

# Zróżnicowanie monocytów krwi obwodowej

## Differentiation of human peripheral blood monocytes

Joanna Kopeć-Szlęzak

Pracownia Immunofenotypowania, Zakład Diagnostyki Hematologicznej  
i Transfuzjologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

### Streszczenie

Monocyty krwi obwodowej u człowieka zostały opisane 50 lat temu. Są to komórki, z których mogą różnicować się makrofagi i komórki dendrytyczne. Monocyty stanowią populację niejednorodną pod względem stopnia zróżnicowania i pod względem immunofenotypu. Dzielą się na dwie główne subpopulacje: tak zwane klasyczne (ok. 90%) o fenotypie CD14+CD16–CCR2+ i nieklasyczne (ok. 10%) o fenotypie CD14+CD16+CX3CR1+. Wśród monocytów można również wyróżnić komórki proangiogenne z receptorem dla angiopoetyny (CD202a+), a także prawdopodobnie monocyty o własnościach proliferacyjnych. Monocyty mogą w odpowiednich warunkach różnicować się w osteoklasty oraz w komórki olbrzymie, co jest odzwierciedleniem ich dużej „plastyczności”.

**Słowa kluczowe:** monocyty, krew obwodowa, subpopulacje, różnicowanie

*J. Transf. Med.* 2010; 2: 62–66

### Summary

Monocytes were defined 50 years ago. Monocytes are circulating cell precursors for tissue macrophages and dendritic cells. The monocyte functional and phenotype heterogeneity have been recognized and in the recent years investigators have identified two human major monocyte subsets CD14+CD16–CCR2+ (classic — about 90%) and CD14+CD16+CX3CR1+ (non-classic — about 10%). Among monocytes there exist proangiogenic subsets with angiopoietin-2 receptor expression (CD202a+) cells and probably — potentially proliferating monocytes. In special environment monocytes may differentiate in osteoclasts and giant cells; recent experimental evidence highlights the “plasticity” of these cells.

**Key words:** monocytes, peripheral blood, subsets, differentiation

*J. Transf. Med.* 2010; 2: 62–66

### Ogólna charakterystyka monocytów

Monocyty powstają w szpiku, stanowią 5–10% krwinek białych krwi obwodowej i pozostają w krwioobiegu kilka dni. Monocyty mają trzy zasadnicze funkcje:

— biorą udział w odpowiedzi immunologicznej;

- usuwają czynniki zakaźne i martwe komórki na drodze fagocytozy;
- uczestniczą w procesie hematopoezy i w procesach zapalnych.

Monocyty w procesach odporności prezentują antygen limfocytom T, mogą też prezentować antygen limfocytom B, niezależnie od komórek T;

**Adres do korespondencji:** prof. dr hab. n. med. Joanna Kopeć-Szlęzak, Pracownia Immunofenotypowania, Zakład Diagnostyki Hematologicznej i Transfuzjologicznej IHiT, ul. I. Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel.: (22) 349 61 66, faks: (22) 349 64 55, e-mail: jszlez@poczta.onet.pl

mogą pobierać antygen w szpiku i przechować aż do wyjścia do krwi obwodowej. Ponadto monocyty uczestniczą w odporności jako komórki prekursorowe makrofagów i komórek dendrytycznych, najważniejszych komórek prezentujących antygen w organizmie [1].

Monocyty w procesie fagocytozy eliminują pozostałości komórek i zabijają egzogenne czynniki zakaźne; fagocytują w śledzionie degradujące się erytrocyty oraz resztki innych komórek, zwłaszcza w miejscach zakażeń lub uszkodzeń tkankowych. Monocyty rozpoznają czynniki zakaźne dzięki współdziałaniu molekuly powierzchniowej CD14 (wiążącej lipopolisacharydy bakteryjne — LPS) i receptora dla czynników zakaźnych z grupy *Toll-like* (TLR, *Toll-like receptor*) głównie TLR4 [2].

Udział monocytów w hematopoezie polega na wydzielaniu osteopontyny, która poprzez czynnik transkrypcyjny Notch w komórkach CD34+ reguluje ich aktywność. Monocyty wydzielają też chemokinę CXCL7, która uczestniczy w regulacji liczby megakariocytów w szpiku [3, 4].

