

ПРОТОЧНО-ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К РАЗЛИЧНЫМ ЭПИТОПАМ МОЛЕКУЛЫ БТШ70 С ВНУТРИКЛЕТОЧНЫМИ И МЕМБРАНО- АССОЦИИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ ЭТОГО ПРОТЕИНА

Овсяникова О.В.^{1,2}, Шустова О.А.¹, Гречихина М.В.¹,
Сапожников А.М.¹

¹ ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
Российской академии наук, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Резюме. В настоящее время накопилось большое число сведений о том, что многие разновидности опухолевых клеток, в отличие от их нетрансформированных форм, характеризуются транслокацией внутриклеточных белков теплового шока 70 кДа (БТШ70) на поверхность плазматической мембраны. Это позволило отнести БТШ70, экспонированные на клеточной поверхности, к опухоль-ассоциированным антигенам и явилось основанием для поиска возможностей практического использования данного феномена в клинической онкологии. Существенным аргументом в пользу перспективности таких исследований послужила обнаруженная способность БТШ70, представленных на поверхности клеток-мишеней, усиливать цитотоксическую активность НК-клеток. В связи с этим, работы многих исследовательских групп посвящены разработке подходов к повышению уровня мембрано-ассоциированных БТШ70 в опухолевых тканях. В то же время, учитывая присутствие таких протеинов на поверхности многих разновидностей опухолевых клеток, в качестве одного из перспективных подходов можно рассматривать применение для противоопухолевой терапии моноклональных антител, взаимодействующих с молекулами БТШ70. Хорошо известно, что препараты антител, селективно взаимодействующих с раковыми клетками, могут применяться для таргетной противоопухолевой иммунотерапии.

Ранее нами была получена панель из шести В-клеточных гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к индуцируемой и конститутивной формам БТШ70 человека, направленные к раз-

Адрес для переписки:

Овсяникова Ольга Викторовна
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
119991, Россия, Москва, Ленинские горы, 1.
Тел.: 8 (495) 330-40-11.
E-mail: olgaovsyanickova@yandex.ru

Address for correspondence:

Olga V. Ovsyanikova
Lomonosov Moscow State University
1 Leninskie Gory
Moscow
119991 Russian Federation
Phone: +7 (495) 330-40-11.
E-mail: olgaovsyanickova@yandex.ru

Образец цитирования:

О.В. Овсяникова, О.А. Шустова, М.В. Гречихина,
А.М. Сапожников «Проточно-цитометрический
анализ взаимодействия моноклональных антител
к различным эпитопам молекулы БТШ70
с внутриклеточными и мембрано-ассоциированными
формами этого протеина» // Медицинская
иммунология, 2024. Т. 26, № 5. С. 905-912.
doi: 10.15789/1563-0625-FCA-16716

© Овсяникова О.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Ovsyanikova, O.A. Shustova, M.V. Grechikhina,
A.M. Sapozhnikov "Flow cytometric analysis of the interaction
of monoclonal antibodies to various epitopes of the HSP70
molecule with intracellular and membrane-associated forms
of this protein", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 5, pp. 905-912.
doi: 10.15789/1563-0625-FCA-16716

© Ovsyanikova O.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-FCA-16716

личным эпитомам этой молекулы. Существенно, что три разновидности гибридом из этой панели, продуцируют антитела со специфичностью к сайтами связывания на С-концевом домене молекулы БТШ70, а вторая тройка моноклонов антител была специфична к эпитомам на N-концевом домене БТШ70, в то время как практически все известные коммерческие антитела взаимодействуют только с С-концевыми фрагментами БТШ70. В данной работе мы провели сравнительное исследование связывания полученных антител с этими протеинами, локализующимися в разных типах клеток как во внутриклеточном пространстве, так и на клеточной поверхности.

Полученные результаты позволяют рассматривать выявленные разновидности моноклональных антител, наиболее эффективно распознающих поверхностные БТШ70, как перспективную основу для создания новых препаратов для противоопухолевой иммунотерапии.

