

СЕНЕСЦЕНТНЫЕ МАКРОФАГИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОПУХОЛЬЮ, ИХ МАРКЕРЫ И РОЛЬ В МИКРООКРУЖЕНИИ ОПУХОЛИ

Обзор

© 2024 Т.В. Пухальская^{1,2,3}, Т.Р. Юракова², Д.А. Богданова^{1,3}, О.Н. Демидов^{1,3,4*}

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

² ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН,
119991 Москва, Россия

³ Институт цитологии РАН, 194064 Санкт-Петербург, Россия

⁴ Inserm UMR1231, Университет Бургундии,
21000 Дижон, Франция; электронная почта: Oleg.Demidov@u-bourgogne.fr

Поступила в редакцию 21.12.2023

После доработки 27.04.2024

Принята к публикации 27.04.2024

Ассоциированные с опухолью макрофаги (ТАМ) представляют собой важный компонент микроокружения опухоли и наиболее распространенную популяцию иммунных клеток, инфильтрирующих опухоль. В значительной мере именно ТАМ могут определять направленность противоопухолевого иммунного ответа, усиливая его или, наоборот, способствуя формированию иммуносупрессивного микроокружения, позволяющего опухоли избегать контроля со стороны иммунной системы. Вследствие взаимодействия с опухолевыми клетками или другими клетками микроокружения, а также в результате действия противоопухолевых лекарственных средств у макрофагов может развиваться состояние сенесцентности. В данном обзоре мы попытались обобщить сведения, имеющиеся в литературе, о роли сенесцентных макрофагов в опухоли. В связи с разработкой в последнее время стратегий сенолитической терапии, направленной на удаление сенесцентных клеток из организма, представляется важным обсуждение функций сенесцентных макрофагов и потенциала использования сенолитических препаратов с точки зрения репрограммирования ТАМ для усиления противоопухолевого иммунного ответа и повышения эффективности лечения онкологических заболеваний.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сенесцентные клетки, p16^{INK4}, p21^{cip1}, CD206, CXCR1, микроокружение опухоли, иммуносупрессия.

DOI: 10.31857/S0320972524050058 EDN: YPAVGF

ВВЕДЕНИЕ

Микроокружение опухоли (от англ. tumor microenvironment, TME) представляет собой сложную гетерогенную систему, включающую иммунные клетки, эндотелиальные и стромальные клетки, а также внеклеточный матрикс [1–7]. Недавние исследования с помощью анализа транскриптома одиночных клеток (от англ. single-cell analysis, SCA) показали, что до 90% клеток в микроокружении опухоли могут быть не трансформированы [8]. Состав TME варьирует в зависимости от типа и стадии опухоли; органа, в котором возникает пер-

вичный очаг; факторов, экспрессируемых опухолевыми клетками, и анамнеза пациента [9].

В последнее время все больше внимания уделяют влиянию клеточного старения или так называемого состояния сенесцентности (от англ. senescence) на рост и развитие опухоли [10]. Фенотип сенесцентных клеток гетерогенен и зависит от типа клеток, подверженных сенесцентности, и факторов, вызвавших данное состояние. Сенесцентность характеризуется, как правило, необратимой остановкой клеточного цикла, повышенной активностью лизосом, устойчивостью к апоптотическим стимулам, увеличением гликолиза, повышенным количеством повреждений ДНК, а также повышенной секрецией хемокинов, цитокинов

* Адресат для корреспонденции.

и факторов роста, объединенных под общим названием «секреторный фенотип, ассоциированный со старением» (от англ. senescence-associated secretory phenotype, SASP). Паракринно влияя на окружающие клетки, SASP может способствовать инициации эпителиально-мезенхимального перехода [11, 12], приобретению клетками плюрипотентности (стволовости) [13, 14], локальной инвазии тканей [15], ангиогенезу [16], активации фибробластов [17], иммуносупрессии [18, 19], усиленному метастазированию [20] и резистентности к терапии [21].

Исходя из вышеперечисленных функций, для детекции сенесцентных клеток наиболее часто используются такие маркеры, как повышенная экспрессия ингибиторов клеточного цикла, p16^{INK4} и p21^{cip1} [22]; увеличенная активность связанной со старением лизосомальной β -галактозидазы [23]; большее, по сравнению с остальными клетками, количество фосфорилированной формы гистона H2AX, отражающей наличие повреждений в ДНК; цитокины, характеризующие SASP, например, IL-6 [24]. Следует отметить, что на сегодняшний день не существует единого уникального маркера сенесцентности, и часто для подтверждения данного фенотипа клеток используется одновременно несколько методов.

Помимо спонтанного старения, в ТМЕ часто встречается старение, индуцируемое терапией. Различные исследования показали, что классическая цитотоксическая терапия, таргетная терапия и иммунотерапия также могут индуцировать клеточное старение [25]. Под воздействием этих факторов все типы клеток ТМЕ могут подвергаться сенесцентности и влиять на опухолевые клетки. Однако особый интерес в контексте сенесцентности представляют макрофаги, ассоциированные с опухолью (от англ. Tumor-associated macrophages, TAM), играющие важную роль в ТМЕ и составляющие наиболее распространенную популяцию иммунных клеток, инфильтрирующих опухоль [26]. Как клетки иммунной системы, они во многом определяют иммунный ландшафт ТМЕ и могут способствовать прогрессированию заболевания [8]. Так, было показано, что наличие сенесцентных TAM в опухоли ассоциировано с плохим прогнозом течения болезни и эффективности терапии [27–29]. Несмотря на то что удаление или репрограммирование сенесцентных TAM представляется перспективным подходом к повышению эффективности

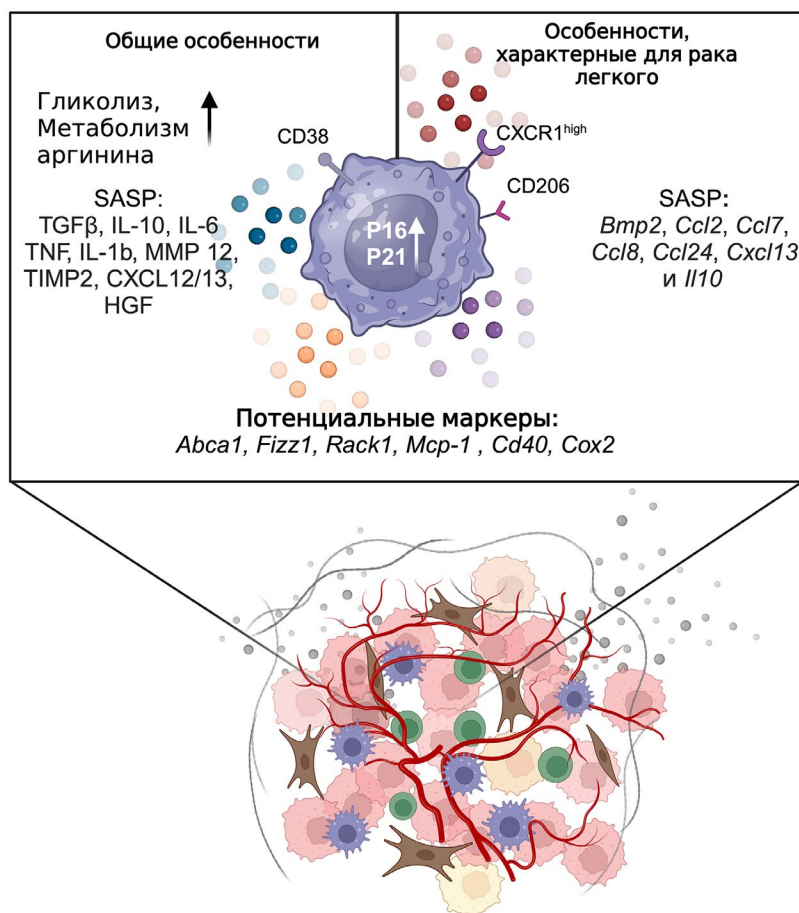
терапии онкологических заболеваний, до последнего времени практически отсутствовали сведения о фенотипе, характерном для сенесцентных макрофагов в ТМЕ, и молекулярных механизмах, лежащих в основе его формирования. Таким образом, своевременным представляется обсуждение прогресса в данной области, связанного с активным поиском универсальных маркеров для сенесцентных TAM и появлением в последние годы новых моделей для определения биологических эффектов данной субпопуляции клеток на рост и развитие опухоли.

СЕНЕСЦЕНТНЫЕ МАКРОФАГИ В ОПУХОЛИ

Как и другие типы клеток микроокружения опухоли, TAM могут подвергаться сенесцентности, однако потенциальные биологические механизмы появления сенесцентных макрофагов в опухоли и их прогностическая ценность в значительной степени неизвестны [28]. Сложность в изучении данного вопроса связана с тем, что фенотип макрофагов *in vivo* и *in vitro* при одном и том же типе опухоли может сильно различаться. Кроме того, гетерогенность механизмов и плеiotропность медиаторов сенесцентности при опухолевых заболеваниях дополнительно осложняются генетическим разнообразием опухолей человека и сложными взаимодействиями между опухолевыми клетками и клетками их микроокружения в процессе онкогенеза [30]. При этом клетки ТМЕ также могут иметь очень гетерогенный фенотип. Так, макрофаги *in vivo* характеризуются большим спектром субпопуляций, среди которых важной в терапевтическом плане представляется субпопуляция сенесцентных макрофагов. Ниже будут суммированы особенности сенесцентных макрофагов, которые в своей совокупности позволяют отличить данный тип клеток от других субпопуляций макрофагов (рисунок).

Фенотип сенесцентных TAM. Наиболее подробно описаны и изучены на сегодняшний день такие субпопуляции TAM, как провоспалительные M1-подобные и иммуносупрессивные M2-подобные макрофаги (подробнее M1- и M2-макрофаги обсуждаются в статье Юраковой и др. [31] в этом номере журнала «Биохимия»). Фенотип сенесцентных макрофагов в микроокружении опухоли нельзя отнести ни к традиционному, характерному

Принятые сокращения: BMDM – макрофаги, полученные из предшественников костного мозга; LCCM-BMDM – макрофаги, полученные из костного мозга мыши путем культивирования в кондиционной среде от фибробластов L929; M-CSF-BMDM – макрофаги, полученные из костного мозга мыши путем культивирования с рекомбинантным M-CSF; OXPHOS – окислительное фосфорилирование; TAM – макрофаги, ассоциированные с опухолью; TLR – toll-подобные рецепторы; ТМЕ – микроокружение опухоли; SASP – секреторный фенотип, ассоциированный со старением; SCA – анализ транскриптома одиночных клеток.



