

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ STAT1 В ПОЗИЦИИ
SER727 НА ИНФИЛЬТРАЦИЮ CD8+ Т-КЛЕТОК В ОПУХОЛИ
ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

Арсентьев К. А. ¹,
Кузьмин Д. А. ^{1,2},
Южалин А. Е. ¹

¹ Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия

² Институт экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий,
Приволжский научно-исследовательский медицинский университет, Нижний
Новгород, Россия

**INVESTIGATING THE INFLUENCE OF STAT1 PHOSPHORYLATION
AT SER727 ON CD8+ T-CELL INFILTRATION IN CENTRAL NERVOUS
SYSTEM TUMORS**

Arsentiev K. A. ^a,
Kuzmin D. A. ^{a, b},
Yuzhalin A. E. ^a

^a Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia

^b Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies, Privolzhsky
Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

Резюме

Фосфорилирование белка STAT1 по серину 727 (pSTAT1_S727) представляет собой ключевое посттрансляционное изменение, функция которого в противоопухолевом иммунном ответе при злокачественных опухолях центральной нервной системы (ОЦНС) остается недостаточно изученной. Данное исследование было направлено на определение роли pSTAT1_S727 в иммунной модуляции при наиболее агрессивной опухоли мозга – глиобластоме. Результаты работы продемонстрировали, что фосфорилирование STAT1_S727 тесно связано с активацией системы противоопухолевого иммунитета. Была выявлена положительная корреляция уровня pSTAT1_S727 с экспрессией генов, кодирующих компоненты главного комплекса гистосовместимости I класса (МНС-I), и других генов, вовлеченных в процесс презентации опухолевых антигенов. Это указывает на то, что pSTAT1_S727 играет важную роль в усилении способности клеток глиобластомы к презентации антигенов, что является критически важным этапом для распознавания опухоли иммунной системой. Более того, высокий уровень pSTAT1_S727 статистически значимо коррелировал с увеличением интенсивности инфильтрации опухоли цитотоксическими CD8+ Т-лимфоцитами. Эти наблюдения были последовательно подтверждены как на данных, полученных от пациентов с глиобластомой, так и в экспериментальных мышинных моделях, что подчеркивает значимость выявленной взаимосвязи. Таким образом, фосфорилирование STAT1_S727 идентифицировано как важный молекулярный фактор, способствующий инициации иммунного распознавания глиобластомы через усиление антигенной презентации и привлечение эффекторных Т-лимфоцитов. Однако, несмотря на эту провоспалительную роль, анализ выживаемости пациентов не выявил ассоциации высокого уровня pSTAT1_S727 с улучшением общей продолжительности жизни. Это отсутствие клинического преимущества, вероятно, объясняется глубокой иммуносупрессивной средой, характерной для глиобластомы, где инфильтрирующие Т-клетки часто находятся в состоянии функционального истощения, а опухоль активно использует механизмы ускользания от иммунного ответа. Следовательно, активация сигнального пути pSTAT1_S727, хотя и необходима для запуска иммунного ответа, сама по себе недостаточна для преодоления иммуносупрессии и достижения значимого терапевтического эффекта. Полученные данные подчеркивают необходимость комбинированных стратегий, которые одновременно усиливают инициацию иммунного ответа (например, через активацию STAT1) и блокируют механизмы Т-клеточного истощения в микроокружении опухоли.

Ключевые слова: глиобластома, метастазы, STAT1, опухолевое микроокружение, инфильтрация.

Abstract

Phosphorylation of the STAT1 protein at serine 727 (pSTAT1_S727) is a key post-translational modification whose function in the anti-tumor immune response within malignant central nervous system (CNS) tumors remains insufficiently understood. This study aimed to determine the role of pSTAT1_S727 in immune modulation in the most aggressive brain tumor – glioblastoma. The results demonstrated that STAT1_S727 phosphorylation is closely associated with the activation of the anti-tumor immune system. A positive correlation was found between pSTAT1_S727 levels and the expression of genes encoding components of the major histocompatibility complex class I (MHC-I), as well as other genes involved in tumor antigen presentation. This indicates that pSTAT1_S727 plays an important role in enhancing the antigen-presenting capacity of glioblastoma cells, a critical step for tumor recognition by the immune system. Furthermore, high levels of pSTAT1_S727 were statistically significantly correlated with increased intensity of tumor infiltration by cytotoxic CD8⁺ T-cells. These observations were consistently confirmed both in data from glioblastoma patients and in experimental mouse models, underscoring the significance of the identified relationship. Thus, STAT1_S727 phosphorylation has been identified as an important molecular factor promoting the initiation of immune recognition of glioblastoma by enhancing antigen presentation and recruiting effector T-cells. However, despite this pro-inflammatory role, survival analysis of patients did not reveal an association between high pSTAT1_S727 levels and improved overall survival. This lack of clinical benefit is likely explained by the profoundly immunosuppressive environment characteristic of glioblastoma, where infiltrating T-cells are often functionally exhausted, and the tumor actively employs immune evasion mechanisms. Consequently, while activation of the pSTAT1_S727 signaling pathway is necessary for initiating an immune response, it is insufficient on its own to overcome immunosuppression and achieve a significant therapeutic effect. The obtained data highlight the need for combined strategies that simultaneously enhance the initiation of the immune response (e.g., through STAT1 activation) and block mechanisms of T-cell exhaustion within the tumor microenvironment.

Keywords: glioblastoma, metastases, STAT1, tumor microenvironment, T-cell infiltration.

1 Введение

Злокачественные опухоли центральной нервной системы (ОЦНС) характеризуются высокой агрессивностью, слабым ответом на химиотерапию и лучевую терапию, а также практически не подвержены иммунотерапии и другим видам таргетной терапии [1, 2]. Прогноз пациентов с ОЦНС остается крайне неблагоприятным: общая выживаемость пациентов с симптоматическими ОЦНС редко превышает 1 год с момента постановки диагноза. В 2022 году в мире было зарегистрировано около 322,000 новых случаев опухолей ОЦНС, при этом прогнозы указывают на увеличение этого показателя до 474,000 новых случаев к 2045 году вследствие старения и роста населения [3].

Среди первичных ОЦНС, доброкачественными являются более 70% выявленных новообразований [4]. Основные разновидности злокачественных ОЦНС включают в себя глиомы, олигодендромы, эпендимомы, менингиомы, а также метастазы других первичных опухолей в ЦНС [4, 5]. Последние наиболее широко распространены, и выявляются примерно в 10 раз чаще первичных ОЦНС. Наиболее часто метастазируют в головной мозг меланома, рак молочной железы, рак легкого, и колоректальный рак [1].

Оперативное вмешательство для лечения злокачественных ОЦНС способно улучшить прогноз и облегчить симптомы болезни. Несмотря на это, для многих пациентов представляется невозможным безопасная резекция (полная или частичная) опухоли вследствие ряда факторов, среди которых (i) слишком крупный размер опухоли, (ii) тяжелые сопутствующие заболевания, (iii) поражение жизненно важных структур головного мозга, (iv) диффузное прорастание опухолевых клеток по всему мозгу, что делает хирургическое удаление невозможным, (v) множественные метастазы в разных регионах мозга, и другие [6, 7]. Химиотерапия темозоломидом даже в сочетании с лучевой терапией редко приводит к увеличению общей выживаемости более чем на 2-3 месяца [8]. Таким образом, существует острая необходимость поиска новых эффективных терапевтических подходов для лечения злокачественных ОЦНС.