Ключевые слова: белки теплового шока, БТШ70, моноклональные антитела, противоопухолевая иммунотерапия, линии опухолевых клеток, проточно-цитометрический анализ

FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS OF THE INTERACTION OF MONOCLONAL ANTIBODIES TO VARIOUS EPITOPES OF THE HSP70 MOLECULE WITH INTRACELLULAR AND MEMBRANE-ASSOCIATED FORMS OF THIS PROTEIN

Ovsyanikova O.V.^{a,b}, Shustova O.A.^a, Grechikhina M.V.^a, Sapozhnikov A.M.^a

^a Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Currently, a large amount of data has demonstrated that many types of tumor cells, in contrast to their non-transformed forms, are characterized by the translocation of intracellular heat shock proteins 70 kDa (HSP70) to the surface of the plasma membrane. This made it possible to classify HSP70 exposed on the cell surface as a tumor-associated antigen and was the basis for searching the opportunities for the practical use of this phenomenon in clinical oncology. A significant argument in favor of the prospects of such studies was the discovered ability of HSP70, present on the surface of target cells, to enhance the cytotoxic activity of NK cells. In this regard, the work of many research groups is devoted to developing approaches to increasing the level of membrane-associated HSP70 in tumor tissues. At the same time, given the presence of such proteins on the surface of many types of tumor cells, the use of monoclonal antibodies that interact with HSP70 molecules for antitumor therapy can be considered as one of the promising approaches. It is well known that antibody preparations that selectively interact with cancer cells can be used for targeted antitumor immunotherapy. Previously, we obtained a panel of six B cell hybridomas producing monoclonal antibodies to the inducible and constitutive forms of human HSP70, directed to various epitopes of this molecule. It is significant that three varieties of hybridomas produced antibodies with specificity for binding sites on the C-terminal domain of the HSP70 molecule, and the second trio of monoclonal antibodies were specific to epitopes on the N-terminal domain of HSP70, while almost all known commercial antibodies interact only with C-terminal fragments of HSP70. In this work, we conducted a comparative study of the binding of the obtained antibodies to these proteins localized in different types of cells, both in the intracellular space and on the cell surface.

The results obtained allow us to consider the identified varieties of monoclonal antibodies that most effectively recognize surface HSP70 as a promising basis for the creation of new drugs for antitumor immunotherapy.

Keywords: heat shock proteins, HSP70, monoclonal antibodies, antitumor immunotherapy, tumor cell lines, flow cytometric analysis

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-15-00472).

Введение

Белки теплового шока 70 кДа (БТШ70) принадлежат к большому семейству стресс-индуцируемых протеинов (белков теплового шока, БТШ). Одной из основных функций данных молекул является защита внутриклеточных протеинов от повреждающих воздействий стрессирующих факторов различной природы [6]. Наряду с этим, БТШ играют важную роль в жизнедеятельности клеток в нормальных физиологических условиях, взаимодействуя с широким спектром внутриклеточных протеинов и выполняя вспомогательные, так называемые шаперонные, функции. Указанные функции БТШ реализуются во внутриклеточном пространстве, однако в ряде случаев эти протеины обнаруживаются также на клеточной поверхности и во внеклеточной среде. Такая необычная локализация наиболее характерна для БТШ70, являющихся одними из основных представителей семейства БТШ. В частности, БТШ70 обнаруживают на поверхности опухолевых и вирус-инфицированных клеток [4, 5, 11]. В наших предыдущих исследованиях было продемонстрировано, что процессы транслокации БТШ70 на клеточную поверхность наблюдаются в культурах линий опухолевых лимфоидных клеток [7]. Установлено, что транспорт БТШ70 на клеточную поверхность осуществляется с помощью неклассического, аппарат Гольджи независимого механизма. Было также обнаружено, что транслокация БТШ70 на клеточную поверхность усиливается на заключительных этапах апоптоза и направлена, вероятно, на стабилизацию мембраны погибающих клеток [8]. Наряду с этим, наши данные свидетельствовали о том, что включение БТШ70 в состав плазматической мембраны может быть связано с необходимостью поддержания ионного гомеостаза опухолевых клеток [9].

Феномен экспрессии БТШ70 на поверхности опухолевых клеток явился поводом для изучения не только механизмов этого процесса, но и для поиска возможностей практического использования данного явления в клинической онкологии. Отсутствие БТШ70 на поверхности нормальных клеток свидетельствует об уникальности этих протеинов, и локализацию их на поверхности плазматической мембраны, можно рассматривать в качестве опухоли-ассоциированного маркера. Принимая во внимание активизирующее действие поверхностных БТШ70 на цитотоксическую активность НК-клеток по отношению к таким клеткам-мишеням [5, 10],

один из предложенных подходов основан на разработке препаратов, стимулирующих транслокацию цитоплазматических БТШ70 на поверхность раковых клеток. Однако наиболее привлекательным и перспективным подходом, на наш взгляд, является использование для противоопухолевой иммунотерапии моноклональных антител, эффективно взаимодействующих с БТШ70, представленными на поверхности опухолевых клеток. Хорошо известно, что препараты антител, селективно взаимодействующих с раковыми клетками, могут применяться для таргетной противоопухолевой иммунотерапии [1, 2].

