения данной модели, при изучении сенесцентных макрофагов в ТМЕ. В частности, было продемонстрировано, что ассоциация LCCM-BMDM с MC38 *in vitro* приводит к значимому увеличению экспрессии *p21^{cip1}*, в отличие от M-CSF-BMDM ассоциированных с MC38 (Рис.2В).

4 Заключение

Наши результаты показывают, что в *in vitro* моделях TAMs использование рекомбинантного M-CSF для дифференцировки является наиболее подходящей методикой получения TAMs, которая ближе всего отражает дифференцировку TAMs *in vivo*. Кондиционная среда от L929 изначально репрограммирует макрофаги в промежуточное состояние между M2-подобным фенотипом и фенотипом характерным для сенесцентных клеток. Так, LCCM-BMDM изначально демонстрируют увеличенную экспрессию *Arg1* и *Mrc1* по сравнению с M-CSF-BMDM, а также секрецию факторов SASP – Il-6 и Tnf. Таким образом, необходимо тщательно выбирать модель получения TAMs, что позволит избежать нежелательных aberrаций

166 при тестировании новых стратегий репрограммирования ТМЕ с целью
167 повышения эффективности противоопухолевой терапии.

168 **Благодарности**

169 Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного
170 Фонда (грант РНФ 19-75-30032). Работа Пухальской Т.В. и Богдановой Д.А.
171 финансировалась Министерством науки и высшего образования Российской
172 Федерации (Соглашение № 075-10-2021-093; Проект НИР-ИМБ-2102). Также
173 выражаем благодарность Друцкой Марине Сергеевне за ценные замечания и
174 советы, а также за возможность провести работу на базе лаборатории
175 молекулярных механизмов иммунитета.

ТАБЛИЦЫ

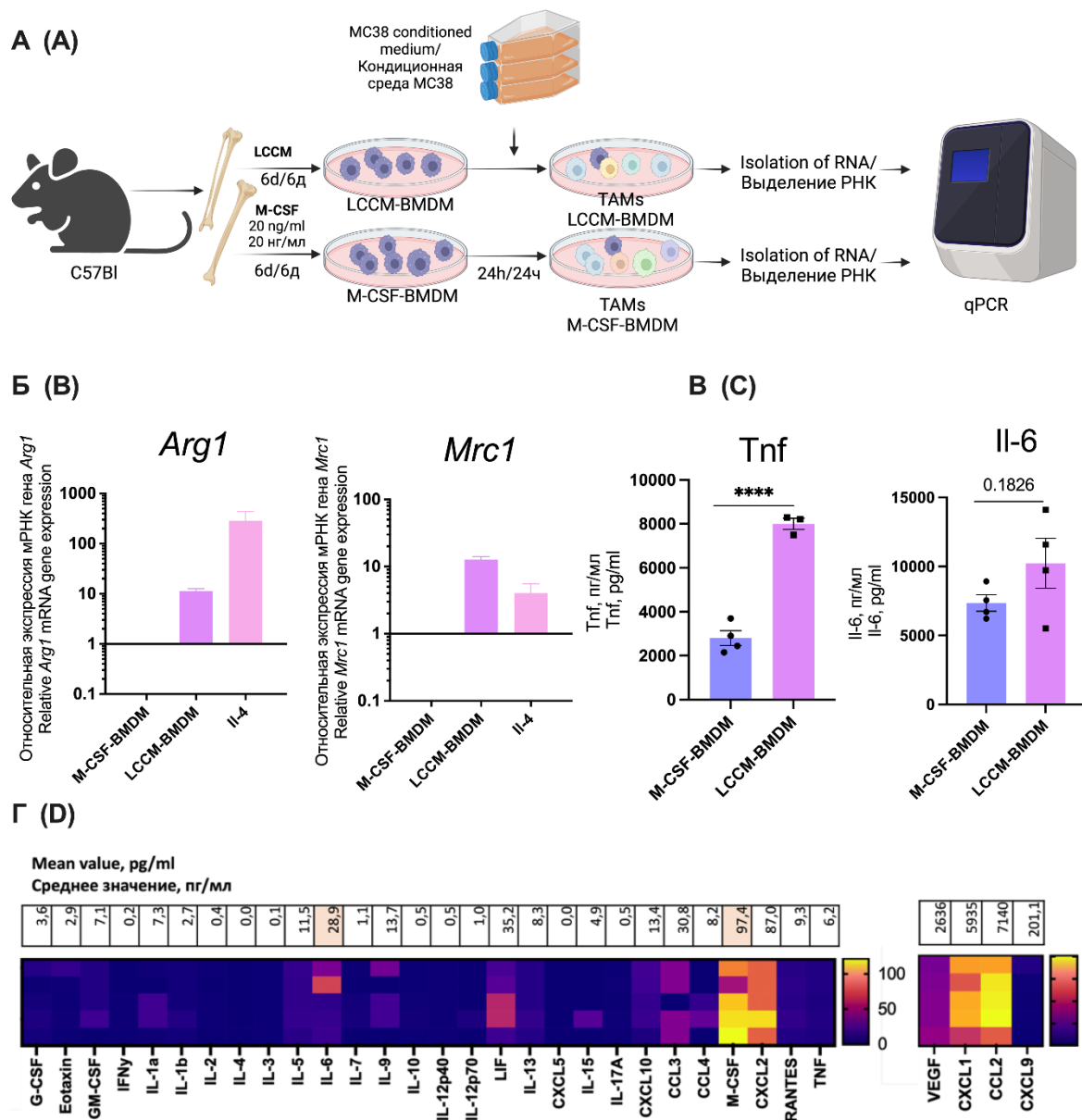
Таблица 1. Последовательности праймеров для проведения qPCR.

