

Modulált elektro-hipertermia sejtpusztító hatásának mechanizmusa és kemoterápiával való kölcsönhatása B16F10 melanóma-sejtvonalon

MAJOR ENIKŐ¹, BENEDEK ANETT¹, SZÁSZ A. MARCELL², BENYÓ ZOLTÁN¹, BALOGH ANDREA¹

Semmelweis Egyetem, ¹Transzlációs Medicina Intézet, ²Onkológiai Központ, Budapest

Pályázati támogatás: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal, NVKP 16-1-2016-0042; Richter Gedeon Talentum Alapítvány

Levelezési cím:

Dr. Benyó Zoltán, MD, PhD, DSc, egyetemi tanár, Semmelweis Egyetem, Transzlációs Medicina Intézet, 1094 Budapest, Tűzoltó u. 37-47., levélcím: 1428 Budapest, Pf. 2. Tel.: (+36-1) 210-0306, e-mail: benyo.zoltan@med.semmelweis-univ.hu

Közlésre érkezett:

2019. november 23.

Elfogadva:

2020. február 21.

Vizsgálatunk célja a modulált elektro-hipertermia (mEHT) sejtpusztító hatásmechanizmusának, valamint kemoterápiás szerekkel való esetleges kölcsönhatásának feltárása volt egér melanóma sejtvonalon. B16F10 sejteket LabEHTY100 (Oncotherm™) készülékkel 30, 60, 90 és 120 percre kezeltünk, majd életképességüket MTT módszerrel, az apoptózist áramlási citometriával, annexin V/7-AAD festéssel vizsgáltuk 24 órával a kezelés után. Génexpressziós vizsgálatot végeztünk qPCR segítségével 60 perces kezelést követően. Kombinált protokollokban, mEHT-kezelést követően a sejteket paklitaxellel (40 nM), dakarbazinnal (40 µM) vagy nutlin-3a-val (10 µM) kezeltük. Megállapítottuk, hogy a p53 mEHT által kiváltott nukleáris transzlokációja sejtciklusleálláshoz és sejthalálhoz vezet, amely a sejtek életképességének csökkenésében tükröződik. Kemoterápiával való kombináció során kimutattuk, hogy egyaránt fokozza a dakarbazin és nutlin-3a sejtpusztító hatását, azonban a paklitaxel által indukált sejthalált nem befolyásolta 48 órával a kezelést követően. Eredményeink támogatják az mEHT adjuváns kezelésként való alkalmazásának lehetőségét daganatok kezelésében. *Magy Onkol* 65:71-77, 2021

Kulcsszavak: melanóma, modulált elektro-hipertermia (mEHT), sejtkultúra, kemoterápia, apoptózis

Our aim was to detect the effect of modulated electro-hyperthermia (mEHT) on cell viability and to examine if hyperthermia can augment the cell killing effect of various chemotherapeutic agents. B16F10 melanoma cells were treated for 30, 60, 90 and 120 minutes with mEHT using LabEHTY100 (Oncotherm™). Cell viability was measured using MTT assay and apoptosis by annexin V/7-AAD staining using flow cytometry 24 hours post-treatment. For analyzing gene expression with qPCR cells were harvested after 60 minutes treatment. In combined protocols, cells were treated with paclitaxel (40 nM), dacarbazine (40 µM) or nutlin-3a (10 µM) after mEHT. mEHT induced nuclear translocation of p53 which in turn regulates pro- and anti-apoptotic gene expression accounting for decreased cell viability. In combination with chemotherapy, mEHT augmented the cell killing effect of dacarbazine or nutlin-3a but not that of paclitaxel determined 48 hours post-treatment. The sensitizing effect on chemotherapeutics demonstrate the efficiency of mEHT as an adjuvant modality in cancer treatment.

*Major E, Benedek A, Szász AM, Benyó Z, Balogh A. The adjuvant killing effect of modulated electro-hyperthermia combined with chemotherapy on B16F10 melanoma cells. *Magy Onkol* 65:71-77, 2021*

Keywords: melanoma, modulated electro-hyperthermia (mEHT), cell culture, chemotherapy, apoptosis

BEVEZETÉS

A melanóma a hetedik leggyakoribb rákbetegség Európában, a malignus tumorok 3,4 százalékát teszi ki [1]. Incidenciája és mortalitása az utóbbi évtizedekben növekvő tendenciát mutat Európában és az Egyesült Államokban egyaránt [1, 2]. Világszerte évente nagyságrendileg 287 ezer új esetet diagnosztizálnak, a halálos esetek száma 60 ezerre tehető [1, 2].

Az utóbbi két évtizedben a malignus melanóma molekuláris hátterének felderítése lehetővé tette új terápiás célpontok megjelenését [3]. Az esetek 50%-ában a BRAF enzim mutációja kimutatható [4], emellett, mivel a melanóma az egyik legimmunogénebb daganattípus [5], az immunrendszer szabályozásában részt vevő CTLA-4 (citotoxikus T-limfocita asszociált antigén-4) és PD-1/PD-L1 (programozott sejthalál receptor 1) elleni antitestek kulcsfontosságú terápiás lehetőségek [6–10]. Ennek ellenére továbbra is nagy szükség van a legfejlettebb terápiás módszerek hatékonyságának javítására, melyben nagy szerepe lehet a nem invazív, modulált elektro-hipertermiának (mEHT) [11].