Потенциальные маркеры для сенесцентных TAM. Слева обозначены более универсальные маркеры, встречающиеся в разных моделях опухолевого генеза; справа обозначены маркеры, охарактеризованные для TAM рака легкого. Для сенесцентных TAM характерно совместное увеличение экспрессии ингибиторов циклин-зависимых киназ p16^{INK4} и/или p21^{cip1}, аргиназы (Arg1), CD206, CXCR1, CD38; увеличенный метаболизм аргинина и увеличенный гликолиз. SASP сенесцентных TAM характеризуется такими секретируемыми молекулами, как TGF-β, IL-10, IL-6, TNF, IL-1β, MMP12, TIMP2, CXCL12, CXCL13, HGF. В модели рака легкого путем секвенирования на уровне одиночных клеток были выявлены специфические маркеры, характерные для сенесцентных TAM в легких: *Bmp2*, *Ccl2*, *Ccl7*, *Ccl8*, *Ccl24*, *Cxcl13* и *Il10*. Маркеры *Abca1*, *Fizz1*, *Rack1*, *Msp-1*, *Cd40*, *Cox2*. Создано с помощью BioRender.com

для M2 (высокая экспрессия *Arg1*), ни к M1 (высокая экспрессия *iNOS*) классу поляризации. Макрофаги в TME могут иметь различный фенотип, обусловленный типом опухоли, проведенным лечением и конкретной клинической картиной [32]. Таким образом, актуальной задачей представляется поиск специфических маркеров, которые позволили бы селективно отделить сенесцентные макрофаги от других TAM для разработки терапии, направленной на данную популяцию клеток. В табл. 1 обобщены имеющиеся данные и сравниваются маркеры, характерные для сенесцентных и M1/M2-макрофагов [33].

Старение сопровождается системным хроническим воспалением, которое характеризуется повышением экспрессии компонентов SASP: провоспалительных цитокинов IL-1α, IL-6 и TNF, С-реактивного белка, матриксных металлопротеиназ MMP-3 и MMP-9, модулирующих внеклеточный

матрикс, а также хемокинов CXCL-1 и CXCL-10, привлекающих нейтрофилы и моноциты соответственно [46, 54]. Все эти факторы могут влиять на опухолевые клетки и микроокружение. В недавнем систематическом обзоре Moss et al. [55] пришли к выводу, что маркеры провоспалительных (M1) макрофагов, включая CD11c, *iNOS*, MHC-II и CD80, чаще повышались с возрастом, однако остается невыясненным, как это соответствует картине в опухолевом микроокружении.

Другая часть данных сосредоточена на том, что сенесцентные макрофаги имеют M2-подобный фенотип. Считается, что макрофаги с M2-поляризацией демонстрируют повышенную экспрессию аргиназы-1 (*Arg1*), вовлеченной в метаболизм аргинина [33], и способствуют развитию немелкоклеточного рака легкого, а их присутствие в микроокружении коррелирует со снижением выживаемости пациентов, увеличением метастази-

Таблица 1. Сравнение маркеров, характерных для M1/M2- и сенесцентных макрофагов

Маркеры	M1 [34–37]	M2a [8, 34, 37, 38]	M2b [38, 39]	M2c [38, 40]	M2d [38, 41–43]	Сенесцентные макрофаги [8, 44–53]
TNF, IL-6	+	–	+	–	–	+
IL-10	–	+	+	+	+	+
TGF- β	–	+	–	+	–	+
IL-1	+	–	+	–	–	+
CD206	–	+	–	–	–	+
ARG1	–	+	–	+	+	+
iNOS	+	+	–	–	+	+/-
MHC-II, CD80	+	–	–	–	–	+/-
CD163	–	+	+	–	–	+
CD38	+	–	–	–	–	+
Экспрессия TLR-рецепторов	TLR2/4	–	–	TLR1/8	–	снижается экспрессия всех TLR

рования и усиленной пролиферацией опухолевых клеток [56, 57]. Кроме того, M2-подобным, иммуносупрессивным фенотипом обладают и стареющие TAM, что было показано в нескольких работах [8, 34, 37–43]. В результате транскриптомного анализа одиночных клеток образцов пациентов с рефрактерным раком мочевого пузыря [27] были определены кластеры генов, экспрессирующихся в сенесцентных макрофагах. Среди этих генов был выделен трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), характерный для иммуносупрессивного окружения в опухоли. Также была отмечена альдокеторедуктаза В (AKR1B1), играющая важную роль в воспалении и метаболизме различных химиотерапевтических препаратов, а также в клеточной дифференцировке, пролиферации и апоптозе [28, 58].

Как у людей, так и у мышей сенесцентные TAM демонстрируют снижение экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (MHC-II) и экспрессии toll-подобных рецепторов (TLR) [52], что сопровождается снижением фагоцитарной активности [59], эффероцитоза и аутофагии [46]. Это тоже характеризует стареющие макрофаги как более иммуносупрессивные клетки, несмотря на повышенную экспрессию SASP.

Также стоит обратить внимание на потенциально новые маркеры сенесцентности макрофагов (ABCA1, FIZZ1, RACK1, MCP-1, CD40, COX2), упомянутые в недавнем систематическом обзоре Moss et al. [55]. Возможно, что эти маркеры также играют определенную роль в сенесцентности TAM. Несмотря на то что не существует уникального

маркера для идентификации стареющих клеток, повышенная экспрессия ингибиторов циклин-зависимых киназ p16^{INK4a} и p21^{cip1} уже давно используется в качестве маркера стареющих клеток *in vitro* и *in vivo* как в мышиных, так и в человеческих моделях [48, 60, 61], в том числе и для макрофагов [49, 50, 62].

Метаболизм сенесцентных TAM. Помимо фенотипических характеристик, необходимо учитывать функциональные и метаболические характеристики стареющих макрофагов. Одна из особенностей сенесцентных клеток – сохранение метаболической активности для поддержания программы SASP и других специфических функций, несмотря на остановку клеточного цикла [63]. Как правило, в сенесцентных иммунных клетках происходит накопление дисфункциональных митохондрий, задействуется гликолиз вместо окислительного фосфорилирования (от англ. oxidative phosphorylation, OXPHOS), что приводит к несбалансированному биоэнергетическому состоянию [64].

Похожие метаболические адаптации характерны для провоспалительных M1-макрофагов, которые в основном используют гликолиз и демонстрируют сниженный OXPHOS, в то время как альтернативно активированные M2-макрофаги в основном зависят от OXPHOS [65, 66]. С функциональной точки зрения повышенный метаболизм глюкозы в TAM необходим для синтеза различных молекул, входящих в SASP, в том числе он способствует повышенной секреции катепсина-В макрофагами и прогрессированию опухоли [63, 67, 68]. Интересно отметить, что метаболические

адаптации других типов сенесцентных клеток могут отличаться от адаптаций сенесцентных ТАМ. Например, для сенесцентных эндотелиальных клеток [69], гепатоцитов [70, 71], β -клеток при диабете [72, 73], гемопоэтических стволовых клеток [74] характерно увеличение окислительного фосфорилирования. Однако для сенесцентных макрофагов более характерно увеличение гликолиза. Ингибирование данного метаболического пути может быть потенциальным подходом к сенолитической терапии [75].

Никотинамидадениндинуклеотид (NAD) представлен в организме в окисленном (NAD^+) и восстановленном состоянии (NADH). NAD – важный окислительно-восстановительный кофермент, который играет одну из ключевых ролей в энергетическом метаболизме [76], а также является субстратом для сиртуинов, PARP1 и эктоферментов CD38 и CD157 [77]. Неоднократно было показано, что уровень NAD^+ снижается с возрастом [78]. Более того, было показано, что для моноцитов и макрофагов пожилых людей характерно снижение дыхательной способности из-за недостаточного уровня NAD [64].

Активация CD38 в процессе старения может усилить передачу сигнала NF- κB в макрофагах [53, 79], что способствует индукции экспрессии факторов SASP [80]. Факторы SASP, такие как IL-6, секретируемые в микроокружении опухоли, могут активировать экспрессию CD38 в макрофагах [63]. Эктоферменты CD38 и CD157, в свою очередь, могут гидролизовать NAD^+ в опухолевых тканях и высвобождать внеклеточный аденозин, который участвует в иммуносупрессии [81]. Следовательно, стареющие клетки, экспрессирующие CD38, могут вызывать потерю NAD^+ , что может приводить к увеличению количества стареющих клеток посредством влияния факторов SASP по принципу положительной обратной связи.

Сигналинг NF- κB и митохондриальный Ca^{2+} (mCa^{2+}) играют важную роль в регуляции воспалительного ответа, индукции фенотипа SASP и поляризации макрофагов [82]. Связь между сигналингом NF- κB и метаболизмом кальция была обнаружена при анализе 700 транскриптомов человека. В результате анализа было выявлено, что возраст коррелирует с экспрессией генов митохондриального кальциевого транспортера (*MCU*) и его регуляторной субъединицы *MICU1*. Эти гены играют важную роль в передаче сигналов mCa^{2+} [47].

ВЛИЯНИЕ СЕНЕСЦЕНТНЫХ ТАМ НА ПРОГРЕССИЮ ОПУХОЛИ

В работах последнего года было продемонстрировано патогенное влияние сенесцентных мак-

рофагов на рост и развитие опухолей в моделях немелкоклеточного рака легкого. Haston et al. [8] была создана мышьяная модель p16-FDR, которая позволила обнаружить, что ТАМ и в меньшей степени эндотелиальные клетки – это основной пул сенесцентных клеток, населяющих KRAS-индуцированные опухоли легкого. Показано, что удаление p16^{INK4a+} сенесцентных клеток с помощью сенолитических подходов может увеличить продолжительность жизни мышей и задерживать рост опухоли [8, 83]. Сенесцентные ТАМ в модели p16-FDR демонстрировали фенотип CD206⁺p16^{INK4a+}, а также экспрессировали мРНК генов, кодирующих множество опухоль-стимулирующих факторов SASP, которые оказались уникальными в опухолях, формирующихся в легких (*Bmp2*, *Ccl2*, *Ccl7*, *Ccl8*, *Ccl24*, *Cxcl13* и *Il10*), и не характерными для ранее описанных классических факторов SASP, таких как *Tnf*, *Mcp1*, *Il6*, *Il1b*, *Il7*, *Mmp12*, *Timp2*, *Cxcl-12/13*, *Hgf* [8, 50, 51]. Работа Haston et al. [8] стала ключевой в области сенесцентных макрофагов в опухоли, поскольку до этого было не до конца понятно, действительно ли макрофаги обладают свойствами сенесцентности. Интересно, что аналогичный фенотип макрофагов, который наблюдался в KRAS-индуцированных опухолях легких у мыши, был также выявлен у пожилых мышей в возрасте 20–22 месяца.