Table 1. Sequences of primers for qPCR.

Ген/Gene	Последовательности праймеров (5'→3') / Primer sequences (5'→3')	
	Прямой/Forward	Обратный/Reverse
<i>Actb</i>	CTCCTGAGCGCAAGTACT CTGTG	TAAAACGCAGCTCAGTAA CAGTCC
<i>Tnf</i>	CAGCCTCTTCTCATTCCT GCTTGTC	CTGGAAGACTCCTCCCAG GGTATAT
<i>Fpr2</i>	CGAAGAGTGTAAGAAGG AGAC	AAGGAAGAAAGTGATGGA GAC
<i>CD38</i>	CTACAGGCCTGCCAGGTT TC	GTTGCTTCTGAGCCCCTTC A
<i>Arg1</i>	TGAGGAAAGCTGGTCTGC TG	GGCCAGAGATGCTTCCAA CT
<i>Egr2</i>	ATCCTAGGCTCAGTTCAA CC	ATCATGCCATCTCCCGC
<i>Mrc1</i>	TACTTGGACGGATAGATG GAGG	CATAGAAAGGAATCCACG CAG
<i>P21</i>	CAAAGTGTGCCGTTGTCT CT	AGGAAGTACTGGGCCTCT TG

РИСУНКИ

Рисунок 1. Характеристика получения TAMs *in vitro*.
Figure 1. Characterization of the production of TAMs *in vitro*.