Адаптивный иммунный ответ у пациентов с ОЦНС имеет ряд уникальных особенностей. Во-первых, гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) обеспечивает головному мозгу т.н. иммунную привилегированность, которая заключается в ограниченной инфильтрации иммунными клетками этого органа, даже при патологии [9, 10]. Во-вторых, злокачественные ОЦНС в подавляющем большинстве характеризуются высоким уровнем иммуносупрессии, что подавляет функцию клеток-эффекторов, таких как CD8⁺ Т-клетки [11]. В третьих, опухолевые клетки ЦНС зачастую имеют сниженную экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (МНС-I), а также транскрипционных факторов, ответственных за экспрессию МНС-I (таких как например, STAT1, в особенности фосфорилированный в позиции S727), что затрудняет эффективное представление опухолевых антигенов Т-клеткам [12, 13]. В совокупности, эти

45 факторы существенно ограничивают разработку и внедрение
 46 иммунотерапевтических методов лечения злокачественных ОЦНС. Для
 47 решения этой проблемы необходимо более глубокое понимание
 48 онкоиммунологии ОЦНС для выявления механизмов привлечения
 49 иммунных клеток-эффекторов в головной мозг с их последующей активацией.

50 Целью настоящего исследования был анализ инфильтрации
 51 злокачественных ОЦНС CD8⁺ Т-клетками в эксперименте *in vivo*, а также
 52 оценка экспрессии фосфорилированного (активированного) STAT1 в позиции
 53 S727 опухолевыми клетками. Кроме того, оценивалась корреляция между
 54 экспрессией МНС-I в клетках ОЦНС и инфильтрацией CD8⁺ Т-клетками у
 55 пациентов с ОЦНС.

56 2 Материалы и методы

57 *Мышиная модель ОЦНС*

58 Для постановки мышинной модели ОЦНС использовали лабораторных
 59 мышей линии BALB/C. Мыши были распределены по клеткам (5 мышей на
 60 клетку) с высланной деревянной щепой и имели неограниченный (*ad libitum*)
 61 доступ к воде и пище. В течение эксперимента поддерживались стандартные
 62 условия температурного режима (24 ± 1 °С), относительной влажности ($55 \pm$
 63 10%). В помещении поддерживался 12-часовой цикл смены света и темноты.
 64 Контроль состояния здоровья всех лабораторных животных проводили
 65 ежедневно. Протокол исследования был одобрен локальными этическими
 66 комитетами АНОО ВО «Университет «Сириус» (протокол заседания № 12 от
 67 17.11.2025), а также Онкологического центра им. М.Д. Андерсона (протокол
 68 00000752). Исследование было выполнено в строгом соответствии с
 69 Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в
 70 экспериментальных и других научных целях. В качестве модели ОЦНС
 71 использовали интракаротидную инъекцию опухолевых клеток T11 по
 72 протоколу, описанному ранее [14]. При наблюдении выраженных симптомов
 73 нейропатии ЦНС, животные были подвергнуты гуманной эвтаназии методом
 74 цервикальной дислокации, после чего головной мозг эксплантировался с
 75 последующей фиксацией в нейтральном забуференном 10% формалине (4%
 76 формальдегида). Длительность фиксации поддерживали в пределах 24 часов
 77 при комнатной температуре, после чего образцы инкубировали в 70% этаноле
 78 в течение 48 часов при 4°С.

79 *Иммуногистохимия*

80 Гистологический материал формировали в парафиновый блок, после
 81 чего с помощью микротомы выполняли тонкие парафиновые срезы толщиной
 82 4 мкм, которые монтировали на предметные стекла. Перед
 83 иммуноокрашиванием парафин удаляли в нескольких последовательных
 84 этапах обработки ксилолом и спиртами с постепенным снижением
 85 концентрации спирта, затем проводили регидратацию ткани в фосфатно-
 86 солевом буфере и воде (однократно). Для восстановления антигенной
 87 активности применяли термическую демаскировку в цитратном буфере pH 6,0

88 при 99°C в течение 30 минут, после чего срезы охлаждали до комнатной
89 температуры и промывали в фосфатно-солевом буфере трехкратно.

90 Для предотвращения связывания эндогенной пероксидазы проводили
91 блокировку пероксидазной активности 3% перекисью водорода с инкубацией
92 10 минут и последующей трехкратной промывкой в фосфатно-солевом
93 буфере. Далее наносили первичные антитела против pSTAT1-S727 (AF3299,
94 Affinity) и CD8 (AF5126, Affinity), разведенные в концентрации согласно
95 протоколу производителя, и инкубировали при 4°C в течение 18 часов в
96 камере с высокой влажностью.

97 После трехкратного промывания фосфатно-солевым буфером наносили
98 вторичные антитела, сопряженные со пероксидазой хрена, с последующей
99 инкубацией в течении 30 минут. Для визуализации связывания антител
100 применяли хромоген 3,3'-диаминобензидин (DAВ). Проявку DAB выполняли
101 10 минут, контролируя интенсивность окрашивания под микроскопом.

102 Затем ткани окрашивали гематоксилином для контрастирования
103 клеточных ядер, промывали в проточной воде, сушили и фиксировали под
104 покровным стеклом с помощью монтажной среды.

105 *Базы данных*

106 В исследовании использовались данные набора Clinical Proteomic Tumor
107 Analysis Consortium (СРТАС, глиобластома, N=99) а также данные
108 оригинального исследования GSE52604 (метастазы рака молочной железы в
109 головной мозг, N=35).

110 *Анализ инфильтрации CD8+ T-клеток*

111 Библиотек SciPy (версия 1.16.1) для языка Python (версия 3.12.11) была
112 использована для проведения корреляционного анализа Пирсона/Спирмена (в
113 зависимости от результатов проверки на нормальность распределения
114 методом Шапиро-Уилка) между экспрессией классических генов МНС-I
115 (*HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*) и инфильтрацией Т-клетками в злокачественных
116 ОЦНС. В качестве маркера инфильтрации Т-клеток использовались данные
117 экспрессии генной сигнатуры (усредненное значение экспрессии): *GZMA*,
118 *GZMB*, *PRF1*, *IFNG*, *EOMES*, *CD8A* [15].

119 *Анализ выживаемости*

120 Группы с высоким и низким уровнем экспрессии МНС-I (среднее
121 значение экспрессии генов *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*) и pSTAT1_S727
122 определялись путем деления выборки на две группы по медиане. Общая
123 продолжительность жизни измерялась с даты постановки диагноза до даты
124 смерти или последнего наблюдения. Показатели выживаемости оценивались
125 по методу Каплана-Майера и сравнивались между группами с помощью
126 логарифмического рангового критерия (лог-ранк тест) и теста Гехана-
127 Бреслоу-Уилкоксона, реализованных с помощью библиотеки lifelines (версия
128 0.30.0). Логарифмическая статистика оценивает групповые различия
129 одинаково на протяжении всего времени наблюдения, в то время как
130 статистика Уилкоксона взвешивает ранние события.

131

132 *Анализ дифференциальной экспрессии генов*

133 Для сравнения экспрессии генов (Таблица 1) выборка СРТАС
 134 разбивалась на тертили. При построении тепловой карты, реализованной в
 135 matplotlib (версия 3.10.0), значения экспрессии (Z-score) для каждого гена в
 136 группе (низкий и высокий уровень pSTAT1_S727) усреднялись. Сравнение
 137 уровня экспрессии в краевых тертилях проводилась с использованием U
 138 критерия Манна-Уитни.

139 *Обработка и анализ изображений*

140 Окрашенные гистологические срезы анализировались с помощью
 141 стереомикроскопа Olympus SZ61. Подсчет клеток осуществлялся с помощью
 142 механического счетчика клеток.

143 *Статистический анализ*

144 Статистический анализ проводился с использованием модуля scipy.stats
 145 библиотеки SciPy для языка программирования Python. Все тесты были
 146 двусторонними, значение P менее 0,05 считалось статистически значимым.