A lokális-regionális hipertermia javíthatja a kemo-, radio- és immunterápia hatékonyságát [12–15]. A kapacitív kapcsolt mEHT által generált mágneses tér szelektíven képes akumulálni a tumorban [16] a környező szövet károsítása nélkül, amiért a malignus szövetek fokozott metabolizmusa tehető felelőssé: fokozott glükózfelvétel, glikolízis (Warburg-hatás), magas laktát-, só- és fémion-koncentráció [17–19], amely a tumor növekedett dielektromos permittivitásához és komplex konduktivitásához vezet [20].

A modulált elektro-hipertermia előnye, hogy monoterápiában is visszafordíthatatlan, hő- és sejtsztrez által közvetített tumorkárosító hatással rendelkezik, emellett a kezelés nem jár veszélyes mellékhatásokkal, így a betegek számára jól tolerálható [11]. Bizonyított, hogy kísérletes tumormodellben

egyaránt kaszpázfüggetlen, AIF- (apoptózisindukáló faktor) mediált és kaszpázfüggő apoptózist indukál, összefüggésben a mutáns vagy vad típusú TP53 génnel, különösen kolorektális adenokarcinóma modellben [21–23], míg gliómasejt-kultúrában szignifikáns apoptózisról és csökkent tumorproliferációról számoltak be [24]. Bizonyított, hogy az mEHT-kezelés absztrópaális effektus indukálásával képes növelni a dendritikus sejt immunterápia hatékonyságát [25].

A közelmúltban publikált eredményeink alapján az mEHT tumorsuppresszív hatásában szerepe lehet a p53-indukciónak [26]. Kemoterápiás szerekkel kombinálva szignifikáns tumorméret-csökkenésről számoltak be klinikai vizsgálatok során [15]. Jelen munkánkban B16F10 melanóma-sejtvonalon vizsgáltuk az mEHT hatását a sejtek életképességére, apoptózisára, a p53 nukleáris transzlokációjára és kemoterápiás szerek hatékonyságára.

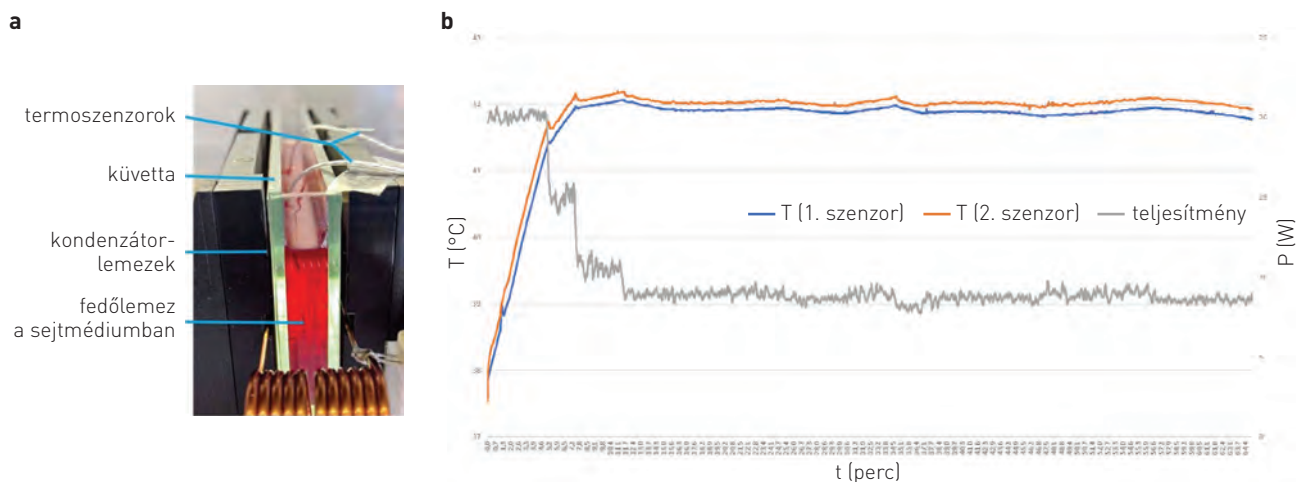
ANYAG ÉS MÓDSZER

Sejtkultúra

B16F10 egér melanóma sejtvonal (ATCC® CRL 6475TM, Manassan, VA) 2 mM L-glutamin, 1 V/V% MEM-vitamin oldat, 1 mM nátrium-piruvát, 1 V/V% nem esszenciális aminosav (NEAA) és 5% hőinaktivált szérum (FBS, HyClone) tartalmú minimális esszenciális tápoldatban (MEM) volt tenyésztve (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA).