Ранее нами была получена панель из шести В-клеточных гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к индуцируемой и конститутивной формам БТШ70 человека, направленным к различным эпитопам этой молекулы. Для расширения спектра аналитических возможностей создаваемой панели гибридом мы были заинтересованы в получении продуцентов моноклональных антител, направленных как к С-, так и к N-концевым участкам молекулы БТШ70, поскольку практически все известные коммерческие антитела взаимодействуют только с С-концевыми фрагментами БТШ70. В результате, нами были получены три разновидности гибридом, продуцирующие антитела с сайтами связывания на С-концевом домене молекулы БТШ70 (2E4, 4F11, 2F3), и вторая тройка моноклонов антител (6G2, 2E5, 3C5), направленных к эпитопам на N-концевом домене БТШ70 [3]. В данной работе мы с помощью метода проточной цитометрии провели сравнительное исследование связывания полученных антител с этими протеинами, локализующимися в разных типах клеток как во внутриклеточном пространстве, так и на клеточной поверхности.

Материалы и методы

В работе использовались опухолевые клетки человека: клеточные линии К-562 – хроническая миелогенная лейкемия; U-937 – гистиоцитарная лимфома. Клетки культивировались в культуральных флаконах (25 см², Costar, США) в питательной среде RPMI 1640 (Flow Laboratories, Великобритания), содержащей 10% фетальной сыворотки плода тельца (FCS), 50 мкг/мл стрептомицина (ОАО «Синтез», Россия) и 50 мкг/мл пенициллина (ПАО «Биосинтез», Россия) в 5% CO₂ при +37 °С, или в условиях умеренного стресса – тепловой шок, +43 °С, 10 мин.

Образцы периферической крови были получены от здоровых доноров. Фракции нейтрофилов и мононуклеаров получали из образцов путем центрифугирования (400 g 30 мин) на ступенчатом градиенте плотности фиколла 1,114 и

1,077 г/мл соответственно. Клетки двукратно отмывали и ресуспендировали в растворе Хенкса для дальнейшего использования в опытах. Тепловой шок проводили путем нагревания пробирки с суспензией клеток на водяной бане при 43 °С в течение 10 мин.

Для определения содержания БТШ70 в нейтрофилах и мононуклеарах использовали специальный набор для анализа внутриклеточных протеинов (BD Cytofix/Cytoperm™, BD Biosciences, США) в соответствии с протоколом компании-производителя. Непрямое иммунофлуоресцентное окрашивание БТШ70 выполняли с помощью моноклональных антител, полученных от гибридом нашей панели (2E4, 4F11, 2F3, 6G2, 2E5, 3C5) и коммерческих антител BRM22 (Sigma, США) при 4 °С в течение 30 мин. В качестве вторых антител использовали флуоресцентномеченые Fab-фрагменты кроличьих антител к иммуноглобулинам мыши (Sigma, США). Средний уровень флуоресценции клеток измеряли с помощью метода проточной цитометрии.

Цитометрические измерения проводили на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson, США). В каждом образце анализировали не менее 10 000 событий. Обработку полученных результатов проводили с помощью программы CellQuest.

Результаты и обсуждение

Как было упомянуто выше, нами была получена панель из шести гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к БТШ70, направленные к различным эпитопам этой молекулы. Проведенные методом проточной цитофлуориметрии исследования обнаружили существенные различия между группами антител специфичных к С- или N-домену БТШ70 по окрашиванию внутриклеточного пула этих молекул в мононуклеарах и гранулоцитах периферической крови человека. Ранее для подобных измерений мы использовали коммерческие антитела BRM22 (Sigma, США), взаимодействующие с С-доменом как конститутивной, так и индуцируемой форм БТШ70, экспрессируемыми широким спектром биологических видов, включая человека. Поэтому в данную серию экспериментов мы включили эти антитела как хорошо охарактеризованный стандарт. Непрямое иммунофлуоресцентное окрашивание БТШ70 всеми разновидностями антител проводили с помощью специального набора для анализа внутриклеточных протеинов (BD Cytofix/Cytoperm™, BD Biosciences, США) в соответствии с протоколом компании-производителя. В качестве вторых антител использовали специфичные к иммуноглобулинам мыши Fab-фрагменты кроличьих антител, конъюгирован-

ных с флуорохромом ФИТЦ (Sigma, США). Проточно-цитометрические измерения проводили на приборе FACScan (Becton Dickinson, США).