147 **4 Результаты**

148 *Экспрессия МНС-I коррелирует с инфильтрацией CD8+ Т-клетками в*
 149 *ОЦНС*

150 Поскольку экспрессия МНС-I является необходимым условием
 151 для инфильтрации CD8+ Т-клеток в опухоль, а также для антиген-
 152 специфического распознавания и уничтожения злокачественных клеток [16],
 153 мы проверили связь между экспрессией МНС-I и инфильтрацией в
 154 исследуемых наборах данных. Анализ данных мРНК-секвенирования
 155 пациентов со злокачественными опухолями ЦНС (N = 99 для глиобластомы и
 156 N = 35 для метастазов в мозг) установил положительную корреляцию между
 157 экспрессией антигенов *HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-C* и экспрессией б-генной
 158 сигнатуры, характеризующей инфильтрацию патологической ткани
 159 цитотоксическими CD8+ Т-лимфоцитами (коэффициент Спирмена) (Рисунок
 160 1). Так, для *HLA-A* значения r составили 0,38 и 0,46 для глиобластомы и
 161 церебральных метастазов, соответственно. Для *HLA-B*, показатель r составил
 162 0,5 и 0,45 для глиобластомы и метастазов в мозг, соответственно. Наконец,
 163 коэффициент корреляции для *HLA-C* составил 0,46 и 0,34 для первичных и
 164 метастатических ОЦНС, соответственно (Рисунок 1А, В).

165 *Фосфорилирование STAT1_S727 ассоциировано с повышением*
 166 *экспрессии МНС-I и инфильтрацией Т-клетками у пациентов со*
 167 *злокачественными ОЦНС, но не является ключевым фактором,*
 168 *определяющим выживаемость*

169 Ранее нами была показана ключевая роль STAT1, фосфорилированного
 170 в позиции серина 727 (pSTAT1_S727), в регуляции МНС-I в злокачественных
 171 клетках ОЦНС.

172 Биоинформатический анализ базы данных СРТАС (глиобластома)
 173 выявил достоверные положительные корреляции между уровнями
 174 pSTAT1_S727 и экспрессией классических генов *HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-C* в
 175 опухолевых тканях (Рисунок 2А).

176 Несмотря на установленную связь pSTAT1_S727 с иммунным ответом,
 177 данный маркер не оказал значимого влияния на общую выживаемость
 178 пациентов с глиобластомой. Так, не было обнаружено значимых различий в
 179 выживаемости между группами с высоким и низким уровнем pSTAT1_S727
 180 (лог-ранк тест, $p = 0.574$) (Рисунок 2B). Аналогичным образом, анализ
 181 Каплана-Майера не выявил статистически значимых различий между
 182 группами пациентов с высоким и низким уровнем экспрессии генов МНС-I
 183 (лог-ранк тест, $p = 0.612$; тест Уилкоксона, $p = 0.218$) (Рисунок 2C). Стоит
 184 отметить, что на первых 400 днях наблюдения в группе с высокой экспрессией
 185 МНС-I наблюдалась тенденция к лучшей выживаемости, однако высокий
 186 уровень цензурирования данных (35 из 99 пациентов) не позволяет сделать
 187 однозначных выводов на этом временном отрезке.

188

189 *Фосфорилирование STAT1_S727 регулирует экспрессию генов МНС-I и*
 190 *антигенной презентации*

191 Для глубокого изучения влияния pSTAT1_S727 на транскриптомный
 192 профиль злокачественных ОЦНС мы сравнили группы с крайними (верхним и
 193 нижним) тертилями по уровню фосфорилирования STAT1_S727. В группе с
 194 высоким уровнем pSTAT1_S727 было выявлено значительное повышение
 195 экспрессии генов, критически важных для антигенной презентации (Рисунок
 196 3A), такие как гены МНС-I (классические: *HLA-A*, *-B*, *-C*; неклассические:
 197 *HLA-E*, *-F*), гены процессинга и загрузки антигена (компоненты
 198 иммунопротеасом: *PSMB8*, *PSMB9*, *PSME2*; гены TAP-комплекса: *TAP1*,
 199 *TAP2*), транскрипционные факторы: *IRF1*, *IRF9*, *NLRC5* и *STAT1*.

200 При этом было обнаружено значимое снижение экспрессии гена
 201 транскрипционного фактора *NFYA* и лиганда активации NK-клеток *ULBP3*.
 202 Пермутационный дисперсионный анализ также показал значимые различия в
 203 экспрессии исследуемых генов (Рисунок 3B) между группами (Permanova, $p <$
 204 0.01 , 9999 перестановок). Полный паттерн экспрессии этих генов среди всех
 205 трех тертилей наглядно демонстрирует зависимость от уровня pSTAT1_S727
 206 (Рисунок 3C).

207

208 *Фосфорилирование STAT1_S727 ассоциировано с повышенной*
 209 *инфильтрацией CD8+ Т-клеток в мышинной модели ОЦНС*

210 Для экспериментального подтверждения роли pSTAT1_S727 в
 211 инфильтрации CD8+ Т-клеток была использована мышинная модель
 212 злокачественных ОЦНС. Иммуногистохимический анализ показал
 213 гетерогенность уровня pSTAT1_S727 внутри опухолей, что позволило
 214 выделить в них области с высоким (High) и низким (Low) уровнем
 215 фосфорилирования (Рисунок 4A). Количественная оценка выявила, что в
 216 областях с высоким уровнем pSTAT1_S727 плотность инфильтрации CD8+ Т-
 217 клеток была достоверно выше, по сравнению с областями с низким уровнем
 218 фосфорилирования ($p < 0.01$; U критерий Манна-Уитни, $n = 6$) (Рисунок 4B).
 219 Этот результат экспериментально подтверждает выявленную нами

220 положительную связь между уровнем pSTAT1_S727 и иммуногенностью
221 ОЦНС в открытых наборах данных.

222 **5 Обсуждение результатов**

223 STAT1 является частью сигнального каскада Янус-киназ (JAK/STAT) и
224 известен своей ролью в опосредовании реакций на все типы интерферонов.
225 STAT1 регулирует различные клеточные процессы и активирует
226 противовирусные, противомикробные, а также противоопухолевые реакции
227 [17].

228 Фосфорилирование STAT1 по тирозину 701 (Y701) необходимо для
229 димеризации STAT1 и ядерной транслокации. Фосфорилирование по серину
230 727 (S727), опосредованное, например, циклин-зависимой киназой CDK8,
231 модулирует активность трансактивационного домена (TAD) STAT1 [18].
232 Ранее было показано, что фосфорилирование STAT1 по S727 способствует
233 повышению экспрессии МНС-I в ответ на гамма-интерферон при раке
234 эндометрия за счет активации транскрипции IRF1/NLRC5 [19].
235 Фосфорилирование S727 усиливает транскрипционную активность STAT1,
236 что приводит к привлечению коактиваторов, таких как CBP (CREB-binding
237 protein) и гистонацетилазы [20], и в конечном итоге может приводить к
238 повышению экспрессии HLA-связанных генов.

239 Основной циклин-зависимой киназой, напрямую активирующей STAT1
240 в ответ на гамма-интерферон, является CDK8. Помимо этого, ранее было
241 показано, что CDK5 действует как негативный регулятор пути
242 Stat1/NLRC5/МНС-I в метастазах головного мозга, подавляя
243 фосфорилирование Stat1 в позиции S727. Этот механизм реализуется
244 посредством фосфорилирования Irf2bp1 в позиции S66. Таким образом,
245 ингибирование CDK5 способно снимать этот блок, усиливая
246 противоопухолевый иммунный ответ [21].

247 С другой стороны, конститутивное фосфорилирование S727 CDK8
248 подавляет цитотоксичность НК-клеток, использующих МНС-I для
249 распознавания “своих” клеток. Примечательно, что мутация позиции S727
250 (Stat1-S727A), исключая возможность фосфорилирования, усиливает
251 цитотоксичность НК-клеток в отношении ряда опухолей (лейкемия, меланома
252 и рак молочной железы) за счет повышения экспрессии перфоририна и гранзима
253 В [22].