В работе Prieto et al. [29] использовали ранее созданную трансгенную линию мышей (INK-ATTAC), в которых авторы методом SCA обнаружили популяцию сенесцентных альвеолярных макрофагов SIGLEC⁺p16^{INK4a+}CXCR1^{high}, локализирующихся в тканях старых мышей и в опухолевых очагах в легких. Субпопуляция SIGLEC⁺p16^{INK4a+}CXCR1^{high} способствовала образованию аденом и ингибировала пролиферацию и инфильтрацию опухоли CD8⁺ лимфоцитами. Специфическое удаление сенесцентных клеток p16^{INK4a+} в модели INK-ATTAC предотвращало негативные эффекты, опосредованные стареющими клетками в ТМЕ, и задерживало онкогенез у KRAS-мышей [29].

Работы Prieto et al. [29] и Haston et al. [8] демонстрируют, что стратегия удаления сенесцентных макрофагов из ТМЕ имеет противоопухолевый потенциал. Данный подход может быть предложен в качестве вспомогательной терапии при лечении онкологических заболеваний.

В качестве препаратов для селективного удаления сенесцентных клеток предлагается использовать новый класс лекарственных средств – сенолитики (от англ. senolytics: senile – дряхлый; lytic – разрушающий). Сведения о наиболее популярных и широко используемых в настоящее время сенолитиках приведены нами в табл. 2. Некоторые из них уже одобрены в клинике в качестве терапии для лечения различных заболеваний, поэтому их репозиционирование с целью сеноли-

Таблица 2. Основные сенолитики, используемые в настоящее время

Сенолитик/Сеноморфик	Действие	Влияние на сенесцентные макрофаги	Ссылки
Дазатиниб + Кверцитин	ингибиторы Src/Abl HIF-1 α , PI3-киназа	оказывает	[84, 85]
ABT-263 (Навитоклакс)	ингибиторы белков семейства Bcl-2	оказывает	[86]
ABT-737	ингибиторы белков семейства Bcl-2	оказывает	[8]
Венетоклакс	белки семейства Bcl-2	не изучалось	[87]
Физетин	каскад PTEN/mTor	оказывает	[88]
SR12343	ингибитор NF- κ B	не изучалось	[89, 90]
Апигенин	IRAK1/I κ B α /NF- κ B	не изучалось	[91, 92]
Сердечные гликозиды	преимущественно ингибиторы Na ⁺ /K ⁺ -ATPase	не изучалось	[93–95]

тической терапии может занять короткое время, и в ближайшее годы такие препараты можно будет применять для репрограммирования опухолевого окружения у онкологических больных.

РАЗНООБРАЗИЕ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕНЕСЦЕНТНЫХ ТАМ

В заключительном разделе обзора мы считаем важным обобщить существующие подходы моделирования ТАМ и обсудить, какие из них могут быть применимы для моделирования сенесцентных ТАМ. Так, в литературе встречаются следующие *in vitro* подходы: ассоциация первичных макрофагов или клеточных линий путем добавления кондиционной среды от опухолевых клеток [96], кокультивирование, культивирование в системе transwell [33, 97], выделение ТАМ непосредственно из опухолевой ткани и их последующее культивирование *in vitro* [98–100].

Человеческие ТАМ *in vitro*. Наиболее распространенный подход основан на использовании трансформированных моноцитарных линий человека, таких как THP-1 и U937, после стимуляции форбол-миристан-ацетатом. Полученные макрофаги культивируются с кондиционной средой от опухолевых клеток [101], иногда дополнительно используются факторы, способствующие развитию M2-подобного фенотипа (IL-4 и IL-10) [102]. Данный подход помогает стандартизировать модель, однако для исследования сенесцентных ТАМ имеет ряд недостатков, а именно изначальное праймирование клеток в сторону M2-подобного фенотипа, что ограничивает возможность отслеживания изменений в транскрипционном и метаболическом профиле в конкретной модели в ответ на ас-

социацию с опухолью и последующую индукцию старения.

Другой способ для создания ТАМ человека основан на получении предшественников макрофагов из периферической крови человека путем культивирования в присутствии человеческого гранулацитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и последующей активацией IFN- γ и липополисахаридом (LPS) для M1, тогда как для получения M2 и ТАМ макрофаги дифференцируют в среде, содержащей человеческий макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF) с последующей стимуляцией IL-4 [103].

Интересно, что 2D *in vitro* система, где ТАМ получены путем добавления кондиционной среды от опухолевых клеток непосредственно к макрофагам, часто оказывается недостаточной, чтобы детектировать изменения, связанные с сенесцентными макрофагами. Так, например, только совместное культивирование макрофагов с опухолевыми клетками в работе Erukashvily et al. [104] позволило детектировать транскрипцию перичентромерных сателлитных повторов HS2/HS3, которые, вероятно, ассоциированы со старением. Данные отличия демонстрируют важность прямых межклеточных контактов между клетками микроокружения и клетками опухоли, что также важно учитывать при выборе модели ТАМ.

Мышиные ТАМ *in vitro*. На наш взгляд, *in vitro* модели ТАМ человека и мыши имеют ряд важных принципиальных отличий. Так, основной подход для получения мышиных ТАМ *in vitro* основан на использовании макрофагов, дифференцированных из клеток костного мозга (от англ. bone marrow-derived macrophages, BMDM). При моделировании ТАМ в литературе встречаются два возможных способа дифференцировки макрофагов:

Таблица 3. Мышиные модели для изучения сенесцентности

Название мышиной модели	Описание	Репортерная система/ (цвет сенесцентных клеток)	Система для удаления сенесцентных клеток	Индукцируемость системы	Ссылки
p16-3MR	ВАС трансген; репортерная каскада под регуляцией промотора <i>p16^{INK4a}</i>	Luciferase/mRFP (красный, ex584/em607)	<i>HSV-TK</i> + ганцикловир	только удаление клеток – ганцикловир	[114]
p16-Cre и p16-CREERT2	геномный Knock-in каскады в последний экзон <i>p16^{INK4a}</i> после СТОП-кодона	<i>Rosa26-mTmG</i> (зеленый, ex484/em510)	<i>Rosa26-lsl-DTA</i>	тамоксифен для <i>p16-CREERT2</i>	[62]
p16Ink4a-CreERT2	геномный Knock-in гена <i>CreERT2</i> в первый экзон <i>p16^{INK4a}</i>	<i>Rosa26-CAG-lsl-tdTomato</i> (оранжевый, ex554/em581)	<i>Rosa26-SA-lsl-DTR-IRES-tdTomato</i>	тамоксифен; тамоксифен + дифтерийный токсин	[115]
p21-Cre	<i>attP</i> трансген; репортерная каскада под регуляцией минимального промотора <i>p21^{cip1}</i> <i>p21-CreERT2-IRES-GFP</i>	<i>Rosa26-CAG-lsl-tdTomato</i> (оранжевый, ex554/em581); или (зеленый, ex484/em510)	<i>Rosa26-lsl-LUC / Rosa26-lsl-DTA</i>	тамоксифен	[48]
INK-ATTAC	трансген; репортерная каскада под регуляцией минимального промотора <i>p16^{INK4a}</i>	<i>FKBP-Casp8-IRES-EGFP</i> (зеленый, ex488/em507)	<i>FKBP-Casp8</i>	только удаление клеток – AP20187	[29, 116]
p16-FDR	геномный Knock-in каскады в последний экзон <i>p16^{INK4a}</i> после СТОП-кодона; <i>P16-P2A-FLPo-P2A-DTR-mCherry</i>	<i>Rosa26 frt-STOP-frt-EGFP</i> (зеленый, ex488/em507) или <i>DTR-mCherry</i> (красный, ex587/em610)	<i>DTR-mCherry</i>	только удаление клеток – дифтерийный токсин	[8]

Примечание. *HSV-TK* – ген тимидинкиназы вируса простого герпеса; *DTA* – ген дифтерийного токсина А; *DTR* – ген рецептора дифтерийного токсина; *FLPo* – ген оптимизированной флиппазы-рекомбиназы; *mTmG* – *loxP-tdTomato-STOP-loxP-GFP*; *FKBP-Casp8* – ген *FK506*, кодирующий белок, связывающий каспазу 8.

(1) путем добавления мышиного М-CSF (М-CSF-BMDM); (2) путем добавления кондиционной среды от клеточной линии L929 (LCCM) (LCCM-BMDM) [33]. Помимо М-CSF, LCCM содержит химерин (Rarres2), фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (Mif), остеопонтин, Ccl7, Ccl2, Cxcl1, Cx3cl1, Ccl9, Gerem1, трансформирующий фактор роста β (Tgf-β) [105]. Макрофаги, полученные этими двумя способами, различаются по ряду показателей, что было описано ранее, причем как при стимуляции LPS, так и в неактивированном состоянии. LCCM-BMDM при стимуляции LPS секретируют Tnf, Il-6 и Il-12 на более низком уровне, по сравнению с М-CSF-BMDM, и демонстрируют увеличение показателей гликолиза, имеют увеличенную массу митохондрий с более высоким процентом дисфункциональных митохондрий. Также была продемонстрирована секреция Il-10

в неактивированном состоянии LCCM-BMDM по сравнению с М-CSF-BMDM [106]. Это важно учитывать при работе с моделью сенесцентных TAM *in vitro*, поскольку увеличение экспрессии *Il10* при воспалительных процессах в макрофагах описано как одно из изменений, связанных со старением [55].