In vitro mEHT-kezelés

B16F10 sejteket 5 ml médiumban szuszpendálva (3×10^5 sejt/5 ml médium koncentrációban) egy éjszakán át neveltük 24×40 mm-es fedőlemezek, Petri-csészében (Sarstedt, Nümbrecht, Németország). A kezelést az 1.a ábrán látható applikátorban (Oncotherm Kft, Páty, Magyarország) végeztük. A sejteket 30, 60, 90 és 120 percen át 42 °C hőmérsékleten



1. ÁBRA. *In vitro* mEHT-kezelés beállítása. mEHT-kezelés során használt *in vitro* applikátor (a). 60 perces, 42 °C hőmérsékleten történő mEHT-kezelés alatt alkalmazott teljesítményváltoztatással biztosítottuk, hogy a hőmérséklet a megfelelő tartományban mozogjon (b)

kezeltük. A teljesítmény változtatásával tartottuk a hőmérsékletet a kívánt szinten (42 °C), melyet a kezelés teljes ideje alatt termoszenzorok segítségével monitoroztunk (1. b. ábra). A kontrollminták a kezelés ideje alatt 37 °C hőmérsékleten, sejtkubátorban voltak.

Kombinált protokollokban 60 perces mEHT-kezelést követően a sejteket paklitaxellel (40 nM), dakarbazinnal (40 µM) vagy nutlin-3a-val (10 µM) kezeltük 48 órán át.

Génexpressziós változás vizsgálata qPCR-rel

A sejteket 1, 3, 9 és 24 órával az mEHT-kezelés végét követően gyűjtöttük be, a sejtekből az RNS-t RNeasy Plus Mini kit (QIAGEN, Hilden, Németország) használatával a gyártó által meghatározott protokoll alapján izoláltuk. Az RNS-koncentrációt NanoDrop One/One® (Thermo Fisher Scientific) készülékkel mértük meg. Minden mintából 1 µg RNS-t írtunk át cDNS-sé a RevertAid First Stand cDNA Synthesis kit (Thermo Fisher Scientific) felhasználásával a gyártó által meghatározott protokoll szerint. Az mRNS expressziójának meghatározását kvantitatív valós idejű PCR-rel (qPCR) végeztük. A PCR-reakciókat 3 párhuzamos mintával, 20 µl végtérfogóban végeztük, aminek összetétele: 20 ng RNS-nek megfelelő cDNS, 10 µl 2× SYBR Green Supermix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) és 300 nmol reverz és forward primer. A felhasznált primerek szekvenciáit az 1. táblázat tartalmazza. Az alkalmazott PCR-protokoll: a kezdeti denaturációs lépés (10 perc 95 °C)

tőpufferes mosást követően mintánként 2×10⁵ sejthez 5-5 µl 7-AAD és FITC-jelölt annexin V-t adtunk 100 µl végtérfogóban. 15 perc inkubálás után a mintákhoz 400 µl annexin puffert adtunk, majd bemértük azokat FACSCalibur típusú (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) áramlási citométeren.

Citokémiai vizsgálatok

Hematoxilin-eozin (HE), illetve immuncitokémiai festést végeztünk. Az antigénfeltárást kuktában (Aptum Bio 2100 Retriever, Diagnostic Technology Pty Ltd, Belrose, NSW, Australia) végeztük antigénfeltárási oldatban (Dako Target Retrieval Solution). A mintákat 20 percre inkubáltuk, majd a gőz kiengedése után a készülékben további 20 percre pihentettük, ezután szobahőmérsékleten ismételt 20 percet hagytuk húlni. Az endogén peroxidáz aktivitást gátoltuk (20 perc, 3% metanolos hidrogén-peroxid). A minták 20 percre 5% BSA és 0,1% Na-azid-tartalmú 0,1 M Na-Tris pufferbe (TBST, pH 7,4, Sigma Aldrich, St. Luis, MO), majd a nem specifikus fehérjék blokkolására 30 percre 5%-os kecskeszérumba (Merck Millipore) kerültek. Ezt követően nedves kamrában 16 órán keresztül, szobahőmérsékleten inkubáltuk primer antitestekkel: HSP70 (Cell Signaling), p53 (R&D Systems, Mineapolis, MN, USA). Az antitestek hígítása 0,1%-os BSA-ban (Probumine BSA, Life Science Grade, Merck Millipore) történt. A másodlagos antitestekkel (HISTOLS-MR-T PO Labeled Polymer Mouse-Rabbit,

1. TÁBLÁZAT. qPCR-mérésnél használt primerszekvenciák

Gén	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
RPLP0	CTCTCGCTTTCTGGAGGGTG	ACGCGCTTGTACCCATTGAT
HSP70	AGCTGAAGAAGGGTCAAGTGAC	TGGATAGGGCAAATCCTGAG
p21	GCAGAATAAAAGGTGCCACAGG	AAAGTTCCACCGTTCTCGGG

után az amplifikációkat 40 cikluson keresztül 10 s 95 °C és 30 s 60 °C-on végeztük CFX Connect™ RT-PCR Detection System készülékkel (Bio-Rad). Mindegyik minta mRNS-expresszióját az RPLP0 généhez viszonyítva, ddCt módszer alkalmazásával határoztuk meg (1. táblázat).

Életképesség mérése

A 24 órával az mEHT-kezelést követően Cell Titer-Blue (Promega) segítségével a gyártó által meghatározott protokoll alapján sejtleletképességet mértünk. Kemoterápiával való kombináció esetén 48 órával az mEHT-kezelést követően végeztük a mérést.