254 Белок STAT1 имеет две изоформы (STAT1 α и STAT1 β), образуемые в
255 ходе альтернативного сплайсинга. В β -изоформе отсутствуют 38 аминокислот
256 в С-концевом TAD домене, включая сайт фосфорилирования S727, что
257 приводит к отличной кинетике передачи сигналов по сравнению с α -
258 изоформой. Как было описано ранее, STAT1 имеет двухступенчатый характер
259 активации, заключающийся в последовательном фосфорилировании Y701 и
260 S727, который относится только к α -изоформе [23]. Сравнительный анализ
261 изоформ показал, что STAT1 β поддерживает устойчивую экспрессию генов за
262 счет длительного сохранения сигнала. Биохимические характеристики
263 выявили повышенный уровень фосфорилирования Y701 (до 32 ч) и

264 увеличенную способность STAT1 β связываться с ДНК, в отличие от быстрой
 265 деактивации STAT1 α (в течение 4 ч) [23]. Для рака яичника было показано,
 266 что β -изоформа STAT1 ассоциирована с повышенной инфильтрацией CD8 Т-
 267 клеток и демонстрирует отрицательную корреляцию с количеством M2-
 268 подобных опухоль-ассоциированных макрофагов [24]. Данные работы дают
 269 основания полагать, что β -изоформа STAT1 за счет отсутствия S727
 270 обеспечивает более длительную транскрипционную активность белка и
 271 повышенную экспрессию MHC-I и связанных генов. В случае же α -изоформы
 272 необходимо постоянное фосфорилирование S727 для обеспечения
 273 аналогичных эффектов, что согласуется с полученными нами результатами
 274 для злокачественных ОЦНС.

275 Несмотря на то, что STAT1 и его изоформы регулируют экспрессию
 276 MHC-I, клиническая значимость уровня экспрессии генов *HLA* в глиобластоме
 277 остается неоднозначной, что демонстрирует анализ выживаемости пациентов
 278 с глиобластомой из базы данных The Cancer Genome Atlas (TCGA), где не было
 279 обнаружено зависимости между уровнем экспрессии *HLA* и выживаемостью
 280 пациентов [25]. При этом для глиом низкой степени злокачественности низкая
 281 экспрессия генов *HLA* была ассоциирована с большей вероятностью
 282 выживания [25].

283 Особую роль в данном контексте может играть опухолевое иммунное
 284 микроокружение. Ранее было показано, что субпопуляция истощенных CD8+
 285 опухоль-ассоциированных лимфоцитов доминирует при первичной и
 286 рецидивирующей глиобластоме, а цитотоксические CD8+ Т-клетки
 287 демонстрировали сниженную экспрессию иммунных контрольных точек [26,
 288 27]. Поэтому можно предположить, что инфильтрация CD8+ клетками не
 289 является достаточным условием для повышения иммуногенности
 290 глиобластомы. Так в другом исследовании также не удалось показать влияние
 291 инфильтрации CD8+ резидентных Т-клеток памяти на выживаемость
 292 пациентов с глиобластомой [28]. Для пролиферирующих (Ki-67+) CD8+ Т-
 293 клеток была показана возможность повышения выживаемости пациентов с
 294 глиобластомой [29]. Также дисфункциональные CD4+ Т-клетки связаны с
 295 истощением CD8+ Т-клеток, что позволяет предположить, что CD4+ Т-клетки
 296 влияют на эффективность блокады PD-1, контролируя процесс истощения
 297 CD8+ Т-клеток в мышинных моделях ОЦНС [30]. В связи с чем необходимы
 298 дальнейшие исследования для выявления субпопуляции CD8+ Т-клеток с
 299 наибольшим противоопухолевым потенциалом.

300 **6 Выводы**

301 Было показано, что фосфорилирование STAT1 по серину 727 является
 302 важным молекулярным событием, связанным с активацией
 303 противоопухолевого ответа в злокачественных ОЦНС. Мы показали, что
 304 pSTAT1_S727 положительно коррелирует с экспрессией генов MHC-I и
 305 комплекса антигенной презентации, а также с уровнем инфильтрации опухоли
 306 CD8+ Т-клетками как у пациентов, так и в мышинных моделях ОЦНС.

307 Однако, несмотря на усиление иммунного ответа, уровень pSTAT1_S727
308 не был ассоциирован с улучшением общей выживаемости пациентов с
309 глиобластомой. Данное противоречие согласуется с литературными данными
310 об иммуносупрессивной природе микроокружения глиобластом, где
311 инфильтрирующие Т-лимфоциты часто находятся в состоянии
312 функционального истощения. Таким образом, pSTAT1_S727 играет ключевую
313 роль в запуске начальных этапов иммунного распознавания опухоли, но его
314 недостаточно для достижения клинически значимого улучшения.
315 Перспективным направлением может быть комбинирование стратегий,
316 направленных на активацию пути STAT1 с другими подходами
317 иммунотерапии ОЦНС.

318 СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

319 Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных,
320 соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ,
321 принципам Базельской декларации и рекомендациям Комитета по этике
322 АНОО ВО «Университет «Сириус» № 12 от 17.11.2025.

323 ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

324 Работа выполнена при поддержке государственной программы
325 федеральной территории «Сириус» «Научно-техническое развитие
326 федеральной территории «Сириус» (Соглашение № 31-03 от 07.07.2025).

327 КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

328 Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

329 ВКЛАД АВТОРОВ

330 Идея работы и планирование эксперимента (Ю.А.Е.), проведение
331 экспериментов (Ю.А.Е., А.К.А), биоинформатический анализ и обработка
332 данных (А.К.А.), визуализация данных (А.К.А., Ю.А.Е.), написание рукописи
333 (А.К.А., К.Д.А., Ю.А.Е.), редактирование рукописи (Ю.А.Е).

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Исследуемые гены
Table 1. Investigated Genes

Классические гены МНС-I / Classical MHC-I genes	<i>HLA-A, HLA-B, HLA-C</i>
Неклассические гены МНС-I / Non- classical MHC-I genes	<i>HLA-E, HLA-F, HLA-G</i>
Гены МНС-II / МНС-II genes	<i>HLA-DMA, HLA-DQB1</i>
Иммунопротеасомные субъединицы / Immunoproteasome subunits	<i>PSMB8, PSMB9, PSMB10</i>
Конститутивные протеасомные субъединицы / Constitutive proteasome subunits	<i>PSMB1, PSMB2, PSMB4, PSMB6, PSMB7</i>
Регуляторные частицы протеасомы / Proteasome regulatory particles	<i>PSMA2, PSMC4, PSMC5, PSMD1, PSMD2, PSMD4, PSMD5, PSMD7, PSMD13, PSME2</i>
Комплекс пептидной загрузки и процессинга / Peptide loading and processing complex	<i>B2M, TAP1, TAP2, TAPBP, ERAP1</i>
Гены процессинга и модификации пептидов / Peptide processing and modification genes	<i>CALR, CTSS</i>
Лиганды активации НК-клеток / NK-cell activating ligands	<i>ULBP1, ULBP2, ULBP3, RAET1E</i>
Транскрипционные факторы регуляции HLA / HLA regulation transcription factors	<i>NLRC5, RFX5, RFXAP, RFXANK</i>
NF-κB сигнальный путь / NF-κB signaling pathway	<i>NFKB1, NFKB2, RELA, REL, RELB</i>
Интерферон-регулируемые факторы / Interferon-regulated factors	<i>IRF1, IRF9</i>
Транскрипционные факторы / Transcription factors	<i>STAT1, SPI1, NFYA, NFYB, NFYC, CREB1, USF1, USF2</i>
Прочие связанные гены / Other related genes	<i>FCGR1A, NCF1, ITGB5, CD207, HFE, PDIA3, CDK5, CD8A</i>

РИСУНКИ

Рисунок 1. Результаты корреляционного анализа для классических HLA генов с CD8 TIL-сигнатурой у пациентов с глиобластомой (А) и метастазами головного мозга (В). Результаты представлены в виде линии регрессии с 95% доверительными интервалами. GBM (glioblastoma) – глиобластома, BrM (brain metastasis) – метастазы головного мозга, TIL (tumor-infiltrating lymphocytes) – лимфоциты, инфильтрирующие опухоль.