Модели изучения взаимодействия TAM с опухолевым микроокружением *in vitro*, несмотря на некоторую искусственность, обладают рядом очевидных преимуществ. Так, например, менее трудоемкое моделирование эксперимента, дешевизна и возможность проводить высокопроизводительные скрининги больших библиотек химических соединений с целью поиска новых лекарственных средств, позволяющих снижать негативные свойства TAM и увеличивать их противоопухолевую активность.

В последние годы динамично развиваются исследования опухолевого микроокружения с помощью культивирования опухолевых органоидов. Данный подход занимает промежуточное положение между исследованиями роли TAM *in vitro* и *in vivo*, оставаясь простым и относительно дешевым протоколом, но при этом эффективно моделирует сложные трехмерные взаимодействия TAM с внеклеточным матриксом и с разнообразными типами клеток в TME [107]. В связи с прогрессом, намечающимся в этой области, ожидается, что в ближайшие годы экспериментальные протоколы культивирования органоидов получат широкое распространение.

Изучение TAM *in vivo*. Эталонном в области изучения TAM остается использование моделей онкогенеза на лабораторных животных, в первую очередь на мышинных моделях. Усиленный успехами в области секвенирования на уровне одиночных клеток (SCA) и данными SCA о различных сигналах TAM, полученных *ex vivo* из биоптатов пациентов с онкологией, такой подход позволяет добиться наиболее точных результатов и расширить наши познания о роли макрофагов на различных этапах онкогенеза [108–111]. В разделе, посвященном влиянию сенесцентных TAM на прогрессию опухоли, мы уже обсудили успешные примеры создания и использования *in vivo* моделей для изучения сенесцентных TAM [29]. Данные по характеристикам этих мышинных моделей и ряда других перспективных моделей *in vivo* для изучения сенесцентности собраны нами в табл. 3. Представленная таблица может помочь заинтересованным исследователям с выбором наиболее подходящей экспериментальной модели [8, 29, 48, 62, 98–100, 112, 113].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приобретение клетками опухолевого микроокружения, включая TAM, состояние сенесцентности может оказывать значительное влияние на прогрессию опухоли и ее устойчивость к современным протоколам противоопухолевой терапии. Сенесцентная модальность TAM не вписывается полностью в существующие на сегодняшний день функциональные классификации макрофагов, такие как поляризация M1/M2. Экспоненциально

увеличивающееся количество работ, посвященных анализу опухолевого микроокружения на уровне одиночных клеток, а также создание в последние годы упомянутых в нашей статье усовершенствованных моделей для *in vivo* изучения сенесцентных TAM позволят в ближайшее время детально охарактеризовать данную субпопуляцию миелоидных клеток в опухолях и улучшить наше понимание роли сенесцентных TAM в онкогенезе. Мы надеемся, что обсуждаемый в этом обзоре прогресс в области методологии изучения сенесцентных TAM поможет читателю более рационально подойти к вопросам выбора правильного подхода при исследовании разнообразных аспектов опухолевого роста. Особого внимания, как отдельная популяция клеток, сенесцентные TAM заслуживают в связи с появлением в арсенале врачей нового класса лекарственных средств, сенолитиков, которые, изменяя соотношение сенесцентных клеток в опухолевом микроокружении, ограничивают их негативное воздействие и могут в значительной мере повысить эффективность различных методов лечения онкологических заболеваний.

Вклад авторов. Т.В. Пухальская – формулировка идеи статьи, написание текста, редактирование текста статьи, создание иллюстрации; Т.Р. Юркова – редактирование текста статьи; Д.А. Богданова – написание текста, редактирование текста статьи, создание иллюстрации; О.Н. Демидов – формулировка идеи статьи, написание текста, редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-75-20128). Работа Пухальской Т.В. и Богдановой Д.А. частично поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-10-2021-093; Проект НИР-ИМБ-2102).

Благодарности. Выражаем благодарность Друцкой Марине Сергеевне за ценные замечания и советы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sobierajska, K., Ciszewski, W. M., Sacewicz-Hofman, I., and Niewiarowska, J. (2020) Endothelial cells in the tumor microenvironment, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1234**, 71-86, https://doi.org/10.1007/978-3-030-37184-5_6.
2. Uyanik, B., Goloudina, A. R., Akbarali, A., Grigorash, B. B., Petukhov, A. V., Singhal, S., Eruslanov, E., Chaloyard, J., Lagorgette, L., Hadi, T., Baidyuk, E. V., Sakai, H., Tessarollo, L., Ryffel, B., Mazur, S. J., Lirussi, F., Garrido, C.,

- Appella, E., and Demidov, O. N. (2021) Inhibition of the DNA damage response phosphatase PPM1D reprograms neutrophils to enhance anti-tumor immune responses, *Nat. Commun.*, **12**, 3622, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23330-6>.
3. Van der Leun, A. M., Thommen, D. S., and Schumacher, T. N. (2020) CD8⁺ T cell states in human cancer: insights from single-cell analysis, *Nat. Rev. Cancer*, **20**, 218-232, <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0235-4>.
 4. Zhao, Y., Shen, M., Wu, L., Yang, H., Yao, Y., Yang, Q., Du, J., Liu, L., Li, Y., and Bai, Y. (2023) Stromal cells in the tumor microenvironment: accomplices of tumor progression? *Cell Death Dis.*, **14**, 587, <https://doi.org/10.1038/S41419-023-06110-6>.
 5. Binnewies, M., Roberts, E. W., Kersten, K., Chan, V., Fearon, D. F., Merad, M., Coussens, L. M., Gabrilovich, D. I., Ostrand-Rosenberg, S., Hedrick, C. C., Vonderheide, R. H., Pittet, M. J., Jain, R. K., Zou, W., Howcroft, T. K., Woodhouse, E. C., Weinberg, R. A., and Krummel, M. F. (2018) Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy, *Nat. Med.*, **24**, 541-550, <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0014-x>.
 6. Anderson, N. M., and Simon, M. C. (2020) The tumor microenvironment, *Curr. Biol.*, **30**, R921-R925, <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2020.06.081>.
 7. Atretkhany, K. S. N., and Drutskaya, M. S. (2016) Myeloid-derived suppressor cells and proinflammatory cytokines as targets for cancer therapy, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 1274-1283, <https://doi.org/10.1134/S0006297916110055>.
 8. Haston, S., Gonzalez-Gualda, E., Morsli, S., Ge, J., Reen, V., Calderwood, A., Moutsopoulos I., Panousopoulos, 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., and Martinez-Barbera, J. P. (2023) Clearance of senescent macrophages ameliorates tumorigenesis in KRAS-driven lung cancer, *Cancer Cell*, **41**, 1242-1260.e6, <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2023.05.004>.
 9. De Visser, K. E., and Joyce, J. A. (2023) The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth, *Cancer Cell*, **41**, 374-403, <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2023.02.016>.
 10. Schmitt, C. A., Wang, B., and Demaria, M. (2022) Senescence and cancer – role and therapeutic opportunities, *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **19**, 619-636, <https://doi.org/10.1038/S41571-022-00668-4>.
 11. Canino, C., Mori, F., Cambria, A., Diamantini, A., Germoni, S., Alessandrini, G., Borsellino, G., Galati, R., Battistini, L., Blandino, R., Facciolo, F., Citro, G., Strano, S., Muti, P., Blandino, G., and Cioce, M. (2012) SASP mediates chemoresistance and tumor-initiating-activity of mesothelioma cells, *Oncogene*, **31**, 3148-3163, <https://doi.org/10.1038/ONC.2011.485>.
 12. Bogdanova, D. A., Kolosova, E. D., Pukhalskaia, T. V., Levchuk, K. A., Demidov, O. N., and Belotserkovskaya, E. V. (2024) The differential effect of senolytics on SASP cytokine secretion and regulation of EMT by CAFs, *Int. J. Mol. Sci.*, **25**, 4031, <https://doi.org/10.3390/IJMS25074031>.
 13. Milanovic, M., Fan, D. N. Y., Belenki, D., Däbritz, J. H. M., Zhao, Z., Yu, Y., Dörr, J. R., Dimitrova, L., Lenze, D., Monteiro Barbosa, I. A., Mendoza-Parra, M. A., Kanashova, T., Metzner, M., Pardon, K., Reimann, M., Trumpp, A., Dörken, B., Zuber, J., Gronemeyer, H., Hummel, M., Dittmar, G., Lee, S., and Schmitt, C. A. (2018) Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness, *Nature*, **553**, 96-100, <https://doi.org/10.1038/NATURE25167>.
 14. Nacarelli, T., Fukumoto, T., Zundell, J. A., Fatkhutdinov, N., Jean, S., Cadungog, M. G., Borowsky, M. E., and Zhang, R. (2020) NAMPT inhibition suppresses cancer stem-like cells associated with therapy-induced senescence in ovarian cancer, *Cancer Res.*, **80**, 890-900, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-2830>.
 15. Kim, Y. H., Choi, Y. W., Lee, J., Soh, E. Y., Kim, J. H., and Park, T. J. (2017) Senescent tumor cells lead the collective invasion in thyroid cancer, *Nat. Commun.*, **8**, 15208, <https://doi.org/10.1038/NCOMMS15208>.
 16. Coppe, J. P., Kauser, K., Campisi, J., and Beauséjour, C. M. (2006) Secretion of vascular endothelial growth factor by primary human fibroblasts at senescence, *J. Biol. Chem.*, **281**, 29568-29574, <https://doi.org/10.1074/JBC.M603307200>.
 17. Toste, P. A., Nguyen, A. H., Kadera, B. E., Duong, M., Wu, N., Gawlas, I., Tran, L. M., Bikhchandani, M., Li, L., Patel, S. G., Dawson, D. W., and Donahue, T. R. (2016) Chemotherapy-induced inflammatory gene signature and pro-tumorigenic phenotype in pancreatic CAFs via stress-associated MAPK, *Mol. Cancer Res.*, **14**, 437-447, <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-15-0348>.
 18. Chibaya, L., Snyder, J., and Ruscetti, M. (2022) Senescence and the tumor-immune landscape: Implications for cancer immunotherapy, *Semin. Cancer Biol.*, **86** (Pt 3), 827-845, <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2022.02.005>.
 19. Ruhland, M. K., Loza, A. J., Capietto, A. H., Luo, X., Knolhoff, B. L., Flanagan, K. C., Belt, B. A., Alspach, E., Leahy, K., Luo, J., Schaffer, A., Edwards, J. R., Longmore, G., Faccio, R., DeNardo, D. G., and Stewart, S. A. (2016) Stromal senescence establishes an immunosuppressive microenvironment that drives tumorigenesis, *Nat. Commun.*, **7**, 11762, <https://doi.org/10.1038/NCOMMS11762>.
 20. Angelini, P. D., Zacarias Fluck, M. F., Pedersen, K., Parra-Palau, J. L., Guiu, M., Bernadó Morales, C., Vicario, R., Luque-García, A., Navalpotro, N. P., Giral, J., Canals, F., Gomis, R. R., Tabernero, J., Baselga, J., Villanueva, J., and Arribas, J. (2013) Constitutive HER2 signaling promotes breast cancer metastasis through cellular senescence, *Cancer Res.*, **73**, 450-458, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2301>.

