

**OTKA K72836****Dr. Ladányi Andrea**

## **AKTIVÁLT T-LIMFOCITÁK, DENDRITIKUS SEJTEK ÉS IMMUNREGULÁLÓ MECHANIZMUSOK KIMUTATÁSA MELANÓMÁS ÉS FEJ-NYAKI DAGANATOS BETEGEK ŐRSZEMNYIROKCSOMÓIBAN, ILLETVE A PRIMER DAGANATBAN - KLINIKAI JELENTŐSÉG ÉS IMMUNTERÁPIAI VONATKOZÁSOK**

### *Melanómás betegek őrszemnyirokcsomói immunsejtprofiljának elemzése*

Az őrszemnyirokcsomó (sentinel lymph node, SLN) – a primer tumort drenáló első nyirokcsomó – a korai áttétképzés preferenciálisan érintett helye. Melanóma és emlőrák esetén eltávolítása és patológiai vizsgálata a dagnat rutin ellátásának részét képezi, és fontos szerepe van a stádium, illetve a prognózis meghatározásában és a terápiás terv felállításában (1, 2). Ezen túl azonban az őrszemnyirokcsomónak a daganatok elleni immunválasz kialakulása szempontjából is kiemelt jelentőséget tulajdonítanak, minthogy a tumorantigének peptidfragmentumait hordozó antigénprezentáló sejtek itt találkoznak a megfelelő antigéneket felismerő T-limfocitákkal. A szentinel nyirokcsomók immunológiai sajátosságait ennek ellenére viszonylag kevesen tanulmányozták, ráadásul egymástól eléggé eltérő eredménnyel és következtetésekkel. Az ezzel a témával foglalkozó kutatók egy csoportjának meggyőződése szerint – mely az SLN immunstátusa tekintetében az uralkodó nézetté, szinte dogmává vált – az őrszemnyirokcsomók immunológiai aktivitását gátolják a primer tumorból származó immunszuppresszív anyagok. E vélekedés alapja az a megfigyelés, miszerint a szentinel nyirokcsomókban alacsonyabb a dendritikus sejtek (DC) és T-limfociták mennyisége, illetve aktiváltsági állapota a nem-szentinel csomókhoz vagy nem tumoros betegek kontroll nyirokcsomóihoz viszonyítva (3, 4). Más vizsgálatok azonban nem találtak ilyen különbséget, vagy ezzel ellentétes eredményre jutottak (5, 6). Az eltérő eredmények háttérében részint a nem kielégítő (több esetben 20 alatti) mintaszám állhat, másrészt az, hogy nem minden vizsgálatban különböztették meg az értékelésben az áttétes és a tumormentes nyirokcsomókat, ami megnehezíti az adatok összehasonlítását és megbízható következtetés levonását. Az őrszemnyirokcsomók immunológiai jellemzőinek prognosztikai alkalmazhatóságát is kevés tanulmány elemezte (7-9).

Vizsgálataink fő célja melanómás betegek őrszemnyirokcsomói egyes immunológiai paramétereinek meghatározása volt, ezeket két fontos szempontból elemezve: 1) összehasonlítás a betegek egy csoportjából származó nem-szentinel nyirokcsomókkal (NSLN); 2) annak megállapítása, hogy a vizsgált SLN-immunjellemzők alkalmasak-e a betegség kimenetelének előrejelzésére. A vizsgálatokban 60 melanómás beteg 100 szentinel nyirokcsomójának archivált szövetmintáját dolgoztuk fel. Az SLN-NSLN összehasonlításhoz a fenti betegek közül 7 esetében rendelkezésre álltak blokkdisszekcióból származó nem-szentinel nyirokcsomók mintái is (n=37). Immunhisztokémiai módszerrel határoztuk meg olyan immunsejt-típusok jelenlétét, melyek alapján a nyirokcsomók immunológiai kompetenciájára lehet következtetni.