Figure 1. Correlation analysis results for classical *HLA* genes with the CD8 TIL signature in glioblastoma (A) and brain metastasis (B) patients. Results are presented as a regression line with 95% confidence intervals. GBM (glioblastoma), BrM (brain metastasis), TIL (tumor-infiltrating lymphocytes).

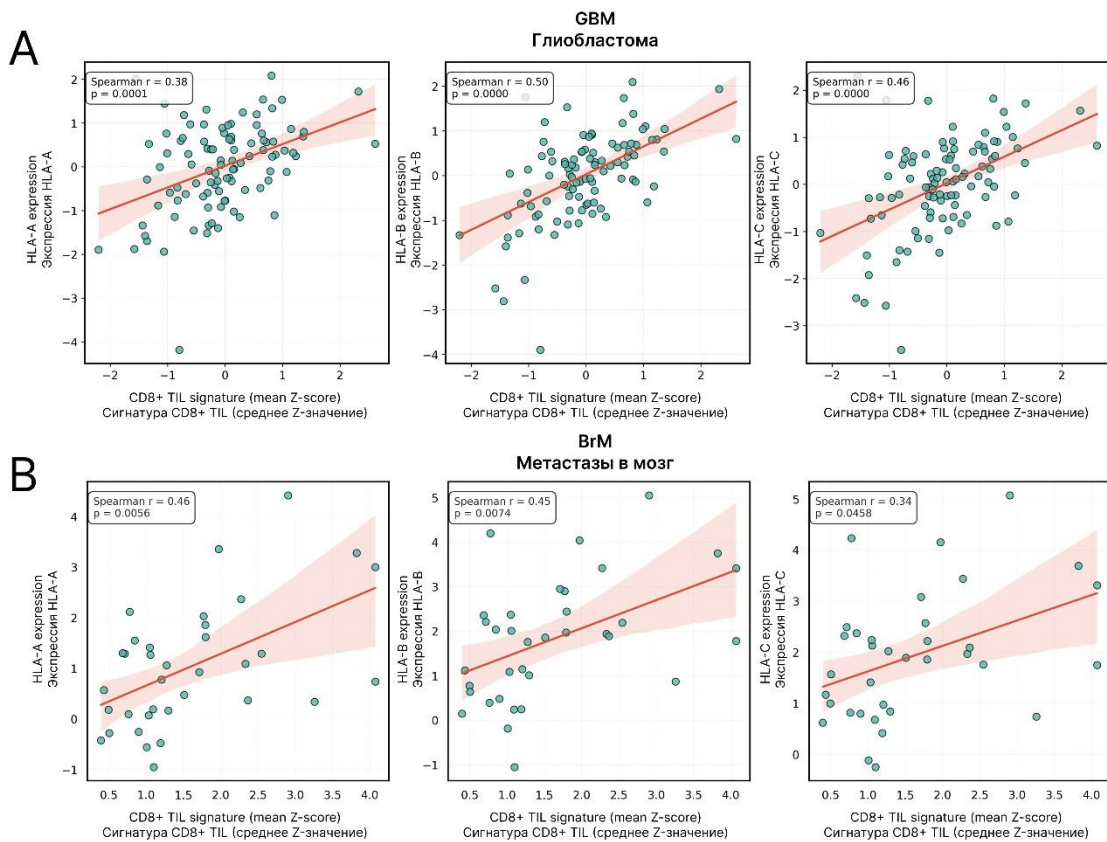


Рисунок 2. Результаты корреляционного анализа для классических HLA генов с pSTAT1_S727 (A). Анализ выживаемости пациентов разделенных по группам уровня экспрессии HLA-сигнатуры (B) и pSTAT1_S727 (C). Результаты корреляционного анализа представлены в виде линии регрессии с 95% доверительными интервалами.

Figure 2. Correlation analysis results for classical *HLA* genes with pSTAT1_S727 (A). Survival analysis of patients stratified by HLA signature expression levels (B) and pSTAT1_S727 levels (C). Correlation analysis results are presented as a regression line with 95% confidence intervals.

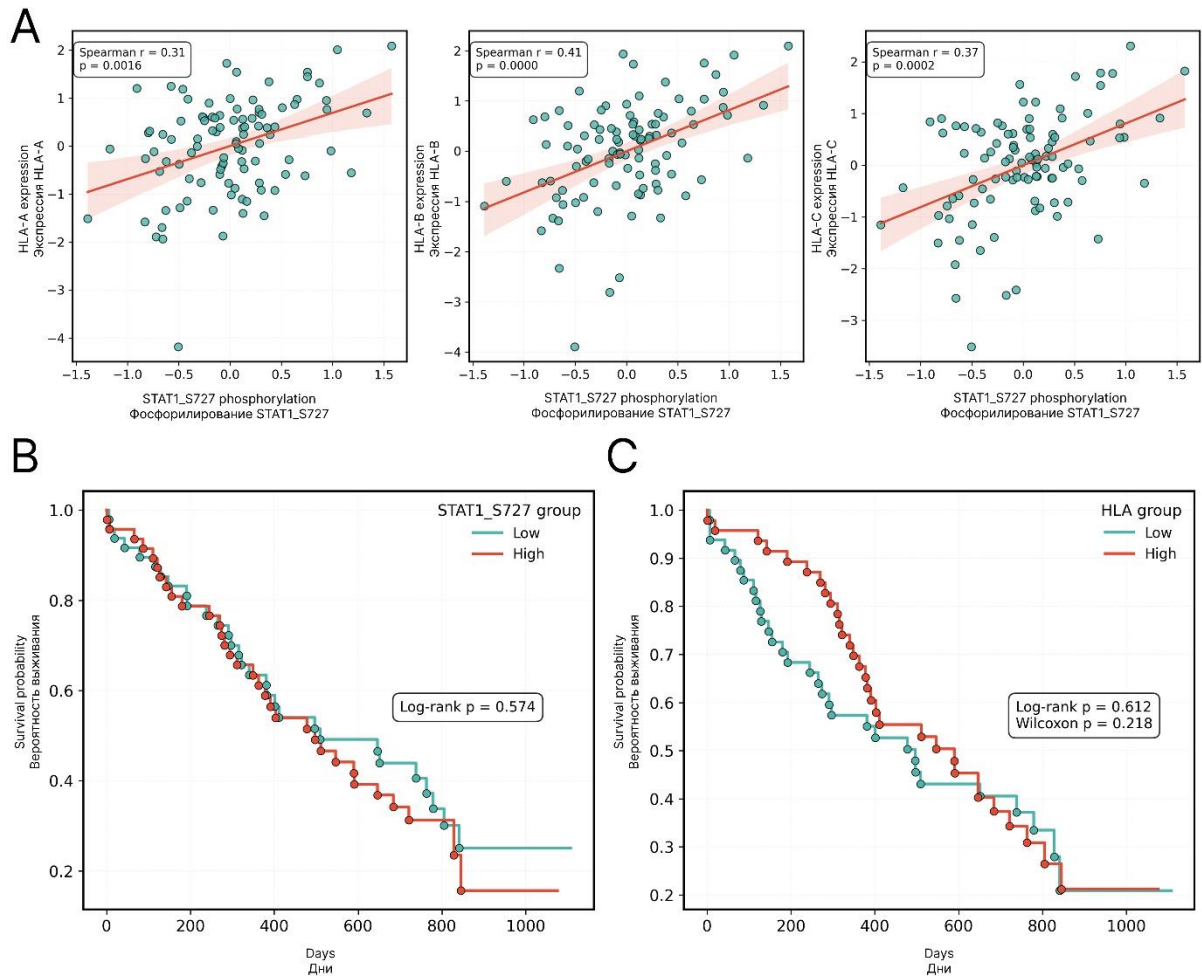


Рисунок 3. Вулканная диаграмма разницы экспрессии генов *HLA* и генов, связанных с *HLA*, между крайними тертилями уровня фосфорилирования STAT1_S727, по оси X – разница экспрессии (Z-score), по оси Y – логарифмическое значение p-value (U-критерий Манна-Уитни) (А). РСА для групп с низким и высоким уровнем pSTAT1_S727 по исследуемым генам (В). Тепловая карта средней экспрессии исследуемых генов в группах, разбитых по уровню фосфорилирования STAT1_S727 (С).