21. Chambers, C. R., Ritchie, S., Pereira, B. A., and Timpson, P. (2021) Overcoming the senescence-associated secretory phenotype (SASP): a complex mechanism of resistance in the treatment of cancer, *Mol. Oncol.*, **15**, 3242-3255, <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13042>.
22. Hernandez-Segura, A., Nehme, J., and Demaria, M. (2018) Hallmarks of cellular senescence, *Trends Cell Biol.*, **28**, 436-453, <https://doi.org/10.1016/J.TCB.2018.02.001>.
23. Lee, B. Y., Han, J. A., Im, J. S., Morrone, A., and Johung, K. (2006) Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase, *Aging Cell*, **5**, 187-195, <https://doi.org/10.1111/J.1474-9726.2006.00199.X>.
24. Martyshkina, Y. S., Tereshchenko, V. P., Bogdanova, D. A., and Rybtsov, S. A. (2023) Reliable hallmarks and biomarkers of senescent lymphocytes, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 15653, <https://doi.org/10.3390/IJMS242115653>.
25. Prasanna, P. G., Citrin, D. E., Hildesheim, J., Ahmed, M. M., Venkatachalam, S., Riscuta, G., Xi, D., Zheng, G., Deursen, J. V., Goronzy, J., Kron, S. J., Anscher, M. S., Sharpless, N. E., Campisi, J., Brown, S. L., Niedernhofer, L. J., O'Loughlen, A., Georgakilas, A. G., Paris, F., Gius, D., Gewirtz, D. A., Schmitt, C. A., Abazeed, M. E., Kirkland, J. L., Richmond, A., Romesser, P. B., Lowe, S. W., Gil, J., Mendonca, M. S., Burma, S., Zhou, D., and Coleman, C. N. (2021) Therapy-induced senescence: opportunities to improve anticancer therapy, *J. Natl. Cancer Inst.*, **113**, 1285-1298, <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJAB064>.
26. Dehne, N., Mora, J., Namgaladze, D., Weigert, A., and Brüne, B. (2017) Cancer cell and macrophage cross-talk in the tumor microenvironment, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **35**, 12-19, <https://doi.org/10.1016/J.COPH.2017.04.007>.
27. Weinstein, J. N., Akbani, R., Broom, B. M., Wang, W., Verhaak, R. G. W., and McConkey, D. (2014) Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma, *Nature*, **507**, 315-322, <https://doi.org/10.1038/nature12965>.
28. Jiang, Q., Zhou, J., Chen, Q., Huang, Y., Yang, C., and Liu, C. (2023) Construction and experimental validation of a macrophage cell senescence-related gene signature to evaluate the prognosis, immunotherapeutic sensitivity, and chemotherapy response in bladder cancer, *Funct. Integrat. Genomics*, **23**, 228, <https://doi.org/10.1007/S10142-023-01163-4>.
29. Prieto, L. I., Sturmlechner, I., Graves, S. I., Zhang, C., Goplen, N. P., Yi, E. S., Sun, J., Li, H., and Baker, D. J. (2023) Senescent alveolar macrophages promote early-stage lung tumorigenesis, *Cancer Cell*, **41**, 1261-1275.e6, <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2023.05.006>.
30. Cuollo, L., Antonangeli, F., Santoni, A., and Soriani, A. (2020) The senescence-associated secretory phenotype (SASP) in the challenging future of cancer therapy and age-related diseases, *Biology*, **9**, 1-16, <https://doi.org/10.3390/biology9120485>.
31. Yurakova, T. R., Gorshkova, E. A., Nosenko, M. A., and Drutskaya, M. S. (2024) Metabolic changes and functional activity of macrophages in homeostasis and in inflammation, *Biochemistry (Moscow)*, **89**, 817-838, <https://doi.org/10.1134/S0006297924050043>.
32. Wu, K., Lin, K., Li, X., Yuan, X., Xu, P., Ni, P., and Xu, D. (2020) Redefining tumor-associated macrophage subpopulations and functions in the tumor microenvironment, *Front. Immunol.*, **11**, 1731, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01731>.
33. Park, J. V., Chandra, R., Cai, L., Ganguly, D., Li, H., Toombs, J. E., Girard, L., Brekken, R. A., and Minna, J. D. (2022) Tumor cells modulate macrophage phenotype in a novel *in vitro* co-culture model of the NSCLC tumor microenvironment, *J. Thoracic Oncol.*, **17**, 1178-1191, <https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2022.06.011>.
34. Hall, B. M., Balan, V., Gleiberman, A. S., Strom, E., Krasnov, P., Virtuoso, L. P., Rydkina, E., Vujcic, S., Balan, K., Gitlin, I. I., Leonova, K. I., Consiglio, C. R., Gollnick, S. O., Chernova, O. B., and Gudkov, A. V. (2017) p16(Ink4a) and senescence-associated β -galactosidase can be induced in macrophages as part of a reversible response to physiological stimuli, *Aging*, **9**, 1867-1884, <https://doi.org/10.18632/aging.101268>.
35. Korneev, K. V., Kondakova, A. N., Sviriaeva, E. N., Mitkin, N. A., Palmigiano, A., Kruglov, A. A., Telegin, G. B., Drutskaya, M. S., Sturiale, L., Garozzo, D., Nedospasov, S. A., Knirel, Y. A., and Kuprash, D. V. (2018) Hypoacylated LPS from foodborne pathogen *Campylobacter jejuni* induces moderate TLR4-mediated inflammatory response in murine macrophages, *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **8**, 58, <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2018.00058>.
36. Cudejko, C., Wouters, K., Fuentes, L., Hannou, S. A., Paquet, C., Bantubungi, K., Bouchaert, E., Vanhoutte, J., Fleury, S., Remy, P., Tailleur, A., Chinetti-Gbaguidi, G., Dombrowicz, D., Staels, B., and Paumelle, R. (2011) p16INK4a deficiency promotes IL-4-induced polarization and inhibits proinflammatory signaling in macrophages, *Blood*, **118**, 2556-2566, <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2010-10-313106>.
37. Lechner, A., Henkel, F. D. R., Hartung, F., Bohnacker, S., Alessandrini, F., Gubernatorova, E. O., Drutskaya, M. S., Angioni, C., Schreiber, Y., Haimerl, P., Ge, Y., Thomas, D., Kabat, A. M., Pearce, E. J., Ohnmacht, C., Nedospasov, S. A., Murray, P. J., Chaker, A. M., Schmidt-Weber, C. B., and Esser-von Bieren, J. (2022) Macrophages acquire a TNF-dependent inflammatory memory in allergic asthma, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **149**, 2078-2090, <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2021.11.026>.
38. Rackov, G., Hernández-Jiménez, E., Shokri, R., Carmona-Rodríguez, L., Mañes, S., Álvarez-Mon, M., López-Collazo, E., Martínez-A. C., and Balomenos, D. (2016) P21 mediates macrophage reprogramming through regulation of p50-p50 NF- κ B and IFN- β , *J. Clin. Invest.*, **126**, 3089-3103, <https://doi.org/10.1172/JCI83404>.