Apoptózis detektálása áramlási citométerrel

A kezelt sejteket begyűjtöttük a vizsgált időpontokban, majd annexin V/ 7-AAD (7-amino-actinomycin D) kettős festést végeztünk rajtuk a gyártó (BioLegend, San Diego, CA, USA) ajánlásának megfelelően. Eszerint a sejtszuspenzióból fes-

30011.500t, Histopathology Kft., Pécs) 40 percre inkubáltuk. Vizualizálás szobahőmérsékleten DAB Quanto (Thermo Scientific, TA-060- QHDx) segítségével történt. Polimer-peroxidáz konjugált anti-nyúl Ig detekciós rendszert alkalmaztunk (Dako, Glostrup, Dánia). Az inkubációk között a mintákat 3-szor 3 percre mostuk TBST (pH 7,4) pufferben.

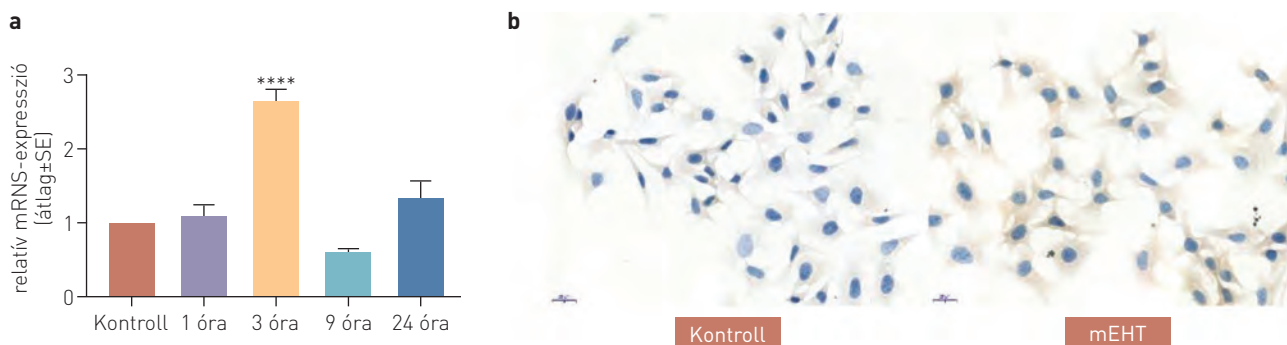
Statisztikai analízis

Statisztikai elemzéseinkhez a GraphPad Prism szoftvert (v.6.07; GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA) használtuk. Az eredmények értékeléséhez párosított t-próba, egy- és kétutas ANOVA-tesztet alkalmaztunk.

EREDMÉNYEK

HSP70-expresszió változása mEHT-kezelés hatására

A kezelés által kiváltott hőstressz kvantifikálására a HSP70-expressziót követtük nyomon (2. ábra). qPCR segítségével mRNS-szinten vizsgáltuk a génexpresszió mértékének időbeni