Figure 3. Volcano plot of differential expression of *HLA* and *HLA*-related genes between the extreme tertiles of STAT1_S727 phosphorylation levels. X-axis shows the expression difference (Z-score), Y-axis shows the logarithmic p-value (Mann-Whitney U test) (A). Principal component analysis (PCA) for groups with low and high pSTAT1_S727 levels based on the studied genes (B). Heatmap of the average expression of the studied genes in groups stratified by STAT1_S727 phosphorylation levels (C).

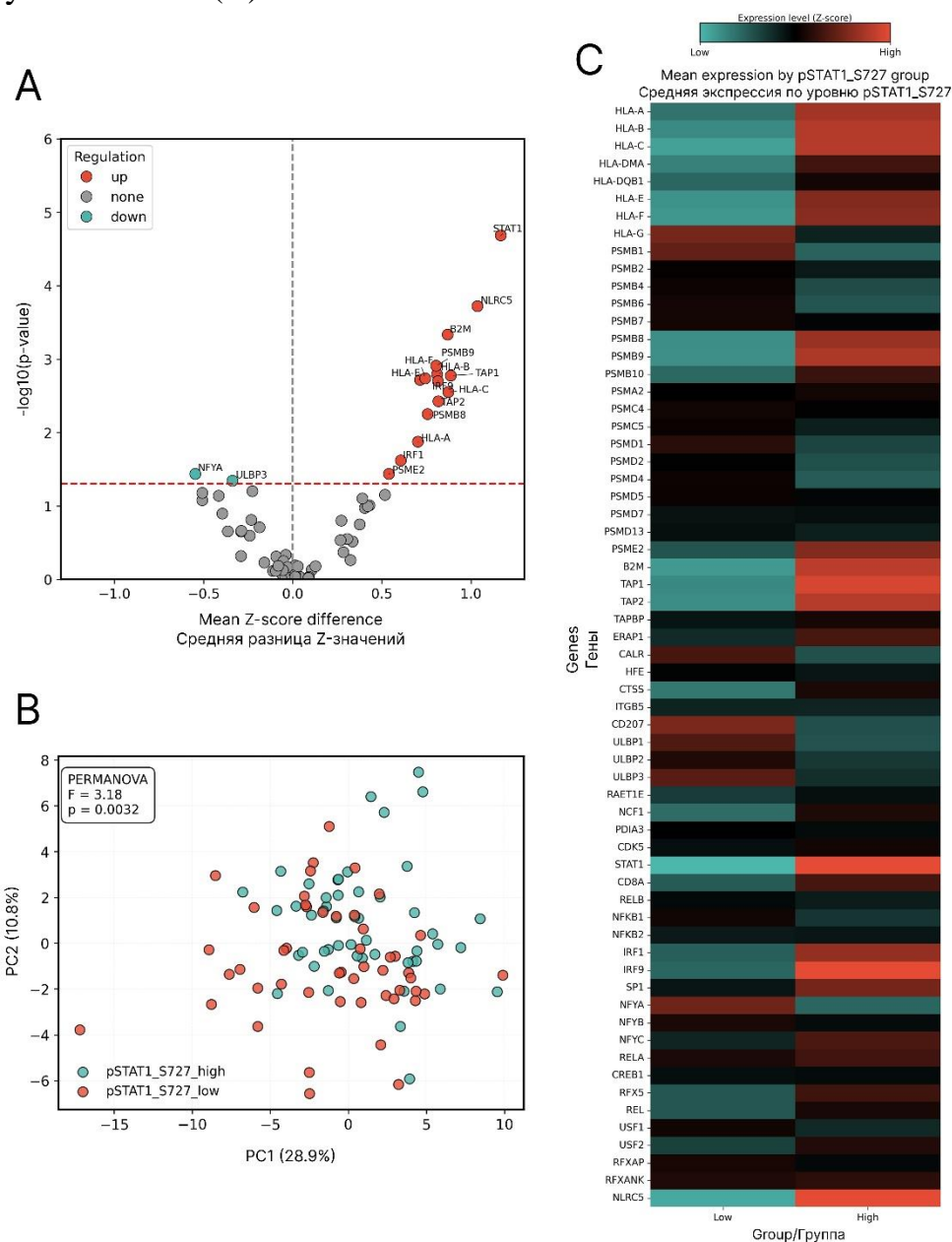
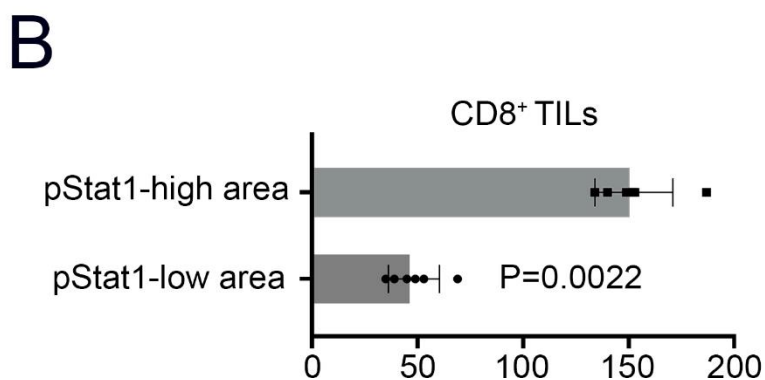
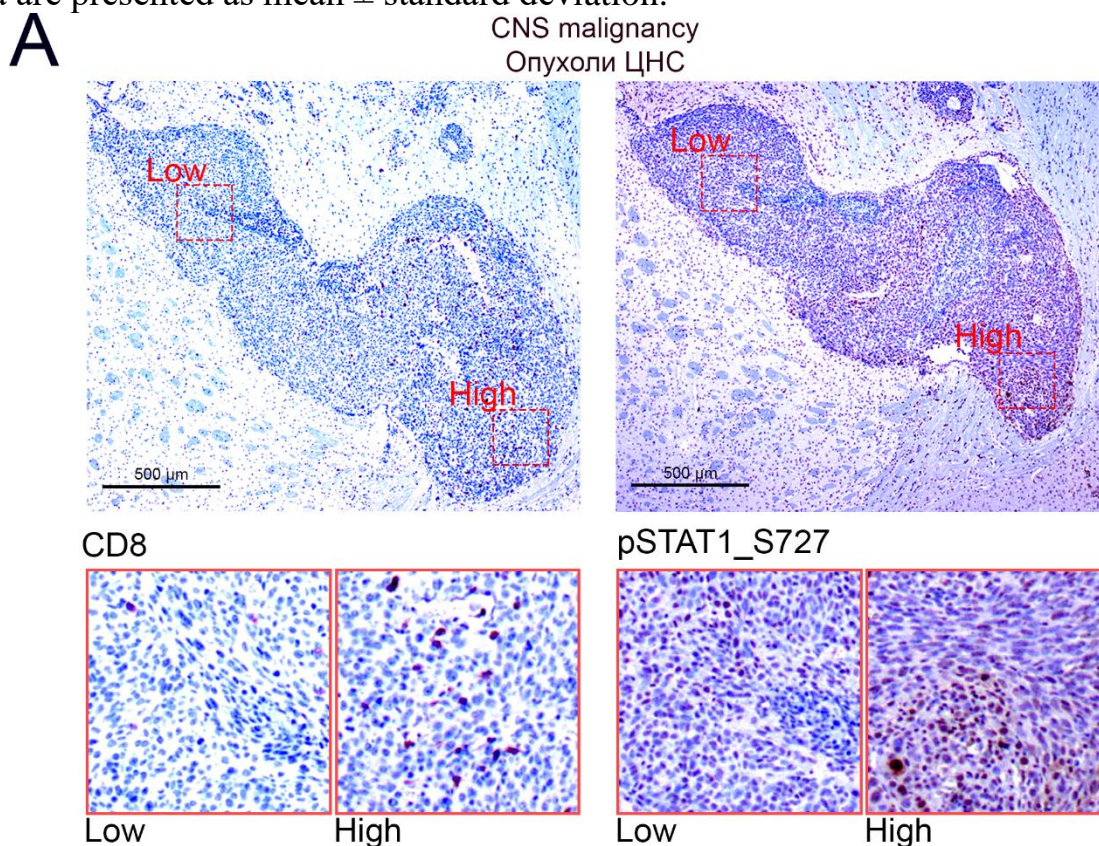