39. Wang, L. X., Zhang, S. X., Wu, H. J., Rong, X. L., and Guo, J. (2019) M2b macrophage polarization and its roles in diseases, *J. Leukoc. Biol.*, **106**, 345-358, <https://doi.org/10.1002/JLB.3RU1018-378RR>.
40. Yuan, A., Hsiao, Y. J., Chen, H. Y., Chen, H. W., Ho, C. C., Chen, Y. Y., Liu, Y. C., Hong, T. H., Yu, S. L., Chen, J. J., and Yang, P. C. (2015) Opposite effects of M1 and M2 macrophage subtypes on lung cancer progression, *Sci. Rep.*, **5**, 14273, <https://doi.org/10.1038/SREP14273>.
41. Luque-Campos, N., Bustamante-Barrientos, F. A., Pradenas, C., García, C., Araya, M. J., Bohaud, C., Contreras-López, R., Elizondo-Vega, R., Djouad, F., Luz-Crawford, P., and Vega-Letter, A. M. (2021) The macrophage response is driven by mesenchymal stem cell-mediated metabolic reprogramming, *Front. Immunol.*, **12**, 624746, <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.624746>.
42. De Paoli, F., Staels, B., and Chinetti-Gbaguidi, G. (2014) Macrophage phenotypes and their modulation in atherosclerosis, *Circ. J.*, **78**, 1775-1781, <https://doi.org/10.1253/CIRCJ.CJ-14-0621>.
43. Zhang, F., Miao, Y., Liu, Q., Li, S., and He, J. (2020) Changes of pro-inflammatory and anti-inflammatory macrophages after peripheral nerve injury, *RSC Adv.*, **10**, 38767-38773, <https://doi.org/10.1039/D0RA06607A>.
44. Su, L., Dong, Y., Wang, Y., Wang, Y., Guan, B., Lu, Y., Wu, J., Wang, X., Li, D., Meng, A., and Fan, F. (2021) Potential role of senescent macrophages in radiation-induced pulmonary fibrosis, *Cell Death Dis.*, **12**, 527, <https://doi.org/10.1038/S41419-021-03811-8>.
45. Sadhu, S., Decker, C., Sansbury, B. E., Marinello, M., Seyfried, A., Howard, J., Mori, M., Hosseini, Z., Arunachalam, T., Finn, A. V., Lamar, J. M., Jourdeuil, D., Guo, L., MacNamara, K. C., Spite, M., and Fredman, G. (2021) Radiation-induced macrophage senescence impairs resolution programs and drives cardiovascular inflammation, *J. Immunol.*, **207**, 1812-1823, <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.2100284>.
46. De Maeyer, R. P. H., and Chambers, E. S. (2021) The impact of ageing on monocytes and macrophages, *Immunol. Lett.*, **230**, 1-10, <https://doi.org/10.1016/J.IMLET.2020.12.003>.
47. Seegren, P. V., Harper, L. R., Downs, T. K., Zhao, X. Y., Viswanathan, S. B., Strembska, M. E., Olson, R. J., Kennedy, J., Ewald, S. E., Kumar, P., and Desai, B. N. (2023) Reduced mitochondrial calcium uptake in macrophages is a major driver of inflammaging, *Nat. Aging*, **3**, 796-812, <https://doi.org/10.1038/S43587-023-00436-8>.
48. Wang, B., Wang, L., Gasek, N. S., Zhou, Y., Kim, T., Guo, C., Jellison, E. R., Haynes, L., Yadav, S., Tchkonja, T., Kuchel, G. A., Kirkland, J. L., and Xu, M. (2021) An inducible p21-Cre mouse model to monitor and manipulate p21-highly-expressing senescent cells *in vivo*, *Nat. Aging*, **1**, 962-973, <https://doi.org/10.1038/S43587-021-00107-6>.
49. Hall, B. M., Balan, V., Gleiberman, A. S., Strom, E., Krasnov, P., Virtuoso, L. P., Rydkina, E., Vujcic, S., Balan, K., Gitlin, I., Leonova, K., Polinsky, A., Chernova, O. B., and Gudkov, A. V. (2016) Aging of mice is associated with p16(Ink4a)- and β -galactosidase-positive macrophage accumulation that can be induced in young mice by senescent cells, *Aging*, **8**, 1294-1315, <https://doi.org/10.18632/AGING.100991>.
50. Liu, J. Y., Souroullas, G. P., Diekman, B. O., Krishnamurthy, J., Hall, B. M., Sorrentino, J. A., Parker, J. S., Sessions, G. A., Gudkov, A. V., and Sharpless, N. E. (2019) Cells exhibiting strong p16INK4a promoter activation *in vivo* display features of senescence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 2603-2611, <https://doi.org/10.1073/PNAS.1818313116>.
51. Yousefzadeh, M. J., Flores, R. R., Zhu, Y., Schmiechen, Z. C., Brooks, R. W., Trussoni, C. E., Cui, Y., Angelini, L., Lee, K. A., McGowan, S. J., Burrack, A. L., Wang, D., Dong, Q., Lu, A., Sano, T., O'Kelly, R. D., McGuckian, C. A., Kato, J. I., Bank, M. P., Wade, E. A., Pillai, S. P. S., Klug, J., Ladiges, W. C., Burd, C. E., Lewis, S. E., LaRusso, N. F., Vo, N. V., Wang, Y., Kelley, E. E., Huard, J., Stromnes, I. M., Robbins, P. D., and Niedernhofer, L. J. (2021) An aged immune system drives senescence and ageing of solid organs, *Nature*, **594**, 100-105, <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03547-7>.
52. Renshaw, M., Rockwell, J., Engleman, C., Gewirtz, A., Katz, J., and Sambhara, S. (2002) Cutting edge: impaired Toll-like receptor expression and function in aging, *J. Immunol.*, **169**, 4697-4701, <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.169.9.4697>.
53. Wada, H., Otsuka, R., Germeraad, W. T. V., Murata, T., Kondo, T., and Seino, K. I. (2023) Tumor cell-induced macrophage senescence plays a pivotal role in tumor initiation followed by stable growth in immunocompetent condition, *J. Immunother. Cancer*, **11**, e006677, <https://doi.org/10.1136/JITC-2023-006677>.
54. Li, X., Li, C., Zhang, W., Wang, Y., Qian, P., and Huang, H. (2023) Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies, *Signal Transduct. Target. Ther.*, **8**, 239, <https://doi.org/10.1038/S41392-023-01502-8>.
55. Moss, C. E., Phipps, H., Wilson, H. L., and Kiss-Toth, E. (2023) Markers of the ageing macrophage: a systematic review and meta-analysis, *Front. Immunol.*, **14**, 1222308, <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1222308>.
56. Guo, Z., Song, J., Hao, J., Zhao, H., Du, X., Li, E., Kuang, Y., Yang, F., Wang, W., Deng, J., and Wang, Q. (2019) M2 macrophages promote NSCLC metastasis by upregulating CRYAB, *Cell Death Disease*, **10**, 377, <https://doi.org/10.1038/S41419-019-1618-X>.
57. Cao, L., Che, X., Qiu, X., Li, Z., Yang, B., Wang, S., Hou, K., Fan, Y., Qu, X., and Liu, Y. (2019) M2 macrophage infiltration into tumor islets leads to poor prognosis in non-small-cell lung cancer, *Cancer Manag. Res.*, **11**, 6125-6138, <https://doi.org/10.2147/CMAR.S199832>.

58. Hojnik, M., Šuster, N. K., Smrkolj, Š., Sisinger, D., Grazio, S. F., Verdenik, I., and Rižner, T. L. (2022) AKR1B1 as a prognostic biomarker of high-grade serous ovarian cancer, *Cancers*, **14**, 809, <https://doi.org/10.3390/cancers14030809>.
59. Yamaguchi, Y., Kaida, K., Suenaga, Y., Ishigami, A., Kobayashi, Y., and Nagata, K. (2020) Age-related dysfunction of p53-regulated phagocytic activity in macrophages, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **529**, 462-466, <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2020.05.121>.
60. Fan, Y., Cheng, J., Zeng, H., and Shao, L. (2020) Senescent cell depletion through targeting BCL-family proteins and mitochondria, *Front. Physiol.*, **11**, 593630, <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2020.593630>.
61. Burd, C. E., Sorrentino, J. A., Clark, K. S., Darr, D. B., Krishnamurthy, J., Deal, A. M., Bardeesy, N., Castrillon, D. H., Beach, D. H., and Sharpless, N. E. (2013) Monitoring tumorigenesis and senescence *in vivo* with a p16(INK4a)-luciferase model, *Cell*, **152**, 340-351, <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2012.12.010>.
62. Grosse, L., Wagner, N., Emelyanov, A., Molina, C., Lacas-Gervais, S., Wagner, K. D., and Bulavin, D. V. (2020) Defined p16High senescent cell types are indispensable for mouse healthspan, *Cell Metab.*, **32**, 87-99.e6, <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2020.05.002>.
63. Wiley, C. D., and Campisi, J. (2021) The metabolic roots of senescence: mechanisms and opportunities for intervention, *Nat. Metab.*, **3**, 1290-1301, <https://doi.org/10.1038/S42255-021-00483-8>.
64. Marrella, V., Facoetti, A., and Cassani, B. (2022) Cellular senescence in immunity against infections, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 11845, <https://doi.org/10.3390/IJMS231911845>.
65. Van den Bossche, J., Baardman, J., Otto, N. A., van der Velden, S., Neele, A. E., van den Berg, S. M., Luque-Martin, R., Chen, H. J., Boshuizen, M. C., Ahmed, M., Hoeksema, M. A., de Vos, A. F., and de Winther, M. P. (2016) Mitochondrial dysfunction prevents repolarization of inflammatory macrophages, *Cell Rep.*, **17**, 684-696, <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2016.09.008>.
66. Van den Bossche, J., O'Neill, L. A., and Menon, D. (2017) Macrophage immunometabolism: where are we (going)? *Trends Immunol.*, **38**, 395-406, <https://doi.org/10.1016/J.IT.2017.03.001>.
67. Shi, Q., Shen, Q., Liu, Y., Shi, Y., Huang, W., Wang, X., Li, Z., Chai, Y., Wang, H., Hu, X., Li, N., Zhang, Q., and Cao, X. (2022) Increased glucose metabolism in TAMs fuels O-GlcNAcylation of lysosomal Cathepsin B to promote cancer metastasis and chemoresistance, *Cancer Cell*, **40**, 1207-1222.e10, <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2022.08.012>.
68. Liu, J., and Cao, X. (2023) Glucose metabolism of TAMs in tumor chemoresistance and metastasis, *Trends Cell Biol.*, **33**, 967-978, <https://doi.org/10.1016/J.TCB.2023.03.008>.
69. Stabenow, L. K., Zibrova, D., Ender, C., Helbing, D. L., Spengler, K., Marx, C., Wang, Z. Q., and Heller, R. (2022) Oxidative glucose metabolism promotes senescence in vascular endothelial cells, *Cells*, **11**, 2213, <https://doi.org/10.3390/CELLS11142213>.
70. Seo, E., Kang, H., Choi, H., Choi, W., and Jun, H. S. (2019) Reactive oxygen species-induced changes in glucose and lipid metabolism contribute to the accumulation of cholesterol in the liver during aging, *Aging Cell*, **18**, e12895, <https://doi.org/10.1111/ACEL.12895>.
71. Bonnet, L., Alexandersson, I., Baboota, R. K., Kroon, T., Oscarsson, J., Smith, U., and Boucher, J. (2022) Cellular senescence in hepatocytes contributes to metabolic disturbances in NASH, *Front. Endocrinol.*, **13**, 957616, <https://doi.org/10.3389/FENDO.2022.957616>.
72. Murao, N., Yokoi, N., Takahashi, H., Hayami, T., Minami, Y., and Seino, S. (2022) Increased glycolysis affects β -cell function and identity in aging and diabetes, *Mol. Metab.*, **55**, 101414, <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101414>.
73. Murakami, T., Inagaki, N., and Kondoh, H. (2022) Cellular senescence in diabetes mellitus: distinct senotherapeutic strategies for adipose tissue and pancreatic β cells, *Front. Endocrinol.*, **13**, 869414, <https://doi.org/10.3389/FENDO.2022.869414>.
74. Poisa-Beiro, L., Landry, J. J. M., Raffel, S., Tanaka, M., Zaugg, J., Gavin, A. C., and Ho, A. D. (2022) Glucose metabolism and aging of hematopoietic stem and progenitor cells, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 3028, <https://doi.org/10.3390/IJMS23063028>.
75. Lee, J. C., Kim, G. C., Lee, N. K., Kim, S. W., Cho, Y. S., Chung, S. W., Lee, Y. S., Chang, H. W., Byun, Y., and Kim, S. Y. (2022) Feedback amplification of senolysis using caspase-3-cleavable peptide-doxorubicin conjugate and 2DG, *J. Controll. Rel.*, **346**, 158-168, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.04.012>.
76. Camacho-Pereira, J., Tarragó, M. G., Chini, C. C. S., Nin, V., Escande, C., Warner, G. M., Puranik, A. S., Schoon, R. A., Reid, J. M., Galina, A., and Chini, E. N. (2016) CD38 dictates age-related NAD decline and mitochondrial dysfunction through an SIRT3-dependent mechanism, *Cell Metab.*, **23**, 1127-1139, <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2016.05.006>.
77. Xie, N., Zhang, L., Gao, W., Huang, C., Huber, P. E., Zhou, X., Li, C., Shen, G., and Zou, B. (2020) NAD⁺ metabolism: pathophysiologic mechanisms and therapeutic potential, *Signal Transduct. Targeted Ther.*, **5**, 227, <https://doi.org/10.1038/S41392-020-00311-7>.
78. Gomes, A. P., Price, N. L., Ling, A. J. Y., Moslehi, J. J., Montgomery, M. K., Rajman, L., White, J. P., Teodoro, J. S., Wrann, C. D., Hubbard, B. P., Mercken, E. M., Palmeira, C. M., de Cabo, R., Rolo, A. P., Turner, N., Bell, E. L., and Sinclair, D. A.