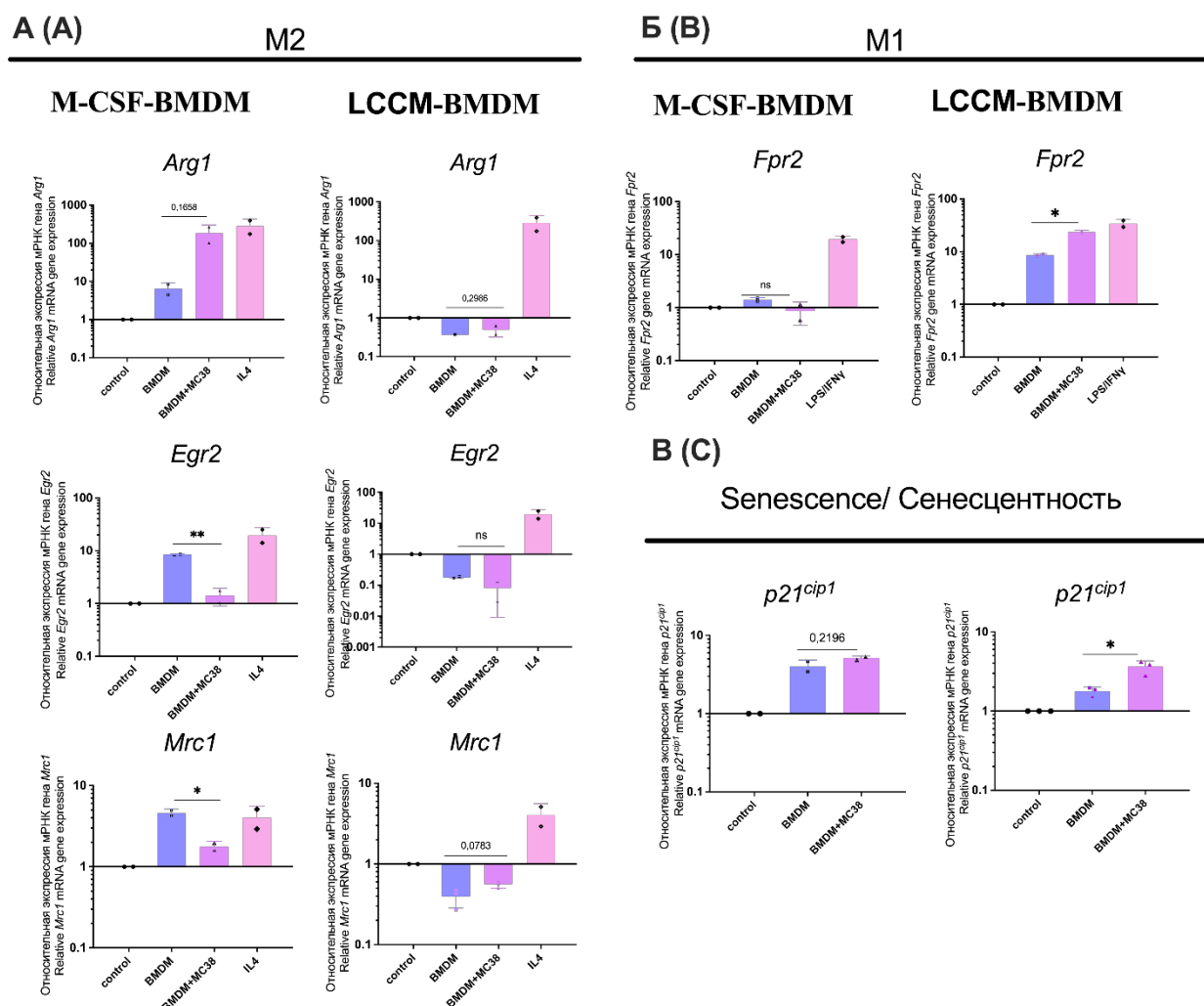


Примечание: А - Схема эксперимента. Б - Изменения относительной экспрессии мРНК *Arg1* и *Mrc1* в LCCM-BMDM по сравнению с M-CSF-BMDM после дифференцировки, перед ассоциацией с опухолевой средой. Данные qPCR. Уровень экспрессии был нормализован относительно уровня *Actb*. Контроль: M-CSF-BMDM. В качестве положительного контроля M2 поляризации к макрофагам добавляли IL-4. В - Уровень секреции IL-6 и Tnf в M-CSF-BMDM и LCCM-BMDM после дифференцировки, пг/мл. Г - Содержание цитокинов в LCCM, по верхней оси средние значения в пг/мл, по нижней соответствующие цитокины. Статистический анализ проведен при помощи *t*-критерия Стьюдента, **** $p < 0.0001$.

Note: A, Scheme of the experiment. B, Changes in relative mRNA expression of *Arg1* and *Mrc1* in LCCM-BMDM compared to M-CSF-BMDM after differentiation, prior to association with tumor environment. qPCR data. Expression levels were normalized relative to *Actb* levels. Control: M-CSF-BMDM. Il-4 was added to macrophages as a positive control for M2 polarization. C, Il-6 and Tnf secretion levels in M-CSF-BMDM and LCCM-BMDM after differentiation, pg/ml. D, Cytokine content in LCCM, upper axis means values in pg/ml, lower axis corresponding cytokines. **** $p < 0.0001$, (Student's t-test, was used).