Рисунок 4. Репрезентативные изображения инфильтрации CD8⁺ Т-клеток в злокачественные ОЦНС с низким (Low) и высоким (High) уровнем фосфорилирования STAT1_S727 (A). Количество CD8⁺ Т-клеток в зонах опухоли (n = 6, U критерий Манна-Уитни) (B). Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Figure 4. Representative images of CD8⁺ T-cell infiltration in malignant CNS tumors with low and high levels of STAT1_S727 phosphorylation (A). Quantification of CD8⁺ T-cells in tumor areas (n = 6, Mann-Whitney U test) (B). Data are presented as mean ± standard deviation.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Южалин Арсений Евгеньевич, PhD, руководитель научной группы III категории Научного Центра Трансляционной Медицины, Научно-Технологический Университет «Сириус»;

Адрес: Научно-Технологический Университет «Сириус», Сочи, 354340, Россия;

Телефон: +79182341851;

e-mail: yuzhalin.ae@talantiuspeh.ru

Yuzhalin Arseniy Evgenievich, PhD, Head of Research Group (Category III), Research Center for Translational Medicine, Sirius University of Science and Technology;

Address: Sirius University of Science and Technology, Sochi, 354340, Russia;

telephone: +79182341851;

e-mail: yuzhalin.ae@talantiuspeh.ru

Блок 2. Информация об авторах

Арсентьев К. А., магистр биологии, младший научный сотрудник Научного Центра Трансляционной Медицины, Научно-Технологический Университет «Сириус»

Kirill A. Arsentiev, M.Sc. in Biology, Junior Research Fellow, Research Center for Translational Medicine, Sirius University of Science and Technology.

Кузьмин Д. А., бакалавр биологии, магистрант направления “Молекулярная медицина” Научного Центра Трансляционной Медицины, Научно-Технологический Университет «Сириус»

Dmitry A. Kuzmin, B.Sc. in Biology, Master's Student in the "Molecular Medicine" program, Research Center for Translational Medicine, Sirius University of Science and Technology.

Блок 3. Метаданные статьи

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ STAT1 В ПОЗИЦИИ
SER727 НА ИНФИЛЬТРАЦИЮ CD8+ Т-КЛЕТОК В ОПУХОЛИ
ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

INVESTIGATING THE INFLUENCE OF STAT1 PHOSPHORYLATION AT
SER727 ON CD8+ T-CELL INFILTRATION IN CENTRAL NERVOUS
SYSTEM TUMORS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ STAT1 В ОЦНС
STAT1 PHOSPHORYLATION IN CNS TUMORS

Ключевые слова: глиобластома, метастазы, STAT1, опухолевое
микроокружение, инфильтрация.

Keywords: glioblastoma, metastases, STAT1, tumor microenvironment, T-cell
infiltration.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 8,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 4.

24.12.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Nabors L.B., Ammirati M., Bierman P.J., Brem H., Butowski N., Chamberlain M.C., DeAngelis L.M., Fenstermaker R.A., Friedman A., Gilbert M.R., Hesser D., Holdhoff M., Junck L., Lawson R., Loeffler J.S., Maor M.H., Moots P.L., Morrison T., Mrugala M.M., Newton H.B., Portnow J., Raizer J.J., Recht L., Shrieve D.C., Sills A.K., Tran D., Tran N., Vrionis F.D., Wen P.Y., McMillian N., Ho M. Central Nervous System Cancers. J. Natl. Compr. Cancer Netw. JNCCN, 2013, Vol. 11, pp. 1114–1151.	-	10.6004/jnccn.2013.0132

2	PDQ Adult Treatment Editorial Board. Central Nervous System Tumors Treatment (PDQ®): Health Professional Version. In: PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65982/
3	Filho A.M., Znaor A., Sunguc C., Zahwe M., Marcos-Gragera R., Figueroa J.D., Bray F. Cancers of the brain and central nervous system: global patterns and trends in incidence. J. Neurooncol., 2025, Vol. 172, pp. 567–578.	-	10.1007/s11060-025-04944-y
4	Ostrom Q.T., Patil N., Cioffi G., Waite K., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the	-	10.1093/neuonc/noaa200

	United States in 2013–2017. Neuro-Oncol., 2020, Vol. 22, pp. 1–96.		
5	Louis D.N., Perry A., Wesseling P., Brat D.J., Cree I.A., Figarella-Branger D., Hawkins C., Ng H.K., Pfister S.M., Reifenberger G., Soffietti R., von Deimling A., Ellison D.W. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Neuro-Oncol., 2021, Vol. 23, pp. 1231–1251.	-	10.1093/neuonc/noab106
6	Angom R.S., Nakka N.M.R., Bhattacharya S. Advances in Glioblastoma Therapy: An Update on Current Approaches. Brain Sci., 2023, Vol. 13, p. 1536.	-	10.3390/brainsci13111536
7	Patel V., Chavda V. Intraoperative glioblastoma surgery-current challenges	-	10.1016/j.cpt.2023.11.006

	and clinical trials: An update. <i>Cancer Pathog. Ther.</i> , 2024, Vol. 2, pp. 256–267.		
8	Jezierzański M., Nafalska N., Stopyra M., Furgoł T., Miciak M., Kabut J., Gisterek-Grocholska I. Temozolomide (TMZ) in the Treatment of Glioblastoma Multiforme—A Literature Review and Clinical Outcomes. <i>Curr. Oncol.</i> , 2024, Vol. 31, pp. 3994–4002.	-	10.3390/currenco131070296
9	Muldoon L.L., Alvarez J.I., Begley D.J., Boado R.J., del Zoppo G.J., Doolittle N.D., Engelhardt B., Hallenbeck J.M., Lonser R.R., Ohlfest J.R., Prat A., Scarpa M., Smeyne R.J., Drewes L.R., Neuwelt E.A. Immunologic privilege in the central nervous system and the blood–brain barrier. <i>J. Cereb.</i>	-	10.1038/jcbfm.2012.153

	Blood Flow Metab., 2013, Vol. 33, pp. 13–21.		
10	Sampson J.H., Gunn M.D., Fecci P.E., Ashley D.M. Brain immunology and immunotherapy in brain tumours. Nat. Rev. Cancer, 2020, Vol. 20, pp. 12–25.	-	10.1038/s41568-019-0224-7
11	Tu S., Lin X., Qiu J., Zhou J., Wang H., Hu S., Yao Y., Wang Y., Deng Y., Zhou Y., Shao A. Crosstalk Between Tumor-Associated Microglia/Macrophages and CD8-Positive T Cells Plays a Key Role in Glioblastoma. Front. Immunol., 2021, Vol. 12, p. 650105.	-	10.3389/fimmu.2021.650105
12	Cornel A.M., Mimpfen I.L., Nierkens S. MHC Class I Downregulation in Cancer: Underlying Mechanisms and Potential Targets for Cancer Immunotherapy. Cancers,	-	10.3390/cancers12071760