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования разработанной нами панели антител для анализа уровня экспрессии БТШ70 лейкоцитами человека с помощью метода проточной цитометрии. При этом оказалось, что все протестированные моноклоны различаются по степени распознавания внутриклеточных БТШ70. Особенно существенные различия по окрашиванию БТШ70, экспрессируемых мононуклеарами и гранулоцитами периферической крови человека, наблюдались между группами антител, специфичных к С- и N-домену этого протеина. Так, уровень флуоресценции этих клеток, окрашенных антителами 2E4, 2F3 и 2E11 (специфичными к С-домену БТШ70) превышал таковой для клеток, окрашенных моноклонами 6G2, 2E5 и 3C5 (специфичными к N-домену БТШ70), в среднем более чем в шесть раз (табл. 1).

Изложенные результаты проведенного тестирования полученной нами панели моноклональных антител демонстрируют не только возможность применения этих моноклонов для анализа внутриклеточного содержания БТШ70 в лейкоцитах человека. Эти данные свидетельствуют также о том, что все шесть моноклонов имеют различные сайты связывания в молекуле БТШ70, поскольку выявляемый ими уровень экспрессии БТШ70 в одних и тех же образцах клеток достоверно различается. Очевидно, что указанные различия свойств антител могут позволить получить дополнительную информацию о состоянии пула внутриклеточных БТШ70, т. к. экспонирование тех или иных сайтов на поверхности молекулы протеина тесно связано с ее конформационными изменениями, с процессами агрегации и с взаимодействиями с другими внутриклеточными молекулами.

Проведенные исследования обнаружили также существенные различия между группами антител специфичных к С- или N-домену БТШ70 по окрашиванию внутриклеточного пула этих молекул у двух протестированных линий опухолевых клеток (K562, U937) человека. Так, уровень флуоресценции клеток, окрашенных антителами 2E4, 2F3 и 2E11 (специфичными к С-домену БТШ70), существенно варьировал и превышал таковой для клеток, окрашенных моноклонами 6G2, 2E5 и 3C5 (специфичными к N-домену БТШ70) (рис. 1). При этом оказалось, что выявляемые тестируемыми антителами уровни экспрессии БТШ70 в одних и тех же образцах клеток достоверно отличались, что иллюстрирует на-

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОТОЧНО-ЦИТОМЕТРИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПАНЕЛИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К БТШ70 ДЛЯ АНАЛИЗА СОДЕРЖАНИЯ ЭТИХ ПРОТЕИНОВ В МОНОНУКЛЕАРАХ И НЕЙТРОФИЛАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

TABLE 1. RESULTS OF FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS OF THE POSSIBILITY OF USING THE PANEL OF MONOCLONAL ANTIBODIES TO HSP70 TO DETECT THE CONTENT OF THESE PROTEINS IN MONONUCLEAR CELLS AND NEUTROPHILS OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD

Моноклон Monoclonе	Относительный уровень флуоресценции Relative fluorescence level			
	Донор 1 Donor 1		Донор 2 Donor 2	
	Мононуклеары Mononuclears	Нейтрофилы Neutrophils	Мононуклеары Mononuclears	Нейтрофилы Neutrophils
BRM22	27,2	9,9	13,0	6,5
2E4	116,2	129,5	51,6	98,2
2F3	423,0	588,1	118,5	485,4
2E11	91,7	193,9	48,5	166,4
6G2	5,0	15,4	5,6	14,9
2E5	8,2	11,7	7,6	28,7
3C5	8,0	21,4	9,6	17,9

правленность моноклонов к различным эпитопам молекулы-мишени.