W procesach zapalnych monocyty wytwarzają cytokiny prozapalne, na przykład: interleukinę 1 (IL-1, *interleukin 1*), IL-6, czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), interferon  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ , *interferon  $\alpha$* ) i IFN- $\beta$ . Specyficznym udziałem monocytów w procesie zapalnym jest też wydzielanie metaloproteinaz, endopeptydaz zawierających cynk w domenie katalitycznej. Monocyty produkują większość z 23 poznanych u człowieka metaloproteinaz. Metaloproteinazy powodują „odczepienie” molekuly CD14 od błony komórkowej monocytów, działając w ten sposób przeciwzapalnie oraz degradując kolagen. Istotną funkcją metaloproteinaz jest ułatwianie migracji leukocytów z krwi do ognisk zapalnych w tkankach poprzez degradację włókien substancji pozakomórkowej, między innymi kolagenu [5].

### Pochodzenie monocytów

Monocyty pochodzą od krwiotwórczej komórki macierzystej CD34+; której kolejnym etapem rozwoju jest wspólna komórka progenitorowa dla linii mieloidalnej — komórka CMP (*common myeloid progenitor*). Następne stadium stanowi komórka progenitorowa oligopotencjalna dla granulocytów i makrofagów (GMP, *granulocyte/macrophage progenitor*). Według aktualnego schematu hematopoezy monocyty krwi obwodowej jest traktowany jako komórka wyjściowa głównie dla makrofagów i komórek dendrytycznych, które są uważane za komórki ostatecznie zróżnicowane [6]. Stadium monoblastu

charakteryzuje ekspresja CD117 i CD34, zaś promocyty — zwykle ekspresja HLA-DR, CD33 oraz silna ekspresja CD15 i CD64; CD14 jest markerem monocytów [7].

Decydującym elementem rozwoju monocytów są czynniki transkrypcyjne, głównie PU.1 i MafB. Jak wykazano w badaniach na myszach czynnik transkrypcyjny PU.1 warunkuje obecność monocytów we krwi [8]. Wykazano również, że wzrost aktywności czynnika transkrypcyjnego MafB następuje w tym samym okresie różnicowania komórek, w którym obserwuje się wzrost ekspresji antygeny CD14, liniowego markera monocytów [9]. Ponadto proces monocytogenezy pozostaje pod kontrolą genetyczną cząstki mikroRNA 17-5p-20a-106a [10].

Według aktualnego piśmiennictwa proliferacja nowotworowa linii monocytów ogranicza się do białaczki przewlekłej (CMML, *chronic myelomonocytic leukemia*) i ostrej białaczki monocytowej (AMoL, *acute monoblastic/monocytic leukemia*) [11].

### Zróżnicowanie populacji monocytów krwi obwodowej

Termin „monocyt” oznacza komórkę jednojądrzastą znajdującą się we krwi obwodowej odznaczającą się ekspresją CD45 i CD14, zdolną do fagocytozy i/lub dalszego różnicowania.

Wyróżnia się dwie zasadnicze subpopulacje monocytów: tak zwaną subpopulację klasyczną (CD14+ CD16-) i nieklasyczną (CD14+ CD16+) [12].

### Charakterystyka subpopulacji klasycznej CD14+CD16-

Subpopulacja CD16- stanowi zwykle około 90% krążących monocytów i charakteryzuje się ekspresją receptora CCR2 dla chemokiny CCL2, o własnościach chemoatraktanta dla monocytów (określanej też jako *monocyte chemotactic protein*), wysoką ekspresją molekuly CD64 (receptor immunoglobuliny FC $\gamma$ R1, który może wiązać monomery IgG) i molekuly adhezyjnej selektyny CD62L. Monocyty te mają także wysoką ekspresję receptora granulocytarno-makrofagowego czynnika wzrostu (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*) i ekspresję CD93. Jest to glikoproteina, która uczestniczy w „pochłanianiu” komórek apoptotycznych na drodze niepoznanego dotychczas mechanizmu [2].