	2020, Vol. 12, p. 1760.		
13	Lee J.H., Shklovskaya E., Lim S.Y., Carlino M.S., Menzies A.M., Stewart A., Pedersen B., Irvine M., Alavi S., Yang J.Y.H., Strbenac D., Saw R.P.M., Thompson J.F., Wilmott J.S., Scolyer R.A., Long G.V., Kefford R.F., Rizos H. Transcriptional downregulation of MHC class I and melanoma de-differentiation in resistance to PD-1 inhibition. Nat. Commun., 2020, Vol. 11, p. 1897.	-	10.1038/s41467-020-15726-7
14	Zhang C., Lowery F.J., Yu D. Intracarotid Cancer Cell Injection to Produce Mouse Models of Brain Metastasis. J. Vis. Exp. JoVE, 2017, Vol. 120, p. e55085.	-	10.3791/55085
15	Ohe C., Yoshida T., Ikeda J., Tsuzuki T., Ohashi R.,	-	10.3390/biomedicines10020323

	Ohsugi H., Atsumi N., Yamaka R., Saito R., Yasukochi Y., Higasa K., Kinoshita H., Tsuta K. Histologic-Based Tumor-Associated Immune Cells Status in Clear Cell Renal Cell Carcinoma Correlates with Gene Signatures Related to Cancer Immunity and Clinical Outcomes. Biomedicines, 2022, Vol. 10, p. 323.		
16	Dhatchinamoorthy K., Colbert J.D., Rock K.L. Cancer Immune Evasion Through Loss of MHC Class I Antigen Presentation. Front. Immunol., 2021, Vol. 12, p. 636568.	-	10.3389/fimmu.2021.636568
17	Meissl K., Macho-Maschler S., Müller M., Strobl B. The good and the bad faces of STAT1 in solid tumours. Cytokine, 2017, Vol. 89, pp.	-	10.1016/j.cyto.2015.11.011

	12–20.		
18	Parrini M., Meissl K., Ola M.J., Lederer T., Puga A., Wienerroither S., Kovarik P., Decker T., Müller M., Strobl B. The C-Terminal Transactivation Domain of STAT1 Has a Gene-Specific Role in Transactivation and Cofactor Recruitment. <i>Front. Immunol.</i> , 2018, Vol. 9, p. 2879.	-	10.3389/fimmu.2018.02879
19	Yang Q., Lv Z., Wang M., Kong M., Zhong C., Gao K., Wan X. LATS1/2 loss promote tumor immune evasion in endometrial cancer through downregulating MHC-I expression. <i>J. Exp. Clin. Cancer Res. CR</i> , 2024, Vol. 43, p. 54.	-	10.1186/s13046-024-02979-z
20	Varinou L., Ramsauer K., Karaghiosoff M., Kolbe T.,	-	10.1016/s1074-7613(03)00322-4

	Pfeffer K., Müller M., Decker T. Phosphorylation of the Stat1 Transactivation Domain Is Required for Full-Fledged IFN- γ -Dependent Innate Immunity. <i>Immunity</i> , 2003, Vol. 19, pp. 793–802.		
21	Yuzhalin A.E., Lowery F.J., Saito Y., Yuan X., Yao J., Duan Y., Ding J., Acharya S., Zhang C., Fajardo A., Chen H.-N., Wei Y., Sun Y., Zhang L., Xiao Y., Li P., Lorenzi P.L., Huse J.T., Fan H., Zhao Z., Hung M.-C., Yu D. Astrocyte-induced Cdk5 expedites breast cancer brain metastasis by suppressing MHC-I expression to evade immune recognition. <i>Nat. Cell Biol.</i> , 2024, Vol. 26, pp. 1773–1789.	-	10.1038/s41556-024-01509-5
22	Putz E.M., Gotthardt D., Hoermann G., Csiszar A., Wirth S., Berger A., Straka	-	10.1016/j.celrep.2013.07.012

	E., Rigler D., Wallner B., Jamieson A.M., Pickl W.F., Zebedin-Brandl E.M., Müller M., Decker T., Sexl V. CDK8-Mediated STAT1-S727 Phosphorylation Restrains NK Cell Cytotoxicity and Tumor Surveillance. Cell Rep., 2013, Vol. 4, pp. 437–444.		
23	Semper C., Leitner N.R., Lassnig C., Parrini M., Mahlaköiv T., Rammerstorfer M., Lorenz K., Rigler D., Müller S., Kolbe T., Vogl C., Rüllicke T., Staeheli P., Decker T., Müller M., Strobl B. STAT1 β is not dominant negative and is capable of contributing to gamma interferon-dependent innate immunity. Mol. Cell. Biol., 2014, Vol. 34, pp. 2235–2248.	-	10.1128/MCB.00295-14
24	Lan N., Li X., Qiao Y., Zhang	-	10.1186/s13048-025-01780-

	S., Chen M., Yang X., Zou Y., Ren J., Pei M. STAT1 β modulates the tumor immune microenvironment to improve prognosis in ovarian cancer: a comprehensive study of transcriptional and protein expression differences. J. Ovarian Res., 2025, Vol. 18, p. 192.		6
25	Lorenzo-Herrero S., Sordo-Bahamonde C., Martínez-Pérez A., Corte-Torres M.D., Fernández-Vega I., Solís-Hernández M.P., González S. Immunoglobulin-like transcript 2 blockade restores antitumor immune responses in glioblastoma. Cancer Sci., 2023, Vol. 114, pp. 48–62.	-	10.1111/cas.15575
26	Abdoli Shadbad M., Miraki Feriz A., Baradaran B., Safarpour H. Tumor-infiltrating CD8+ subpopulations in primary and	-	10.1016/j.heliyon.2024.e27329

	recurrent glioblastoma: An in-silico study. Heliyon, 2024, Vol. 10, p. e27329.		
27	Woroniecka K., Chongsathidkiet P., Rhodin K., Kemeny H., Dechant C., Farber S.H., Elsamadicy A.A., Cui X., Koyama S., Jackson C., Hansen L.J., Johanns T.M., Sanchez-Perez L., Chandramohan V., Yu Y.-R.A., Bigner D.D., Giles A., Healy P., Dranoff G., Weinhold K.J., Dunn G.P., Fecci P.E. T-Cell Exhaustion Signatures Vary with Tumor Type and Are Severe in Glioblastoma. Clin. Cancer Res., 2018, Vol. 24, pp. 4175–4186.	-	10.1158/1078-0432.CCR-17-1846
28	La Manna M.P., Di Liberto D., Lo Pizzo M., Mohammadnezhad L., Shekarkar Azgomi M., Salamone V., Cancila V.,	-	10.3390/biomedicines10102454

	Vacca D., Dieli C., Maugeri R., Brunasso L., Iacopino D.G., Dieli F., Caccamo N. The Abundance of Tumor-Infiltrating CD8+ Tissue Resident Memory T Lymphocytes Correlates with Patient Survival in Glioblastoma. Biomedicines, 2022, Vol. 10, p. 2454.		
29	Mauldin I.S., Jo J., Wages N.A., Yogendran L.V., Mahmutovic A., Young S.J., Lopes M.B., Slingluff C.L., Erickson L.D., Fadul C.E. Proliferating CD8+ T Cell Infiltrates Are Associated with Improved Survival in Glioblastoma. Cells, 2021, Vol. 10, p. 3378.	-	10.3390/cells10123378
30	Khan S.M., Desai R., Coxon A., Livingstone A., Dunn G.P., Petti A., Johanns T.M. Impact of CD4 T cells on intratumoral CD8 T-cell	-	10.1136/jitc-2022-005293

	exhaustion and responsiveness to PD-1 blockade therapy in mouse brain tumors. J. Immunother. Cancer, 2022, Vol. 10, p. e005293.		
--	--	--	--