Но наиболее интересные результаты были получены при использовании анализируемой панели антител для детекции БТШ70, экспонированных на клеточной поверхности. Известно, что необычная поверхностная локализация этих протеинов, не свойственная нормальным клет-

кам, может наблюдаться в разных типах опухолевой ткани, в том числе у лимфоидных клеток [6]. Причем было показано, что для выявления мембрано-ассоциированных БТШ70 необходимы антитела, направленные к определенным участкам данной молекулы [9]. Результаты проведенных нами экспериментов свидетельствовали о больших различиях между моноклонами из ана-

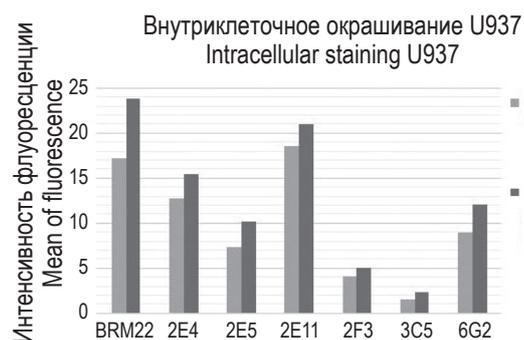


Рисунок 1. Результаты проточно-цитометрического анализа внутриклеточного окрашивания двух линий опухолевых клеток тестируемой панелью моноклональных антител к БТШ70 и коммерческими антителами BRM22 в нормальных условиях и после воздействия на клетки теплового шока (43 °С, 10 мин)

Примечание. На шкале ординат отложены зарегистрированные средние уровни флуоресценции окрашенных клеток за вычетом уровня флуоресценции в контроле (окрашивание только вторыми антителами).

Figure 1. Results of flow cytometric analysis of intracellular staining of two tumor cell lines with a tested panel of monoclonal antibodies to HSP70 and commercial antibodies BRM22 under normal conditions and after exposure of cells to heat shock (43 °C, 10 min)

Note. The ordinate scale shows the recorded average fluorescence levels of stained cells minus the fluorescence level in the control (staining with second antibodies only).

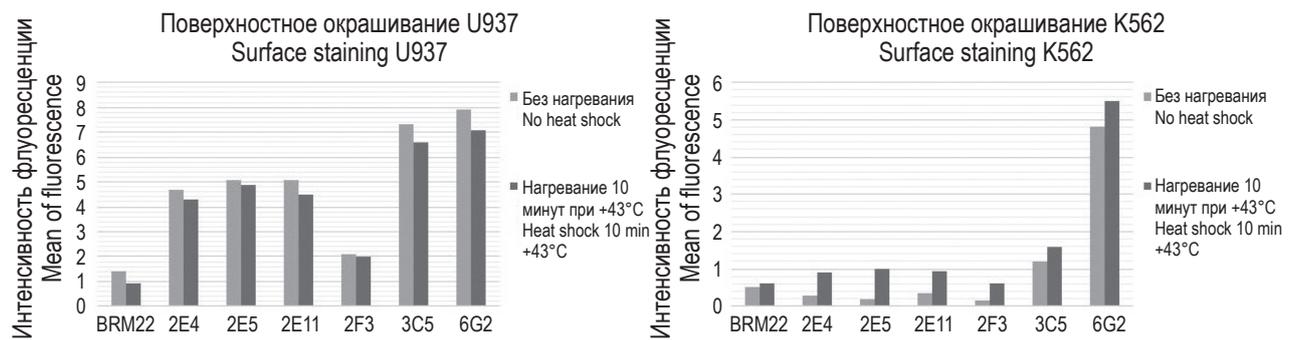


Рисунок 2. Результаты проточно-цитометрического анализа окрашивания поверхности двух линий опухолевых клеток тестируемой панелью моноклональных антител к БТШ70 и коммерческими антителами BRM22 в нормальных условиях и после воздействия на клетки теплового шока (43 °С, 10 мин)

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Results of flow cytometric analysis of surface staining of two tumor cell lines with a tested panel of monoclonal antibodies to HSP70 and commercial BRM22 antibodies under normal conditions and after exposure of cells to heat shock (43 °C, 10 min)

Note. As for Figure 1.

лизируемой панели антител по их способности связываться с БТШ70, присутствующими на поверхности опухолевых клеток K562 и U937. Оказалось, что из числа шести полученных нами разновидностей антител, два моноклона (6G2 и 3C5) характеризуются значительно более высокой чувствительностью к мембрано-ассоциированному БТШ70 по сравнению не только с остальными моноклонами из нашей панели, но и со всеми протестированными нами коммерческими анти-БТШ70 антителами (рис. 2).