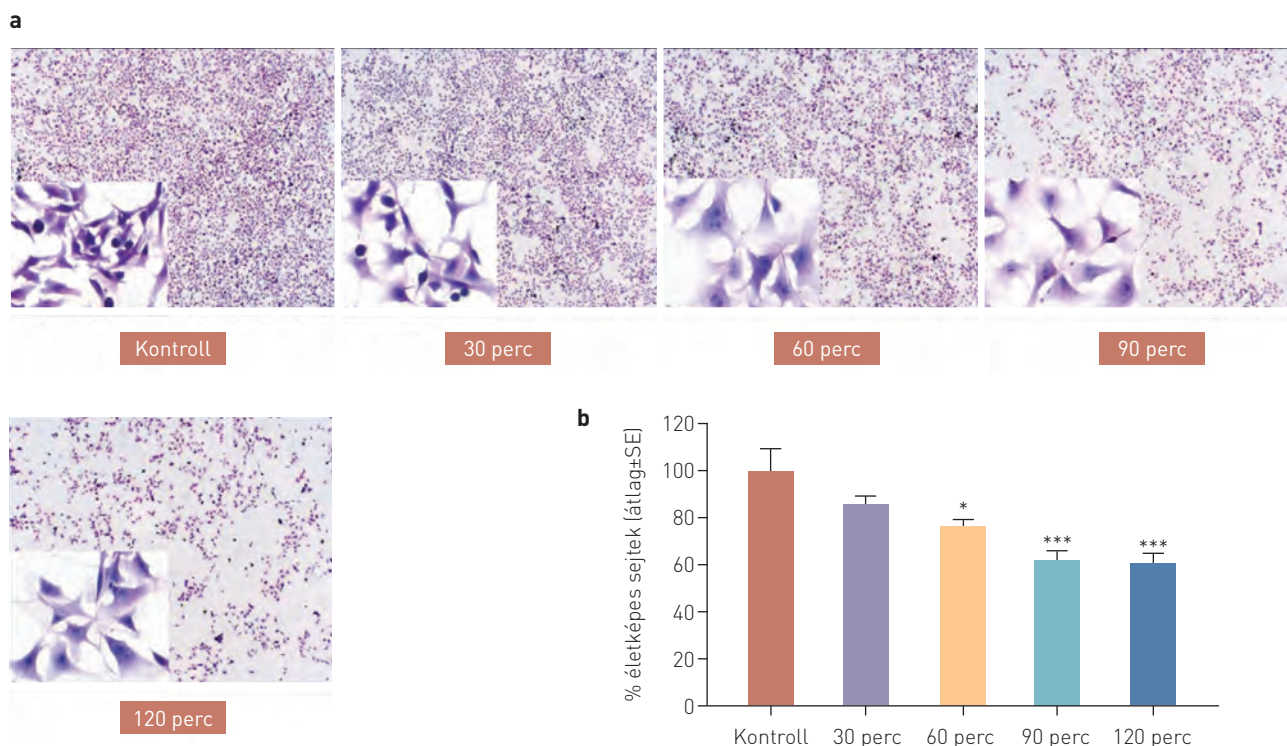


2. ÁBRA. HSP70-indukció hipertermia hatására. HSP70-génexpresszió mérése qPCR-rel 1, 3, 9 és 24 órával a 60 perces mEHT-kezelést követően (a) (N=3, ****p<0,0001, egyutas ANOVA, Tukey-féle *post hoc* teszt). A sejtek HSP70-státuszának megállapítása immuncitokémiával 24 órával a 60 perces kezelést követően (b) (40×)

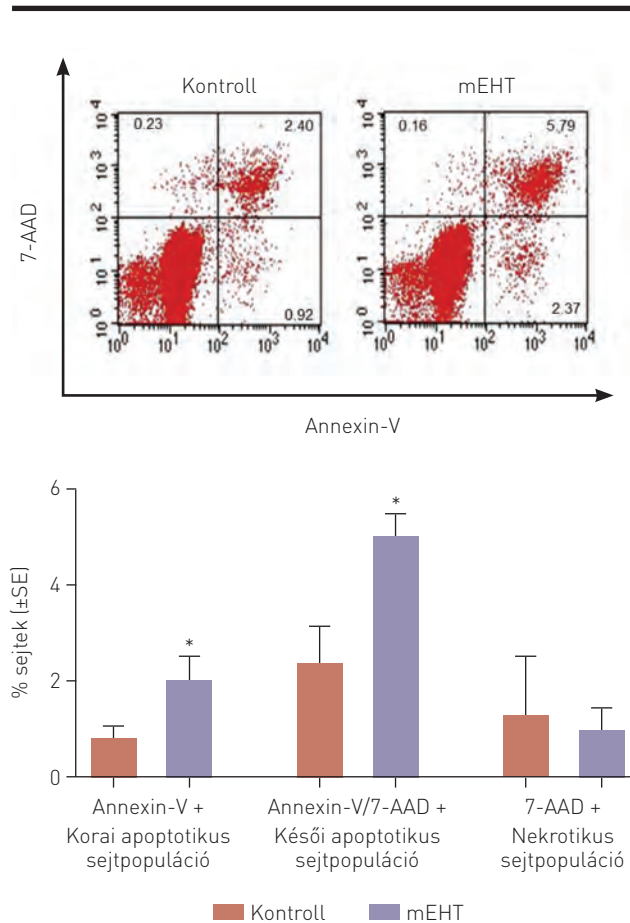
változását 1, 3, 9 és 24 órával a kezelést követően. Azt találtuk, hogy az mRNS-szint 3 órával a kezelést követően közel háromszorosára emelkedik, majd a kontroll szintjére tér vissza (2.a ábra). A következő lépésben, 24 órával a 60 perces kezelést követően, immuncitokémiával bizonyítottuk, hogy a kezelés fehérjeszinten is indukálja a HSP70-expressziót (2.b ábra).

A sejtpusztulás mértékének vizsgálata

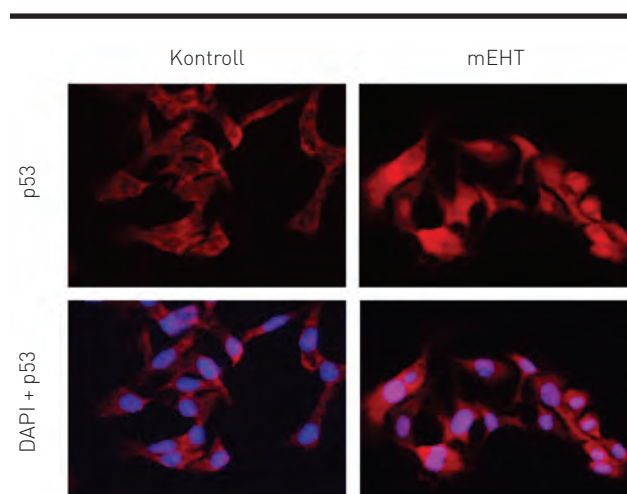
Az optimális kezelési idő beállítása érdekében a sejteket 30, 60, 90 és 120 percig kezeltük modulált elektro-hipertermiával. A kezelés hatékonyságát hematoxinil-eozin festéssel és sejtleletképeség mérésével detektáltuk 24 órával a kezelést követően (3. ábra). Megállapítottuk, hogy a 60 perces