Monocyty CD14+CD16- wykazują ponadto ekspresję receptorów dla cytokin wydzielanych przez limfocyty Th2: IL-6 i IL-13, a także wydzielają cytokinę anty-Th-1, czyli IL-27. Charakterystyczna jest także ekspresja CD163, receptora dla

Tabela 1. Zróżnicowanie monocytów krwi obwodowej [15]

Table 1. Differentiation of peripheral blood monocytes [15]

Charakterystyka subpopulacji	Immunofenotyp
CD14+CD16- Większość populacji monocytów — ok. 90% Większa aktywność przeciwbakteryjna Większa zdolność do zasiedlania skóry	CD14+ + (receptor LPS) CD16- CD11b+ (łańcuch $\alpha 2$ integryny $\beta 2$ ) CD11c+ (łańcuch $\alpha 3$ integryny $\beta 2$ ) CD13+ (aminopeptydaza) CD31+ (molekuła adhezyjna PECAM-1) CD33+ (sialoadhezyjna) CD62L+ (selektyna) CD64+ (receptor Fc $\gamma$ RI) CD163+ (receptor uwolnionej hemoglobiny) CCR2+ (receptor chemokiny CCL2)
CD14+CD16+ Mniejsza część populacji monocytów — ok. 10% Większa aktywność w procesach zapalnych i nowotworowych oraz wydzielania cytokin Większa zdolność do zasiedlania błony śluzowej jelita	CD14+ CD16+ (receptor Fc $\gamma$ RIII) CD11b+ CD11c+ CD13+ CD31+ CD33+ CD62L-/+ CX3CR1+ (receptor dla chemokiny — fraktalkina)

LPS — lipopolisacharyd; PECAM-1 (*platelet/endothelial cell adhesion molecule 1*) — cząsteczka adhezji komórkowej płytek i śródbłonna 1

hemoglobiny. Udział tej subpopulacji monocytów w odpowiedzi na zakażenia bakteryjne jest od dawny znany, ciekawe jest jednak to, że liczebność tej frakcji monocytów może wzrastać w stanach niedotlenienia, na przykład podczas zawału serca [12].

### Charakterystyka subpopulacji nieklasycznej CD14+CD16+

Monocyty CD16+ stanowią średnio 10% monocytów krwi obwodowej człowieka i charakteryzuje je receptor CX3CR1 dla fraktalkiny, chemokiny wydzielanej przez aktywne komórki śródbłonna, między innymi w stanach zapalnych. Subpopulacja CD14+CD16+ wykazuje w przeciwieństwie do subpopulacji CD14+CD16- wysoką ekspresję HLA-DR oraz niską ekspresję CD64 i molekuły adhezyjnej — selektyny CD62L [13].

Monocyty CD14+CD16+ występują w tak zwanej puli marginalnej monocytów, inicjującej procesy zapalne, która pełni również funkcję „patrolującą”, szybko reagując na zakażenie i zapoczątkowując odpowiedź immunologiczną. W warunkach patologicznych ta subpopulacja wykazuje zdolność szybkiej ekspansji; w posocznicy liczebność tej frakcji może wzrosnąć 10-krotnie, równoległe do wzrostu stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy i wzrostu ekspresji TLR

na powierzchni monocytów, głównie TLR4 [14]. Porównanie własności dwóch zasadniczych subpopulacji monocytów przedstawiono w tabeli 1 [15].

Subpopulacja CD14+CD16+ u chorych zakażonych HIV może wzrosnąć nawet do 40% wszystkich krążących monocytów, podobnie jak u chorych z nowotworami w okresie tworzenia przerzutów [16]. Najczęściej jednak wzrost liczebności tej subpopulacji następuje w stanach zapalnych; może to następować pod wpływem transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (TGF- $\beta$ , *transforming growth factor  $\beta$* ), ale głównie pod wpływem granulocytów obojętno-chłonnych. Komórki te w ognisku zapalnym wydzielają między innymi białko związane z heparyną (HBP, *heparine-binding protein*) o własnościach chemotaktycznych, rekrutujące monocyty do ogniska zapalnego [17]. U chorych z nowotworami układu krwiotwórczego stwierdzono, że monocyty CD14+CD16+ wykazują przejściowy wzrost odsetka tej subpopulacji po chemioterapii i autotransplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych [18].