Закключение

Представленные данные продемонстрировали существенные различия в связывании шести разновидностей полученных нами монокло-

нальных антител с молекулами БТШ70, локализующимися во внутриклеточном пространстве и на поверхности нормальных и опухолевых клеток. Наиболее важным результатом данного исследования явилось выявление в составе анализируемой панели антител, обладающих способностью к детекции поверхностных БТШ70 с чувствительностью, значительно превышающей таковую для остальных разновидностей антител из состава этой панели и для широкого спектра протестированных нами коммерческих анти-БТШ70 антител. Указанные результаты позволяют рассматривать выявленные разновидности моноклональных антител, наиболее эффективно распознающих поверхностные БТШ70, как перспективную основу для создания новых препаратов для противоопухолевой иммунотерапии.

Список литературы / References

1. Abès R., Teillaud J.L. Modulation of tumor immunity by therapeutic monoclonal antibodies. *Cancer Metastasis Rev.*, 2011, Vol. 30, no. 1, pp. 111-124.
2. Bodey B., Siegel S.E., Kaiser H.E. Human cancer detection and immunotherapy with conjugated and non-conjugated monoclonal antibodies. *Anticancer Res.*, 1996, Vol. 16, no. 2, pp. 661-674.
3. Boyko A.A., Vetchinin S.S., Sapozhnikov A.M., Kovalenko E.I. Changes in the heat shock 70 kDa protein level in human neutrophils induced by heat shock. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2014, Vol. 40, no. 5, pp. 488-498.
4. Moseley P.L. Heat shock proteins and the inflammatory response. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1998, Vol. 856, pp. 206-213.
5. Multhoff G., Botzler C., Jennen L., Schmidt J., Ellwart J., Issels R. Heat shock protein 72 on tumor cells: a recognition structure for natural killer cells. *J. Immunol.*, 1997, Vol. 158, pp. 4341-4350.
6. Parsell D.A., Kowal A.S., Singer M.A., Lindquist S. Protein disaggregation mediated by heat-shock protein Hsp104. *Nature*, 1994, Vol. 372, no. 6505, pp. 475-478.
7. Sapozhnikov A.M., Ponomarev E.D., Tarasenko T.N., Telford G.W. Spontaneous apoptosis and expression of cell surface heat shock proteins in cultured EL-4 lymphoma cells. *Cell Prolif.*, 1999, Vol. 32, pp. 363-378.

8. Sapozhnikov A.M., Gusarova G.A., Ponomarev E.D., Telford W.G. Translocation of cytoplasmic HSP70 onto the surface of EL-4 cells during apoptosis. *Cell Prolif.*, 2002, Vol. 35, pp. 193-206.
9. Sapozhnikov A.M., Baev D.V., Gusarova G.A. Involvement of heat shock proteins in the phenomenon of cell protection against apoptosis mediated by inhibitors of plasma membrane chlorine channels. *Dokl. Biol. Sci.*, 2002, Vol. 384, pp. 206-208.
10. Stangl S., Gehrmann M., Riegger J., Kuhs K., Riederer I., Sievert W., Hube K., Mocikat R., Dressel R., Kremmer E., Pockley A.G., Friedrich L., Vigh L., Skerra A., Multhoff G. Targeting membrane heat-shock protein 70 (Hsp70) on tumors by cmHsp70.1 antibody. *PNAS*, 2011, Vol. 108, pp. 733-738.
11. Stangl S., Tontcheva N., Sievert W., Shevtsov M., Niu M., Schmid T.E., Pigorsch S., Combs S.E., Haller B., Balermipas P., Rödel F., Rödel C., Fokas E., Krause M., Linge A., Lohaus F., Baumann M., Tinhofer I., Budach V., Stuschke M., Grosu A.L., Abdollahi A., Debus J., Belka C., Maihöfer C., Mönnich D., Zips D., Multhoff G. Heat shock protein 70 and tumor-infiltrating NK cells as prognostic indicators for patients with squamous cell carcinoma of the head and neck after radiochemotherapy: A multicentre retrospective study of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG). *Int. J. Cancer*, 2018, Vol. 142, no. 9, pp. 1911-1925.

Авторы:

Овсяникова О.В. — аспирант ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; инженер-исследователь отдела иммунологии ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Шустова О.А. — младший научный сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Authors:

Ovsyanikova O.V., Postgraduate student, Lomonosov Moscow State University; Research Engineer, Department of Immunology, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation

Shustova O.A., Junior Research Associate, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation

Гречихина М.В. — младший научный сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Grechikhina M.V., Junior Research Associate, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation

Сапожников А.М. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Sapozhnikov A.M., PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation

Поступила 01.04.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 01.04.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024