3. ÁBRA. Dózisfüggő sejtpusztulás. Sejtdenzitás és morfológia vizsgálata HE-festéssel, 24 órával a 30, 60, 90, illetve 120 perces kezelést követően (a) (4×, 80×). Sejtéletképeség mérése szintén 24 órával a 30, 60, 90, 120 perces kezelést követően (b) (N=5, *p<0,05, ***p<0,001, egyutas ANOVA, Tukey-féle *post hoc* teszt)



4. ÁBRA. Apoptózis detektálása 60 perces kezelést követően, annexin V/7-AAD festés után a sejteket áramlási citometriával vizsgálva. A jelzett értékek százalékos értékeket (a, b) jelölnek minden régióban (N=3, *p<0,05, párosított t-próba)



5. ÁBRA. mEHT indukálta p53-aktiváció és nukleáris transzlokáció. p53-státusz megállapítása immuncitokémiával 24 órával a 60 perces kezelést követően [61,5x]

kezelés számottevő életképesség-csökkenést eredményez, így későbbi vizsgálataink során ezt a kezelési időtartamot alkalmaztuk (3.b ábra).

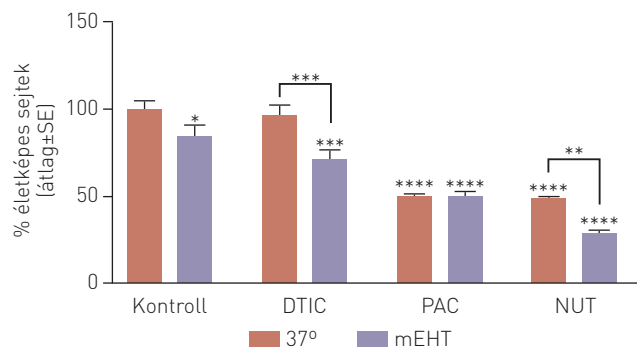
Ezt követően a sejtpusztulás mechanizmusának feltárására megvizsgáltuk az apoptotikus/nekrotikus sejtpopulációk megoszlását (4. ábra). Látható, hogy a 60 perces kezelés szignifikáns emelkedést eredményez mind a korai, mind a késői apoptotikus populációban, emellett a nekrotikus sejtek száma nem változott szignifikánsan a 37 °C-on tartott kontrollcsoporthoz képest (4.b ábra).

A p53 hipertermia indukálta nukleáris transzlokációja és aktivációja

Már igazolt, hogy a hipertermia a p53-útvonalon keresztül apoptotikus sejthalált indukál (27). Mivel az általunk használt B16F10 melanóma-sejtvonalban a p53 funkcionális, ezért megvizsgáltuk, hogy az mEHT hogyan befolyásolja a p53 aktivációját. A p53-státuszt a kezelést követően 24 órával immuncitokémiával vizsgáltuk. Az 5. ábrán látható, hogy a kezelés a p53 nukleáris transzlokációját idézte elő.

Kemoterápiával kombinált hipertermia additív sejtpusztító hatása

A következőkben megvizsgáltuk, hogy az mEHT hogyan befolyásolja három, a sejtpusztulást különböző útvonalon indukáló citosztatikum hatását. Ezek közül a dakarbazin és a paklitaxel a klinikumban rutinszerűen alkalmazott kemoterápiás szer,



6. ÁBRA. Kemoterápia sejtpusztító hatásának növelése hipertermiával. Kombinált protokollban 60 perces mEHT-kezelést követően a sejteket dakarbazinnal (DTIC, 40 µM), paklitaxellel (PAC, 40 nM) és nutlinnal (NUT, 10 µM) kezeltük. Sejtéletképesség mérése 48 órával a hipertermiás kezelést követően (N=5, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ****p<0,0001, kétutas ANOVA, Sidak-féle *post hoc* teszt)

a nutlin-3a-t egyelőre csak preklinikai kísérletekben vizsgálják. A 60 perces hipertermiás kezelést követően a sejteket 48 órával kezeltük citosztatikummal, majd sejtéletképességet mértünk (6. ábra). A dakarbazin, mely metiláló citosztatikum, önálló kezelésként nem fejtett ki hatást, azonban mEHT-vel kombinálva sejtpusztulást eredményezett (p=0,007 DTIC +

mEHT vs. DTIC). A paklitaxellel történő kezelés esetében, ami a hatását sejtosztódáskor fejt ki a mikrotubuláris rendszer működésének gátlásával, a hipertermia nem befolyásolta a hatékonyságot. A nutlin-3a, mely MDM2-antagonistaként, p53-aktiváció révén fejt ki hatását, önmagában is jelentősen csökkentette a sejtleletképeséget, mely hatást az mEHT szignifikánsan fokozta [6. ábra].