Рисунок 2. Изменения относительной экспрессии мРНК в LCCM-BMDM и M-CSF-BMDM после 24 ч ассоциации с кондиционной средой от аденокарциномы толстой кишки мыши (MC38).

Figure 2. Changes in relative mRNA expression in LCCM-BMDM and M-CSF-BMDM after 24 h association with conditioned medium from mouse colon adenocarcinoma (MC38).



Примечание: **А** - Изменения относительной экспрессии генов M2 поляризации (*Arg1*, *Egr2*, *Mrc1* соответственно). **Б** - Изменения относительной экспрессии генов M1 поляризации (*Fpr2*). **В** - Изменения относительной экспрессии ингибитора клеточного цикла *p21^{cip1}*. Данные qPCR. Уровень экспрессии был нормализован относительно уровня *Actb*. Значения представляют собой среднее $\pm$ стандартное отклонение среднего из двух независимых экспериментов. Контроль: M-CSF-BMDM или LCCM-BMDM, собранными сразу после окончания дифференцировки. В качестве положительного контроля M1/M2 поляризации использовались LPS/Ifn- γ и IL-4 соответственно. Статистический анализ проведен при помощи t-критерия Стьюдента, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns (non-significant) – нет разницы.

Note: A, Changes in relative expression of M2 polarization genes (*Arg1*, *Egr2*, *Mrc1*, respectively). B, Changes in relative expression of M1 polarization genes (*Fpr2*). C, Changes in the relative expression of the cell cycle inhibitor *p21^{cip1}*. qPCR data. Expression levels were normalized relative to *Actb* levels. Values represent the mean $\pm$ standard deviation of the mean from two independent experiments. Control: M-CSF-BMDM or LCCM-BMDM harvested immediately after the end of differentiation. LPS/Ifn- γ and Il-4 were used as positive controls for M1/M2 polarisation, respectively. *p <0.05, **p <0.01, ns – non-significant, (Student's t-test, was used).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Пухальская Тамара Владимировна – старший лаборант, Институт цитологии РАН; АНО ВО НТУ «Сириус»;

адрес: Олимпийский проспект., д.1., 354340;

телефон: 8(996)121-31-34;

e-mail: tomapukhalskaya@gmail.com

Pukhalskaia Tamara Vladimirovna – Senior Laboratory Assistant, Institute of Cytology RAS;

address: Olympic Avenue, 1., 354340;

telephone: 8(996)121-31-34;

e-mail: tomapukhalskaya@gmail.com

Блок 2. Информация об авторах

Юракова Т. Р. – старший инженер-исследователь, ИМБ РАН;

Yrakova T. R. – Senior Research Engineer, IMB RAS;

Михайловская В. С. – АНО ВО НТУ «Сириус»;

Mikhailovskaya V. S. – Sirius University of Science and Technology;

Богданова Д. А. – м.н.с, АНО ВО НТУ «Сириус»; м.н.с, Институт цитологии РАН;

Bogdanova D. A. – postgraduate student, junior researcher, Sirius University of Science and Technology; junior researcher, Institute of Cytology RAS;

Демидов О. Н. – д.м.н., профессор, Институт цитологии РАН, АНО ВО НТУ «Сириус»; в.н.с, Институт цитологии РАН;

Demidov O. N. – MD, Professor, Sirius University of Science and Technology; Senior researcher, Institute of Cytology RAS.

Блок 3. Метаданные статьи

СРАВНЕНИЕ *IN VITRO* МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ
СЕНЕСЦЕНТНЫХ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ

COMPARISON OF *IN VITRO* MODELS FOR THE STUDY OF SENESENCE
OF MACROPHAGES ASSOCIATED WITH A TUMOR

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

СЕНЕСЦЕНТНЫЕ TAMs *IN VITRO*

SENESCENT TAMs IN VITRO

Ключевые слова: сенесцентные клетки, p21^{cip1}, микроокружении опухоли, TAMs, SASP, *in vitro*.