Monocyty CD14+CD16+ uczestniczą w powstawaniu blaszki miażdżycowej. Warunki sprzyjające jej powstaniu (np. hypercholesterolemia) powodują zmianę prawidłowego procesu migracji monocytów z krwi i różnicowania w makrofagi.

Zachodzi wówczas patogenny proces różnicowania monocytów i kumulacja w ścianie tętnicy tak zwanych makrofagów „piankowatych” (*foam cells*) gromadzących lipidy [19], co sprzyja rozwojowi blaszki miażdżycowej.

### **Monocyty proangiogenne i ich rola w nowotworach**

Od niedawna wyróżniane są także monocyty proangiogenne, które odznaczają się ekspresją receptora dla angiopoetyny Tie-2 (CD202a+), nazywane TEM (*tie monocytes*). Stanowią one 2–7% monocytów krwi obwodowej u zdrowych ludzi. U chorych z nowotworami ich liczba może wzrastać do około 20% całkowitej puli monocytów we krwi. Monocyty TEM z ekspresją CD14, CD11c i CD16 były obserwowane w guzach nowotworowych, gdzie stanowiły odrębną populację od makrofagów TAM (*tumor associated macrophages*). Monocyty TEM stanowią w guzie wprawdzie niewielki odsetek leukocytów naciekających nowotwór, ale występują nie tylko w obszarze okołonaczyniowym, ale i w miejscach oddalonych od naczyń, a także w tkankach sąsiadujących z nowotworem [20]. Oznaczanie monocytów TEM we krwi czy w guzie mogłoby być pośrednim wskaźnikiem angiopoezy i służyć do monitorowania powstawania naczyń krwionośnych *in vivo* [21].

## **Procesy różnicowania monocytów**

### **Różnicowanie monocytów w makrofagi**

Różnicowanie monocytów w makrofagi jest podstawową cechą tych komórek krwi obwodowej. Proces różnicowania poprzedza migracja monocytów przez śródbłonek i ścianę naczyń krwionośnych. Większość monocytów różnicuje się w makrofagi tkankowe o małej ruchliwości.

Monocyty różnicują się w makrofagi pod wpływem stymulacji różnymi czynnikami, często są to czynniki zakaźne, na przykład wirusy czy bakterie. Pod ich wpływem w środowisku tkankowym wzrasta stężenie cytokin i czynników wzrostu, które bezpośrednio wywołują przyspieszenie transmigracji monocytów i następnie procesy ich różnicowania. W zależności od rodzaju cytokin i czynników wzrostu monocyty różnicują się w makrofagi typu M1 lub M2. Stwierdzono, że w przypadku procesu zapalnego w obecności interferonu IFN- $\gamma$ , LPS, TNF- $\alpha$  i czynnika wzrostu dla granulocytów i makrofagów GM-CSF monocyty różnicują się w makrofagi typu M1 z ekspresją antygeny zgodności tkankowej HLA-DR oraz receptora dla interleuki-

ny 1 (IL-1R). Są to tak zwane makrofagi klasyczne, inaczej „prozapalne”. Natomiast w obecności IL-4, IL-10, IL-13 i czynnika wzrostu makrofagów M-CSF, a także kortykosteroidów monocyty różnicują się w makrofagi typu M2, tak zwane makrofagi immunomodulujące z ekspresją receptora mannozy CD206 [22].

W przypadku zakażenia wirusem cytomegalii (HCMV, *human cytomegalo virus*) stwierdzono wzrost ruchliwości monocytów i zwiększenie na ich powierzchni ekspresji molekuł adhezyjnych z grupy integryn  $\beta$  1, co intensyfikuje proces różnicowania w makrofagi typu M1. Proces ten sprzyja przewlekłemu rozwojowi wirusa w tkankach wskutek długotrwałego pozostawania w ustroju zakażonych makrofagów (zakażenie latentne). Makrofagi w przeciwieństwie do monocytów są komórkami żyjącymi długo [23].

### **Różnicowanie monocytów w komórki dendrytyczne**

Monocyty mogą w obecności wielu cytokin, na przykład GM-CSF, TNF- $\alpha$ , IL-4 różnicować się w komórki dendrytyczne typu mieloidalnego (CD11c+). Zwykle proces różnicowania jest związany z rozwojem zakażenia i stanu zapalnego, kiedy to liczba monocytów w krwi obwodowej wzrasta wraz z rozwojem zakażenia i stanu zapalnego [24].