- (2013) Declining NAD⁺ induces a pseudohypoxic state disrupting nuclear-mitochondrial communication during aging, *Cell*, **155**, 1624-1638, <https://doi.org/10.1016/j.CELL.2013.11.037>.
79. Du, Y., Dai, Q., Zhang, H., Li, Q., Song, K., Fu, Y., Min, W., Liu, Z., and Li, R. (2019) CD38 deficiency downregulates the onset and pathogenesis of collagen-induced arthritis through the NF- κ B pathway, *J. Immunol. Res.*, 7026067, <https://doi.org/10.1155/2019/7026067>.
 80. Salminen, A., Kauppinen, A., and Kaarniranta, K. (2012) Emerging role of NF- κ B signaling in the induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP), *Cell. Signall.*, **24**, 835-845, <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.12.006>.
 81. Vitale, I., Manic, G., Coussens, L. M., Kroemer, G., and Galluzzi, L. (2019) Macrophages and metabolism in the tumor microenvironment, *Cell Metab.*, **30**, 36-50, <https://doi.org/10.1016/j.CMET.2019.06.001>.
 82. Tedesco, S., Scattolini, V., Albiero, M., Bortolozzi, M., Avogaro, A., Cignarella, A., and Fadini, G. P. (2019) Mitochondrial calcium uptake is instrumental to alternative macrophage polarization and phagocytic activity, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 4966, <https://doi.org/10.3390/IJMS20194966>.
 83. Baker, D. J., Childs, B. G., Durik, M., Wijers, M. E., Sieben, C. J., Zhong, J., Saltness, R. A., Jeganathan, K. B., Verzosa, G. C., Pezeshki, A., Khazaie, K., Miller, J. D., and van Deursen, J. M. (2016) Naturally occurring p16 (Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan, *Nature*, **530**, 184-189, <https://doi.org/10.1038/nature16932>.
 84. Hickson, L. T. J., Langhi Prata, L. G. P., Bobart, S. A., Evans, T. K., Giorgadze, N., Hashmi, S. K., Herrmann, S. M., Jensen, M. D., Jia, Q., Jordan, K. L., Kellogg, T. A., Khosla, S., Koerber, D. M., Lagnado, A. B., Lawson, D. K., LeBrasseur, N. K., Lerman, L. O., McDonald, K. M., McKenzie, T. J., Passos, J. F., Pignolo, R. J., Pirtskhalava, T., Saadiq, I. M., Schaefer, K. K., Textor, S. C., Vitorcelli, S. G., Volkman, T. L., Xue, A., Wentworth, M. A., Wissler Gerdes, E. O., Zhu, Y., Tchkonja, T., and Kirkland, J. L. (2019) Senolytics decrease senescent cells in humans: preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease, *EBioMedicine*, **47**, 446-456, <https://doi.org/10.1016/j.EBIOM.2019.08.069>.
 85. Cao, H., Jia, Q., Yan, L., Chen, C., Xing, S., and Shen, D. (2019) Quercetin suppresses the progression of atherosclerosis by regulating MST1-mediated autophagy in ox-LDL-induced RAW264.7 macrophage foam cells, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 6093, <https://doi.org/10.3390/IJMS20236093>.
 86. Su, W., Hu, Y., Fan, X., and Xie, J. (2023) Clearance of senescent cells by navitoclax (ABT263) rejuvenates UHMWPE-induced osteolysis, *Int. Immunopharmacol.*, **115**, 109694, <https://doi.org/10.1016/j.INTIMP.2023.109694>.
 87. Ramsey, H. E., Gorska, A. E., Smith, B. N., Monteith, A. J., Fuller, L., Arrate, M. P., and Savona, M. R. (2023) TLR3 agonism augments CD47 inhibition in acute myeloid leukemia, *Haematologica*, <https://doi.org/10.3324/haematol.2023.283850>.
 88. Liu, L., Yue, X., Sun, Z., Hambright, W. S., Feng, Q., Cui, Y., Huard, J., Robbins, P. D., Wang, Z., and Mu, X. (2022) Senolytic elimination of senescent macrophages restores muscle stem cell function in severely dystrophic muscle, *Aging*, **14**, 7650-7661, <https://doi.org/10.18632/aging.204275>.
 89. Zhao, J., Zhang, L., Mu, X., Doebelin, C., Doebelin, C., Nguyen, W., Wallace, C., Reay, D. P., McGowan, S. J., Corbo, L., Clemens, P. R., Wilson, G. M., Watkins, S. C., Solt, L. A., Cameron, M. D., Huard, J., Niedernhofer, L. J., Kamenecka, T. M., and Robbins, P. D. (2018) Development of novel NEMO-binding domain mimetics for inhibiting IKK/NF- κ B activation, *PLoS Biol.*, **16**, e2004663, <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2004663>.
 90. Zhang, L., Zhao, J., Mu, X., McGowan, S. J., Angelini, L., O'Kelly, R. D., Yousefzadeh, M. J., Sakamoto, A., Aversa, Z., LeBrasseur, N. K., Suh, Y., Huard, J., Kamenecka, T. M., Niedernhofer, L. J., and Robbins, P. D. (2021) Novel small molecule inhibition of IKK/NF- κ B activation reduces markers of senescence and improves healthspan in mouse models of aging, *Aging Cell*, **20**, e13486, <https://doi.org/10.1111/ACEL.13486>.
 91. Ji, X., Du, W., Che, W., Wang, L., and Zhao, L. (2023) Apigenin inhibits the progression of osteoarthritis by mediating macrophage polarization, *Molecules*, **28**, 2915, <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28072915>.
 92. Perrott, K. M., Wiley, C. D., Desprez, P. Y., and Campisi, J. (2017) Apigenin suppresses the senescence-associated secretory phenotype and paracrine effects on breast cancer cells, *GeroScience*, **39**, 161-173, <https://doi.org/10.1007/S11357-017-9970-1>.
 93. Deryabin, P. I., Shatrova, A. N., and Borodkina, A. V. (2021) Apoptosis resistance of senescent cells is an intrinsic barrier for senolysis induced by cardiac glycosides, *Cell. Mol. Life Sci.*, **78**, 7757-7776, <https://doi.org/10.1007/S00018-021-03980-X>.
 94. Triana-Martínez, F., Picallos-Rabina, P., Da Silva-Álvarez, S., Pietrocola, F., Llanos, S., Rodilla, V., Soprano, E., Pedrosa, P., Ferreirós, A., Barradas, M., Hernández-González, F., Lalinde, M., Prats, N., Bernadó, C., González, P., Gómez, M., Ikonomopoulou, M. P., Fernández-Marcos, P. J., García-Caballero, T., Del Pino, P., Arribas, J., Vidal, A., González-Barcia, M., Serrano, M., Loza, M. I., Domínguez, E., and Collado, M. (2019) Identification and characterization of Cardiac Glycosides as senolytic compounds, *Nat. Commun.*, **10**, 4731, <https://doi.org/10.1038/S41467-019-12888-X>.
 95. Yu, Z., Li, Y., Li, Y., Zhang, J., Li, M., Ji, L., Tang, Y., Zheng, Y., Sheng, J., Han, Q., Li, F., Guo, J., Wang, L., Sun, X., Gao, Y., and Feng, H. (2022) Bufalin stimulates antitumor immune response by driving tumor-infiltrating macrophage