Keywords: senescent cells, p21^{cip1}, tumor microenvironment, TAMs, SASP, *in vitro*.

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 5,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 2.

03.04.2024

СПИСОК ЛИ

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	Bruni D., Angell H. K., Galon J. The immune contexture and Immunoscore in cancer prognosis and therapeutic efficacy. Nat Rev Cancer, 2020, Vol.20, no.11, pp 662-680.	Bruni D., Angell H. K., Galon J. The immune contexture and Immunoscore in cancer prognosis and therapeutic efficacy. Nat Rev Cancer, 2020, Vol.20, no.11, pp 662-680.	10.1038/s41568-020-0285-7
2	Chambers C. R., Ritchie S., Pereira B. A., Timpson P. Overcoming the senescence-associated secretory phenotype (SASP): a complex mechanism of resistance in the treatment of cancer. Mol Oncol, 2021, Vol.15, no.12, pp 3242-3255.	Chambers C. R., Ritchie S., Pereira B. A., Timpson P. Overcoming the senescence-associated secretory phenotype (SASP): a complex mechanism of resistance in the treatment of cancer. Mol Oncol, 2021, Vol.15, no.12, pp 3242-3255.	10.1002/1878-0261.13042
3	Boutillier A. J., ElSawa S. F. Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. Int J Mol Sci, 2021, Vol. 29, no.22, pp 6995.	Boutillier A. J., ElSawa S. F. Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. Int J Mol Sci, 2021, Vol. 29, no.22, pp 6995.	10.3390/ijms22136995
4	Haston S., Gonzalez-Gualda E., Morsli S., Ge J., Reen V., Calderwood A., Moutsopoulos I., Panousopoulos	Haston S., Gonzalez-Gualda E., Morsli S., Ge J., Reen V., Calderwood A., Moutsopoulos I., Panousopoulos	10.1016/j.ccell.2023.05.004

	L., Deletic P., Carreno G., Guiho R., Manshaei S., Gonzalez-Meljem J. M., Lim H.Y., Simpson D.J., Birch J., Pallikonda H. A., Chandra T., Macias D., Doherty G.J., Rassl D.M., Rintoul R.C., Signore M., Mohorianu I., Akbar A. N., Gil J., Muñoz-Espín D., Martinez-Barbera J.P. Clearance of senescent macrophages ameliorates tumorigenesis in KRAS-driven lung cancer. Cancer Cell, 2023, Vol. 41, no.7, pp 1242-1260.e6.	L., Deletic P., Carreno G., Guiho R., Manshaei S., Gonzalez-Meljem J. M., Lim H.Y., Simpson D.J., Birch J., Pallikonda H. A., Chandra T., Macias D., Doherty G.J., Rassl D.M., Rintoul R.C., Signore M., Mohorianu I., Akbar A. N., Gil J., Muñoz-Espín D., Martinez-Barbera J.P. Clearance of senescent macrophages ameliorates tumorigenesis in KRAS-driven lung cancer. Cancer Cell, 2023, Vol. 41, no.7, pp 1242-1260.e6.	
5	Marim F.M., Silveira T.N., Lima D.S. Jr., Zamboni D. S. A method for generation of bone marrow-derived macrophages from cryopreserved mouse bone marrow cells. PLoS One, 2010, Vol.5, no.12, pp e15263.	Marim F.M., Silveira T.N., Lima D.S. Jr., Zamboni D. S. A method for generation of bone marrow-derived macrophages from cryopreserved mouse bone marrow cells. PLoS One, 2010, Vol.5, no.12, pp e15263.	10.1371/journal.pone.0015263
6	Schmittgen, T. D., and Livak, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. Nat Protoc, 2008, Vol. 3, no. 6, pp 1101-1108.	Schmittgen, T. D., and Livak, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. Nat Protoc, 2008, Vol. 3, no. 6, pp 1101-1108.	10.1038/nprot.2008.73
7	de Brito Monteiro L., Davanzo G.G., de Aguiar C.F., Corrêa da Silva F., Andrade J.R., Campos Codo A., Silva	de Brito Monteiro L., Davanzo G.G., de Aguiar C.F., Corrêa da Silva F., Andrade J.R., Campos Codo A., Silva	10.1016/j.imbio.2020.151935