Różnicowanie monocytów w komórki dendrytyczne zachodzi w tak zwanych narządach nielimfoidalnych, jak na przykład jelito lub płuca. Monocyty są ważnym źródłem pozyskiwania komórek dendrytycznych *in vitro*, stosowanych w terapii nowotworów jako leczenie immunomodulujące. Uzyskuje się je drogą leukaferezy i następnie stymuluje za pomocą GM-CSF i IL-4 (lub IL-13) dla różnicowania w postać mieloidalnych komórek dendrytycznych [25].

### **Różnicowanie monocytów w osteoklasty**

Subpopulacja monocytów CD14+CD16– może różnicować się w osteoklasty pod wpływem stymulacji czynnikiem RANKL (*receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand*) w połączeniu z czynnikiem wzrostu makrofagów (M-CSF). Natomiast monocyty CD16+ „współpracują” z monocytami CD16– wydzielając czynnik TNF- $\alpha$  i IL-6, co zwiększa stymulację wywoływaną przez RANKL i tym samym wzmacnia indukcję procesu różnicowania osteoklastów [26]. W płynie stawowym u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów stwierdzono występowanie monocytów, które stymulowane przez obecne w płynie cytokiny przyczyniają się do resorpcji kości [27].



## Różnicowanie monocytów w komórki ołbrzymie

Komórki ołbrzymie (*giant cells*) są charakterystyczne dla przewlekłych chorób zapalnych, takich jak sarkoidoza i gruźlica. Mogą także powstawać *in vitro* wskutek stymulacji cytokinami, głównie IFN- $\gamma$ , IL-3, IL-4, IL-13 i GM-CSF. Monocyty tworzące komórki ołbrzymie należą do subpopulacji CD14+CD16-, a w fuzji komórek uczestniczy E-kadheryna [28].

## Podsumowanie

Populacja monocytów jako układ niezrni- stych, fagocytujących komórek mieloidalnych została opisana 50 lat temu w 1960 roku przez Furtha i Cohna, ale dopiero badania ostatnich 10–15 lat dostarczyły szczegółowych informacji świadczących o wielostronnym udziale tych komórek w procesach fizjologicznych i w stanach patologicznych [15, 29]. Wyniki przedstawionych badań ukazują różnorodność subpopulacji monocytów krwi oraz możliwości ich wielokierunkowego różnicowania. Według niektórych danych część monocytów wykazuje nawet zdolność do proliferacji [30].