Immunaktivitással kapcsolatos markerek:

- DC-LAMP (érett dendritikus sejtek markere)
- CD83 (érett dendritikus sejtek markere)
- CD25 (T-sejtaktivációs marker, IL-2 receptor  $\alpha$ )
- OX40 (frissen aktivált T-limfocita-alcsoporton expresszálandó kostimulációs molekula)
- NKp46 (NK-sejtek legspecifikusabbnak tartott markere)

Immunszuppresszióra utaló markerek:

- CD123 (plazmacitoid dendritikus sejtek, pDC – az utóbbi évek kutatásai szerint az immungátló hatásuk dominál)

- FOXP3 (regulátor T-sejtek nem 100%-ban specifikus, de jelenleg legjobbnak tartott markere)
- IDO (indolamin-2,3-dioxigenáz, immunszuppresszív hatású enzim, amelyet egyes DC-alcsoportok mellett tumorsejtek is termelnek)

A fenti markerek közül az összes mintára vonatkozóan kvantitatív elemzést a DC-LAMP, OX40, CD123 és FOXP3 esetében végeztünk. Az érett dendritikus sejtek két markere (CD83 és DC-LAMP) közül technikai okból, az immunreakciók jobb értékelhetősége miatt az első 20-25 minta feldolgozása után a DC-LAMP-ot választottuk ki a további elemzés céljára. A két T-sejtaktivációs marker (CD25 és OX40) közül hasonló szempontok miatt (valamint azért, mert a CD25 a regulátor T-sejteken is konstitutívan kifejeződik) az OX40-reakciók kvantitatív elemzését végeztük el minden mintán. Az NKp46-ot felismerő, általunk kipróbált ellenanyag a nyirokcsomókban (n=106) – ellentétben a párhuzamosan vizsgált primer fej-nyaki daganatokkal – az NK-sejtek mellett, nem specifikus módon egyéb sejteken (morfológiai jellemzőik alapján hízósejteken) is festődést mutatott, ami megnehezítette a reakciók megbízható kiértékelését. Az indolamin-2,3-dioxigenáz (IDO) kimutatását 47 őrszemnyirokcsomón végeztük el; a morfológiai kép alapján a jelölt sejtek egy része valószínűleg makrofág, illetve dendritikus sejt, de az SLN-minták jelentős részében eozinofil granulociták és hízósejtek is jelölődtek. A többféle jelölt sejtípus ebben az esetben is megnehezítette a kiértékelést, ezért lemondunk a részletes elemzésről.

A kvantitatívan is értékelt négy marker esetében a jelölt sejtek sűrűségét összehasonlítottuk szentinel és nem-szentinel nyirokcsomókban, illetve a metasztázist hordozó és tumormentes SLN-ekben, továbbá kiszámítottuk minden betegre vonatkozóan az egyes nyirokcsomókban meghatározott értékek átlagát és ezeket elemeztük a daganatprogresszió és a betegek túlélése függvényében (10). A négy vizsgált sejtípus közül a FOXP3<sup>+</sup> T-limfociták (túlnyomó többségben feltehetően regulátor T-sejtek) fordultak elő legnagyobb számban az őrszemnyirokcsomókban (átlag±SD: 2003±720 sejt/mm<sup>2</sup>), ezt követték a DC-LAMP<sup>+</sup> érett dendritikus sejtek (938±280 sejt/mm<sup>2</sup>), majd a CD123<sup>+</sup> plazmacitoid DC-k (650±434 sejt/mm<sup>2</sup>), míg a legkisebb mennyiségben az OX40<sup>+</sup> aktivált T-limfociták voltak jelen (100±68 sejt/mm<sup>2</sup>). Amennyiben a tumor-pozitív és -negatív nyirokcsomókat együttesen értékeltük, mindegyik sejtípus denzitása nagyobbak adódott a szentinel-, mint a nem-szentinel nyirokcsomókban. Csak a tumormentes nyirokcsomókat figyelembe véve ugyanezt a tendenciát tapasztaltuk, bár kevésbé szignifikáns különbségekkel. A tumor-pozitív (n=31) és tumormentes (n=69) őrszemnyirokcsomók összehasonlítása csak az OX40 marker esetében tárt fel szignifikáns különbséget, mely nagyobb átlagdenzitást mutatott a metasztázist hordozó SLN-ekben (10).