	Pereira J.A.D., Freitas L.P., Moraes-Vieira P.M. M-CSF- and L929-derived macrophages present distinct metabolic profiles with similar inflammatory outcomes. Immunobiology, 2020, Vol.225, no.3, pp 151935.	Pereira J.A.D., Freitas L.P., Moraes-Vieira P.M. M-CSF- and L929-derived macrophages present distinct metabolic profiles with similar inflammatory outcomes. Immunobiology, 2020, Vol.225, no.3, pp 151935.	
8	Hu S., Marshall C., Darby J., Wei W., Lyons A.B., Körner H. Absence of Tumor Necrosis Factor Supports Alternative Activation of Macrophages in the Liver after Infection with Leishmania major. Front Immunol, 2018, Vol.9, no.1.	Hu S., Marshall C., Darby J., Wei W., Lyons A.B., Körner H. Absence of Tumor Necrosis Factor Supports Alternative Activation of Macrophages in the Liver after Infection with Leishmania major. Front Immunol, 2018, Vol.9, no.1.	10.3389/fimmu.2018.00001
9	Yu S., Li Q., Wang Y., Cui Y., Yu Y., Li W., Liu F., Liu T. Tumor-derived LIF promotes chemoresistance via activating tumor-associated macrophages in gastric cancers. Exp Cell Res, 2021, Vol.406, no.1, pp 112734.	Yu S., Li Q., Wang Y., Cui Y., Yu Y., Li W., Liu F., Liu T. Tumor-derived LIF promotes chemoresistance via activating tumor-associated macrophages in gastric cancers. Exp Cell Res, 2021, Vol.406, no.1, pp 112734.	10.1016/j.yexcr.2021.112734
10	Yurakova T.R., Gubernatorova E.O., Gorshkova E.A., Nosenko M.A., Nedospasov S.A., Drutskaya M.S. HDM induces distinct	Yurakova T.R., Gubernatorova E.O., Gorshkova E.A., Nosenko M.A., Nedospasov S.A., Drutskaya M.S. HDM induces distinct	10.1016/j.bbadis.2022.166531

	immunometabolic phenotype in macrophages in TLR4-dependent manner. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2022, Vol.1868, no.12, pp 166531.	immunometabolic phenotype in macrophages in TLR4-dependent manner. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2022, Vol.1868, no.12, pp 166531.	
11	Ding C., Shrestha R., Zhu X., Geller A.E., Wu S., Woeste M.R., Li W., Wang H., Yuan F., Xu R., Chariker J.H., Hu X., Li H., Tieri D., Zhang H.G., Rouchka E.C., Mitchell R., Siskind L.J., Zhang X., Xu X.G., McMasters K.M., Yu Y., Yan J. Inducing trained immunity in pro-metastatic macrophages to control tumor metastasis. Nat Immunol, 2023, Vol.24, no.2, pp 239-254.	Ding C., Shrestha R., Zhu X., Geller A.E., Wu S., Woeste M.R., Li W., Wang H., Yuan F., Xu R., Chariker J.H., Hu X., Li H., Tieri D., Zhang H.G., Rouchka E.C., Mitchell R., Siskind L.J., Zhang X., Xu X.G., McMasters K.M., Yu Y., Yan J. Inducing trained immunity in pro-metastatic macrophages to control tumor metastasis. Nat Immunol, 2023, Vol.24, no.2, pp 239-254.	10.1038/s41590-022-01388-8
12	Mantovani A., Marchesi F., Malesci A., Laghi L., Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. Nat Rev Clin Oncol, 2017, Vol.14, no.7, pp 399-416.	Mantovani A., Marchesi F., Malesci A., Laghi L., Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. Nat Rev Clin Oncol, 2017, Vol.14, no.7, pp 399-416.	10.1038/nrclinonc.2016.217

ТЕРАТУРЫ