DISZKUSSZIÓ

A bemutatott eredmények alapján elmondható, hogy az mEHT HSP70-stresszválaszt indukál a B16F10 egér melanóma sejtvonalban, amit a HSP70 mRNS- és fehérjeszintű expressziójának detektálásával jellemeztünk. Hasonló eredményről számoltunk be egy nemrég megjelent tanulmányban is, ahol *in vivo* kísérleti körülmények között teszteltük az mEHT szerepét a primer melanóma növekedésének gátlásában. Ebben az esetben a HSP70-expressziót biomarkerként, a kezelési protokoll optimalizálására is használtuk, ugyanis az intracelluláris, antiapoptotikus HSP70 szintjének függvényében ismételtük a kezeléseket [26].

Az mEHT tumorpusztító hatása részben direkt (tumor-sejtek apoptózisa), részben indirekt (tumorellenes immun-aktiváció) mechanizmusoknak tulajdonítható [12, 22]. Az apoptózis kulcsregulátora a p53 fehérje, ami számos tumortípusban különböző mutációs ráta következtében inaktív, a melanómák zömében viszont a vad típusú fehérje van jelen, ami a megfelelő ágensekkel aktiválható. Az aktiváció erősségének és időtartamának függvényében vagy sejtciklusleállítás, vagy sejthalál következik be. Bizonyítottuk, hogy a B16F10 melanóma-sejtvonalban az mEHT aktiválja a p53-at és indukálja a nukleáris transzlokációt, amit a továbbiakban a sejtciklusleállásért felelős p21 mRNS-exp-

ressziójának emelkedésével is megerősítettünk [26]. Bár a sejtcikluseloszlást nem vizsgáltuk, az immuncitokémiai festés, életképességi vizsgálat és az apoptózis mértéke alapján arra következtettünk, hogy a sejtek többségében a kezelés hatására dóziszfüggő, p21 mediálta sejtciklusleállítás és szeneszcencia következett be. Hasonló eredményről számoltak be Vancsik és mtsai is [22], akik a C26 kolorektális adenokarcinóma sejtvonalban detektálták a foszforilált p53-formát az mEHT-kezelést követően, ami p21-expressziót és sejtciklusleállást indukált.

Az általunk leírt *in vivo* kísérleti modellben szintén azt az eredményt kaptuk, hogy bár többszöri, de csak monoterápiában alkalmazott mEHT-kezelésben a p53-aktiváció ellenére (az acetilált p53 szintje szignifikánsan magasabb volt a kezelt tumorokban) elhanyagolható volt a sejtpusztulás, úgy a kaspázfüggő, mint a kaspázfüggetlen, AIF-közvetített, azonban a megemelkedett p21 hatására markánsan megnőtt a szeneszcens sejtek aránya, ami végül a tumornövekedés gátlását eredményezte [26].

A továbbiakban a kombinált terápia citotoxikus hatását vizsgáltuk. Több tanulmány is beszámol arról, hogy az mEHT fokozza a sejtek doxorubicinfelvételét és szinergikus citotoxikus hatást eredményez *in vitro* és *in vivo* körülmények között egyaránt [23, 28]. Mi azt tapasztaltuk, hogy az mEHT a citosztatikum hatásmechanizmusának függvényében befolyásolta a sejtpusztulást. Míg a dakarbazin csak mEHT-kezelést követően érvényesült, a p53-aktiváló nutlin-3a hatását additív módon fokozta, a paklitaxel hatását egyáltalán nem befolyásolta. Eredményeink alapján azt a következtetést vonjuk le, hogy a modulált elektro-hipertermia növelheti a kemoterápia hatásfokát, ezáltal növelve a betegek túlélési arányát.

IRODALOM

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 144:1941–1953, 2019
2. Apalla Z, Lallas A, Sotiriou E, et al. Epidemiological trends in skin cancer. *Dermatol Pract Concept* 7:1–6, 2017
3. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol* 9:239–271, 2014
4. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417:949–954, 2002
5. Lugowska I, Teterycz P, Rutkowski P. Immunotherapy of melanoma. *Contemp Oncol (Pozn)* 22:61–67, 2018
6. Phan GQ, Yang JC, Sherry RM, et al. Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:8372–8377, 2003
7. Ribas A, Camacho LH, Lopez-Berestein G, et al. Antitumor activity in melanoma and anti-self responses in a phase I trial with the anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody CP-675,206. *J Clin Oncol* 23:8968–8977, 2005
8. Hodi FS, Mihm MC, Soiffer RJ, et al. Biologic activity of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 antibody blockade in previously vaccinated metastatic melanoma and ovarian carcinoma patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:4712–4717, 2003
9. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12:252–264, 2012
10. Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol Cell Biol* 25:9543–9553, 2005
11. Roussakow SV. Clinical and economic evaluation of modulated electrohyperthermia concurrent to dose-dense temozolomide 21/28 days regimen in the treatment of recurrent glioblastoma: a retrospective analysis of a two-centre German cohort trial with systematic comparison and effect-to-treatment analysis. *BMJ Open* 7:e017387, 2017
12. Andocs G, Szasz O, Szasz A. Oncothermia treatment of cancer: from the laboratory to clinic. *Electromagn Biol Med* 28:148–165, 2009
13. Kim W, Kim MS, Kim HJ, et al. Role of HIF-1 α in response of tumors to a combination of hyperthermia and radiation *in vivo*. *Int J Hyperthermia* 34:276–283, 2018
14. Kleef R, Moss R, Szasz AM, et al. Complete clinical remission of stage IV triple-negative breast cancer lung metastasis administering low-dose im-

mune checkpoint blockade in combination with hyperthermia and interleukin-2. *Integr Cancer Ther* 17:1297–1303, 2018