- toward M1 phenotype in hepatocellular carcinoma, *J. Immunother. Cancer*, **10**, e004297, <https://doi.org/10.1136/JITC-2021-004297>.
96. Chen, Y. J., Li, G. N., Li, X. J., Wei, L. X., Fu, M. J., Cheng, Z. L., Yang, Z., Zhu, G. Q., Wang, X. D., Zhang, C., Zhang, J. Y., Sun, Y. P., Saiyin, H., Zhang, J., Liu, W. R., Zhu, W. W., Guan, K. L., Xiong, Y., Yang, Y., Ye, D., and Chen, L. L. (2023) Targeting IRG1 reverses the immunosuppressive function of tumor-associated macrophages and enhances cancer immunotherapy, *Sci. Adv.*, **9**, eadg0654, <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ADG0654>.
97. Liu, Q., Yang, C., Wang, S., Shi, D., Wei, C., Song, J., Lin, X., Dou, R., Bai, J., Xiang, Z., Huang, S., Liu, K., and Xiong, B. (2020) Wnt5a-induced M2 polarization of tumor-associated macrophages via IL-10 promotes colorectal cancer progression, *Cell Commun. Signal.*, **18**, 51, <https://doi.org/10.1186/S12964-020-00557-2>.
98. Binnewies, M., Pollack, J. L., Rudolph, J., Dash, S., Abushawish, M., Lee, T., Jahchan, N. S., Canaday, P., Lu, E., Norng, M., Mankikar, S., Liu, V. M., Du, X., Chen, A., Mehta, R., Palmer, R., Juric, V., Liang, L., Baker, K. P., Reyno, L., Krummel, M. F., Streuli, M., and Sriram, V. (2021) Targeting TREM2 on tumor-associated macrophages enhances immunotherapy, *Cell Rep.*, **37**, 109844, <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2021.109844>.
99. Wang, Q., Bergholz, J. S., Ding, L., Lin, Z., Kabraji, S. K., Hughes, M. E., He, X., Xie, S., Jiang, T., Wang, W., Zoeller, J. J., Kim, H. J., Roberts, T. M., Konstantinopoulos, P. A., Matulonis, U. A., Dillon, D. A., Winer, E. P., Lin, N. U., and Zhao, J. J. (2022) STING agonism reprograms tumor-associated macrophages and overcomes resistance to PARP inhibition in BRCA1-deficient models of breast cancer, *Nat. Commun.*, **13**, 3022, <https://doi.org/10.1038/S41467-022-30568-1>.
100. Yang, H., Zhang, Q., Xu, M., Wang, L., Chen, X., Feng, Y., Li, Y., Zhang, X., Cui, W., and Jia, X. (2020) CCL2-CCR2 axis recruits tumor associated macrophages to induce immune evasion through PD-1 signaling in esophageal carcinogenesis, *Mol. Cancer*, **19**, 41, <https://doi.org/10.1186/S12943-020-01165-X>.
101. Jiang, Y., Han, Q., Zhao, H., and Zhang, J. (2021) Promotion of epithelial-mesenchymal transformation by hepatocellular carcinoma-educated macrophages through Wnt2b/ β -catenin/c-Myc signaling and reprogramming glycolysis, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **40**, 13, <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01808-3>.
102. Benner, B., Scarberry, L., Suarez-Kelly, L. P., Duggan, M. C., Campbell, A. R., Smith, E., Lapurga, G., Jiang, K., Butchar, J. P., Tridandapani, S., Howard, J. H., Baiocchi, R. A., Mace, T. A., and Carson, W. E. (2019) Generation of monocyte-derived tumor-associated macrophages using tumor-conditioned media provides a novel method to study tumor-associated macrophages *in vitro*, *J. Immunother. Cancer*, **7**, 140, <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0622-0>.
103. Jeannin, P., Paolini, L., Adam, C., and Delneste, Y. (2018) The roles of CSFs on the functional polarization of tumor-associated macrophages, *FEBS J.*, **285**, 680-699, <https://doi.org/10.1111/febs.14343>.
104. Enukashvily, N. I., Ponomartsev, N. V., Ketkar, A., Suezov, R., Chubar, A. V., Prjibelski, A. D., Shafranskaya, D. D., Elmshäuser, S., Keber, C. U., Stefanova, V. N., Akopov, A. L., Klingmüller, U., Pfefferle, P. I., Stiewe, T., Lauth, M., and Brichkina, A. I. (2023) Pericentromeric satellite lncRNAs are induced in cancer-associated fibroblasts and regulate their functions in lung tumorigenesis, *Cell Death Dis.*, **14**, 19, <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05553-1>.
105. Heap, R. E., Marín-Rubio, J. L., Peltier, J., Heunis, T., Dannoura, A., Moore, A., and Trost, M. (2021) Proteomics characterisation of the L929 cell supernatant and its role in BMDM differentiation, *Life Sci. Alliance*, **4**, e202000957, <https://doi.org/10.26508/LSA.202000957>.
106. De Brito Monteiro, L., Davanzo, G. G., de Aguiar, C. F., Corrêa da Silva, F., Andrade, J. R., Campos Codo A., Silva Pereira, J. A. D., Freitas, L. P., and Moraes-Vieira, P. M. (2020) M-CSF- and L929-derived macrophages present distinct metabolic profiles with similar inflammatory outcomes, *Immunobiology*, **225**, 151935, <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2020.151935>.
107. Xu, N.-Y., Li, J., Wang, M. L., Chen, X. Y., Tang, R., and Liu, X. Q. (2024) Fabrication of a coculture organoid model in the biomimetic matrix of alginate to investigate breast cancer progression in a TAMs-leading immune microenvironment, *ACS Appl. Mater. Interf.*, **16**, 11275-11288, <https://doi.org/10.1021/ACSAMI.3C17863>.
108. Tashireva, L. A., Kalinchuk, A. Y., Gerashchenko, T. S., Menyailo, M., Khozyainova, A., Denisov, E. V., and Perelmuter, V. M. (2023) Spatial profile of tumor microenvironment in PD-L1-negative and PD-L1-positive triple-negative breast cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 1433, <https://doi.org/10.3390/IJMS24021433>.
109. Mei, Y., Xiao, W., Hu, H., Lu, G., Chen, L., Sun, Z., Lü, M., Ma, W., Jiang, T., Gao, Y., Li, L., Chen, G., Wang, Z., Li, H., Wu, D., Zhou, P., Leng, Q., and Jia, G. (2021) Single-cell analyses reveal suppressive tumor microenvironment of human colorectal cancer, *Clin. Translat. Med.*, **11**, e422, <https://doi.org/10.1002/CTM2.422>.
110. Krishna, C., DiNatale, R. G., Kuo, F., Srivastava, R. M., Vuong, L., Chowell, D., Gupta, S., Vanderbilt, C., Purohit, T. A., Liu, M., Kansler, E., Nixon, B. G., Chen, Y. B., Makarov, V., Blum, K. A., Attalla, K., Weng, S., Salmans, M. L., Golkaram, M., Liu, L., Zhang, S., Vijayaraghavan, R., Pawlowski, T., Reuter, V., Carlo, M. I., Voss, M. H., Coleman, J., Russo, P., Motzer, R. J., Li, M. O., Leslie, C. S., Chan, T. A., and Hakimi, A. A. (2021) Single-cell sequencing links multi-regional immune landscapes and tissue-resident T cells in ccRCC to tumor topology and therapy efficacy, *Cancer Cell*, **39**, 662-677.e6, <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2021.03.007>.
111. Yang, Q., Zhang, H., Wei, T., Lin, A., Sun, Y., Luo, P., and Zhang, J. (2021) Single-cell RNA sequencing reveals the heterogeneity of tumor-associated macrophage in non-small cell lung cancer and differences between sexes, *Front. Immunol.*, **12**, 756722, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.756722>.

112. Stanczak, M. A., Mantuano, N. R., Kirchhammer, N., Sanin, D. E., Jacob, F., Coelho, R., Everest-Dass, A. V., Wang, J., Trefny, M. P., Monaco, G., Bärenwaldt, A., Gray, M. A., Petrone, A., Kashyap, A. S., Glatz, K., Kasenda, B., Normington, K., Broderick, J., Peng, L., Pearce, O. M. T., Pearce, E. L., Bertozzi, C. R., Zippelius, A., and Läubli, H. (2022) Targeting cancer glycosylation repolarizes tumor-associated macrophages allowing effective immune checkpoint blockade, *Sci. Translat. Med.*, **14**, eabj1270, <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.ABJ1270>.
113. Grigorash, B. B., van Essen, D., Liang, G., Grosse, L., Emelyanov, A., Kang, Z., Korablev, A., Kanzler, B., Molina, C., Lopez, E., Demidov, O. N., Garrido, C., Liu, F., Sacconi, S., and Bulavin, D. V. (2023) p16^{High} senescence restricts cellular plasticity during somatic cell reprogramming, *Nat. Cell Biol.*, **25**, 1265-1278, <https://doi.org/10.1038/S41556-023-01214-9>.
114. Demaria, M., Ohtani, N., Youssef, S. A., Rodier, F., Toussaint, W., Mitchell, J. R., Laberge, R. M., Vijg, J., Van Steeg, H., Dollé, M. E., Hoeijmakers, J. H., de Bruin, A., Hara, E., and Campisi, J. (2014) An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA, *Dev. Cell*, **31**, 722-733, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.012>.
115. Omori, S., Wang, T. W., Johmura, Y., Kanai, T., Nakano, Y., Kido, T., Susaki, E. A., Nakajima, T., Shichino, S., Ueha, S., Ozawa, M., Yokote, K., Kumamoto, S., Nishiyama, A., Sakamoto, T., Yamaguchi, K., Hatakeyama, S., Shimizu, E., Katayama, K., Yamada, Y., Yamazaki, S., Iwasaki, K., Miyoshi, C., Funato, H., Yanagisawa, M., Ueno, H., Imoto, S., Furukawa, Y., Yoshida, N., Matsushima, K., Ueda, H. R., Miyajima, A., and Nakanishi, M. (2020) Generation of a p16 reporter mouse and its use to characterize and target p16^{high} cells *in vivo*, *Cell Metab.*, **32**, 814-828.e6, <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2020.09.006>.
116. Baker, D. J., Wijshake, T., Tchkonia, T., LeBrasseur, N. K., Childs, B. G., van de Sluis, B., Kirkland, J. L., and van Deursen, J. M. (2011) Clearance of p16 Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders, *Nature*, **479**, 232-236, <https://doi.org/10.1038/nature10600>.

TUMOR-ASSOCIATED SENESCENT MACROPHAGES, THEIR MARKERS AND THEIR ROLE IN THE TUMOR MICROENVIRONMENT

Review

T. V. Pukhalskaia^{1,2,3}, T. R. Yrakova², D. A. Bogdanova^{1,3}, and O. N. Demidov^{1,3,4*}

¹ Sirius University of Science and Technology, 354340 Federal Territory Sirius, Sirius Russia

² Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia

³ Institute of Cytology RAS, 194064 St. Petersburg, Russia

⁴ Inserm UMR1231, Université de Bourgogne, 21000 Dijon, France; e-mail: Oleg.Demidov@u-bourgogne.fr

Tumor-associated macrophages (TAMs) are an important component of the tumor microenvironment (TME) and the most abundant population of immune cells infiltrating a tumor. TAMs can largely determine the direction of the anti-tumor immune response. TAMs can promote it or, conversely, contribute to the formation of an immunosuppressive TME that allows tumors to evade immune control. Through interactions with tumor cells or other cells in the microenvironment, and as a result of the action of anti-cancer therapy, macrophages can enter senescence. In this review, we have attempted to summarize the information available in the literature on the role of senescent macrophages in tumors. With the recent development of senolytic therapeutic strategies aimed at removing senescent cells from the organism. It seems important to discuss the functions of senescent macrophages and the potential role of senolytic drugs in reprogramming TAMs to enhance the anti-tumor immune response and improve the efficacy of cancer treatment.

Keywords: senescent cells, p16^{INK4}, p21^{cip1}, CD206, CXCR1, tumor microenvironment, immunosuppression