## Piśmiennictwo

1. Randolph G.J. Antigen presentation by monocytes and monocyte-derived cells. *Curr. Opin. Immunol.* 2008; 20: 52–60.
2. Dale D., Boxer L., Liles C. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood* 2008; 112: 935–945.
3. Iwata M., Awaya N., Graf L. i wsp. Human marrow stroma cells activate monocytes to secrete osteopontin, which down-regulates Notch1 gene expression in CD34+ cells. *Blood* 2004; 103: 4496–4502.
4. Pillai M.M., Iwata M., Awaya N. i wsp. Monocyte-derived CXCL7 peptides in the marrow microenvironment. *Blood* 2006; 107: 3520–3526.
5. Webster N., Crowe S. Matrix metalloproteinases, their production by monocytes and macrophages and their potential role in HIV-related diseases. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 80: 1052–1066.
6. Weissman I.L., Shizuru J.A. The origins of the identification and isolation of hematopoietic stem cells and their capability to induce donor-specific transplantation tolerance and treat autoimmune diseases. *Blood* 2008; 112: 3543–3553.
7. van Lochem E.G., van der Velden V.H.J., Wind H.K. i wsp. Immunophenotypic differentiation patterns of normal hematopoiesis in human bone marrow. *Cytometry Part B* 2004; 60 B: 1–13.
8. Yeaman C., Wang D., Paz-Priel I. i wsp. C/EBP $\alpha$  binds and activates the PU.1 distal enhancer to induce monocyte lineage commitment. *Blood* 2007; 110: 3136–3142.
9. Montanari M., Gemelli C., Tenedini E. i wsp. Correlation between differentiation plasticity and mRNA expression profiling of CD34+ derived CD14- and CD14+ human normal precursors. *Cell Death Different.* 2005; 12: 1588–1600.
10. Fontana L., Pelosi E., Breco P. i wsp. MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopoiesis through AML-1 targeting and M-CSF upregulation. *Nat. Cell. Biol.* 2007; 9: 775–787.
11. Goasgen J.E., Bennet J.M., Bain B., Vallespi T., Brunning R., Mufti G.J. Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica* 2009; 94: 456–458.
12. Ancuta P., Liu K., Misra W. i wsp. Transcriptional profiling reveals developmental relationship and distinct biological functions of CD16+ and CD16- monocyte subsets. *BMC Genomics* 2009; 10: 403–422.
13. Ziegler-Heitbrock L. The CD14+CD16+ blood monocytes: their role in infection and inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 81: 584–592.
14. Clancy F., Holloway A., Lari R., Cameron P., Hamilton J. Detection and properties of the human proliferative monocyte subpopulation. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 79: 757–766.
15. Martinez F.O. The transcriptome of human monocyte subset. *J. Biol.* 2009; 8: 99–106.
16. Alexaki A., Wigdahl B. HIV-1 Infection of bone marrow hematopoietic progenitor cells and their role in trafficking and viral dissemination. *PLoS Pathogens* 2008; 12: 1–7.
17. Soehnlein O., Zernecke A., Eriksson E. Neutrophil secretion products pave the way for inflammatory monocytes. *Blood* 2008; 112: 1461–1471.
18. Dayyani F., Joeinig A., Ziegler-Heitbrock L. i wsp. Autologous stem-cell transplantation restores the functional properties of CD14+CD16+ monocytes in patients with myeloma and lymphoma. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 75: 207–213.
19. Ludewig B., Laman J.D. The in and out of monocytes in atherosclerotic plaques: balancing inflammation through migration. *PNAS* 2004; 101: 11529–11530.
20. Venneri M.A., De Palma M., Ponzoni M. i wsp. Identification of proangiogenic TIE-2-expressing monocytes (TEMs) in human peripheral blood and cancer. *Blood* 2007; 109: 5276–5285.
21. Lewis C.E., De Palma M., Naldini L. Tie-2-expressing monocytes and tumor angiogenesis: regulation by hypoxia and angiopoietin-2. *Cancer Res.* 2007; 67: 8429–8432.
22. Ricardo S.D., Van Goor H., Eddy A.A. Macrophage diversity in renal injury and repair. *J. Clin. Invest.* 2008; 118: 3522–3531.
23. Chan G., Bivins-Smith E.R., Smith S., Smith P.M., Yurochko A.D. Transcriptome analysis reveals human cytomegalovirus reprograms monocyte differentiation toward M1 macrophages. *J. Immunol.* 2008; 181: 698–711.
24. Merad M., Manz M. Dendritic cell homeostasis. *Blood* 2009; 113: 3418–3427.
25. Podstawka U., Kopeć-Szlęzak J. Komórki dendrytyczne, ich właściwości i pozyskiwanie do zastosowania w immunoterapii nowotworów. *Post. Nauk Med.* 2008; 8: 541–546.
26. Komano L., Nanki T., Hayashida K., Tamiguchi K., Mivasaka N. Identification of a human monocyte subset that differentiates into osteoclasts. *Arthritis Res. Ther.* 2006; 8: R152.
27. Schett G. Osteoimmunology in rheumatic diseases. *Arthritis Res. Ther.* 2009; 11: 210–216.
28. Moreno J., Mikhalenko I., Tondravi M., Keegan A. IL-4 promotes the formation of multinucleated giant cells from macrophage precursors by a STAT6 dependent mechanism: contribution of E-cadherin. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 82: 1542–1553.
29. Yona S., Jung S. Monocytes: subset, origins, fates and functions. *Curr. Op. Hematol.* 2010; 17: 53–59.
30. Seta N., Kuwana M. Human circulating monocytes as multipotential progenitors. *Keio J. Med.* 2007; 56: 41–47.