15. Lee SY, Lee NR, Cho DH, et al. Treatment outcome analysis of chemotherapy combined with modulated electro-hyperthermia compared with chemotherapy alone for recurrent cervical cancer, following irradiation. *Oncol Lett* 14:73–78, 2017

16. Morimoto T, Kimura S, Konishi Y, et al. A study of the electrical bio-impedance of tumors. *J Invest Surg* 6:25–32, 1993

17. Szasz A, Szasz N, Szasz O. *Oncothermia: Principles and Practices*. 2011

18. Khramtsov VV, Gillies RJ. Janus-faced tumor microenvironment and redox. *Antioxid Redox Signal* 21:723–729, 2014

19. Romero-Garcia S, Moreno-Altamirano MM, Prado-Garcia H, et al. Lactate contribution to the tumor microenvironment: mechanisms, effects on immune cells and therapeutic relevance. *Front Immunol* 7:52, 2016

20. Zou Y, Guo Z. A review of electrical impedance techniques for breast cancer detection. *Med Eng Phys* 25:79–90, 2003

21. Meggyeshazi N, Andocs G, Balogh L, et al. DNA fragmentation and caspase-independent programmed cell death by modulated electrohyperthermia. *Strahlenther Onkol* 190:815–822, 2014

22. Vancsik T, Kovago C, Kiss E, et al. Modulated electro-hyperthermia induced loco-regional and systemic tumor destruction in colorectal cancer allografts. *J Cancer* 9:41–53, 2018

23. Vancsik T, Forika G, Balogh A, et al. Modulated electro-hyperthermia induced p53 driven apoptosis and cell cycle arrest additively support doxorubicin chemotherapy of colorectal cancer in vitro. *Cancer Med* 8:4292–4303, 2019

24. Cha J, Jeon TW, Lee CG, et al. Electro-hyperthermia inhibits glioma tumorigenicity through the induction of E2F1-mediated apoptosis. *Int J Hyperthermia* 31:784–792, 2015

25. Tsang YW, Huang CC, Yang KL, et al. Improving immunological tumor microenvironment using electro-hyperthermia followed by dendritic cell immunotherapy. *BMC Cancer* 15:708, 2015

26. Besztercei B, Vancsik T, Benedek A, et al. Stress-induced, p53-mediated tumor growth inhibition of melanoma by modulated electrohyperthermia in mouse models without major immunogenic effects. *Int J Mol Sci* 20: pii: E4019, 2019

27. Oei AL, van Leeuwen CM, ten Cate R, et al. Hyperthermia selectively targets human papillomavirus in cervical tumors via p53-dependent apoptosis. *Cancer Res* 75:5120–5129, 2015

28. Tsang YW, Chi KH, Huang CC, et al. Modulated electro-hyperthermia-enhanced liposomal drug uptake by cancer cells. *Int J Nanomedicine* 14:1269–1279, 2019

HIRDETMÉNY

A Magyar Onkológusok Társasága® (MOT®) – az Elnökség útján – díjat tűz ki

a hivatalos lapjában, a **Magyar Onkológia** folyóiratban 2020. évben megjelent tudományos közlemények szerzőinek jutalmazására.

A díjazás célja:

az orvosi és tudományos tevékenység, kutatás elősegítése érdekében készült magas színvonalú publikációk elismerése

A díjazás három kategóriában történik:

1. „a legjobb eredeti” közlemény • 2. „a legjobb áttekintő” közlemény • 3. „közönségdíjas” közlemény

A díjazás összege:

Mindhárom kategóriában azonos, kategóriánként 300 000 forint.

A díjazás, az elbírálás és az eredményhirdetés feltételei, módja:

- díjazásban a 2020. évben, a Magyar Onkológia négy lapszámában megjelent publikációk részesíthetők
- a bírálók köre, az elbírálás módja:
 - az 1. és 2. kategóriában a Magyar Onkológia szerkesztőbizottsága által, a 3. kategória esetében a közlemények internetes letöltésszáma (látogatottság) alapján, a Magyar Onkológusok Társasága® Elnöksége által
- az elbírálás határideje valamennyi kategóriában: 2021. szeptember 30.
- az eredményt a MOT® a Magyar Onkológia 2021. évi 4. számában a meghirdetéssel azonos módon nyilvánosságra hozza, továbbá a MOT® a nyerteseket külön, írásban is értesíti az elbírálási határidő leteltét követő 15 napon belül
- a pályázati felhívás és az eredményhirdetés a MOT® honlapján is közzétételre kerül

Budapest, 2021. február 10.

Dr. Horváth Zsolt a MOT® elnöke

Prof. Dr. Nagy Péter, a MOT® főtktára

Dr. Vincze Borbála, a MOT® kincstárnoka

Prof. Dr. Tímár József, a Magyar Onkológia főszerkesztője