Kaplan-Meier analízissel vizsgálva a jelölt sejtek denzitásának kapcsolatát a betegek túlélésével, az SLN-ekben magas átlagos FOXP3<sup>+</sup>-sejtszámot mutató betegek progressziómentes- és teljes túlélése szignifikánsan rövidebbnek adódott az alacsony sejtdenzitással jellemzett esetekhez viszonyítva (p=0,0203 ill. p=0,0238). Külön-külön elemezve az SLN-pozitív és SLN-negatív betegeket kiderült, hogy a különbség teljes egészében a szentinel-pozitív esetekben tapasztalható, igen nagy mérvű eltéréstől adódik (p=0,0011 és p=0,0014 a progressziómentes- és teljes túlélésnél), míg a tumormentes SLN-nel rendelkező betegek esetében az átlagos SLN-denzitás nem függött össze a túléléssel (p=0,5835 ill. p=0,2885). A többi vizsgált immunsejtípus mennyisége nem mutatott szignifikáns korrelációt a túlélési mutatókkal. Az őrszemnyirokcsomókban az immunsejtek átlagos denzitásának prognosztikai értékét Cox regressziós analízissel is értékeltük, más klinikopatológiai tényezőkkel együtt (a tumor vastagsága, elhelyezkedése, szövettani típusa és ulcerációja, az SLN-státus, valamint a beteg kora és neme). Mind egyváltozós, mind többváltozós analízist alkalmazva, a teljes betegcsoportban, illetve az SLN-negatív betegeknél a vizsgált immunsejtípusok mennyisége nem mutatott kapcsolatot a túléléssel, a szentinel-pozitív esetekben azonban szignifikáns vagy közel szignifikáns negatív korrelációt találtunk a FOXP3<sup>+</sup> limfociták átlagos denzitása és a progressziómentes- illetve teljes túlélés között (10).

Az archív anyagokon (a rutin patológiai diagnózis céljából készített, formalinban rögzített, paraffinba ágyazott szövetblokkok metszetein) végzett immunhisztokémiai analízis mellett terveztük a műtét után az

őrszemnyirokcsomókból frissen nyert sejtszuspenziókban a vizsgált immunsejt-típusok, illetve ezek egyes markereinek áramlási citometriával történő kimutatását. E célból megkíséreltük – egy korábbi közlemény (11) technikájának módosításával – a nyirokcsomókból való sejtkinyerést optimalizálni úgy, hogy az a diagnosztikai célú feldolgozást ne veszélyeztesse. Hét beteg SLN-jéből nyert sejtszuspenzió feldolgozása alapján a kinyert sejtek száma átlagosan 1,7 millió volt. A sejtszuspenziókban áramlási citometria segítségével kettős jelöléssel meghatároztuk az aktivációs és regulátor T-sejt-markereket hordozó T-limfocita-altípusok, illetve kostimulátor molekulákat kifejező dendritikus sejtek mennyiségét a következő markereket felsimerő ellenanyagok alkalmazásával: CD4, CD8, CD25, FOXP3, CD1a, CD123, CD80 és CD86. Az alacsony sejtszám miatt nem minden kísérletben tudtuk minden marker elemzését elvégezni, de sajnos még így is kevésnek bizonyult a mintákban a sejtek mennyisége a kettős jelölések megbízható értékeléséhez. A kísérletre felhasználható sejtek mennyiségét korlátozta, hogy a mintavételben részt vevő patológusok – természetesen – csak addig folytatták a sejtkinyerési eljárást, amíg biztosak voltak benne, hogy azzal nem korlátozzák a biztonságos diagnózis lehetőségét, mely gyakorlatilag a teljes nyirokcsomó sorozatmetszéssel történő feldolgozását igényli (2).

### ***Őrszemnyirokcsomó-biopszia fej-nyaki daganatos betegekben***

A melanóma SLN-eken vizsgált immunmarkereket fej-nyaki daganatos betegek őrszemnyirokcsomó-mintáin is terveztük vizsgálni. E daganattípus esetében ugyan a szentinelnyirokcsomó-biopszia nem rutineljárás, de intézetünk részt vesz egy, a technika hasznosíthatóságát elemző klinikai vizsgálatban, ami felvetette a fej-nyaki daganatos betegek SLN-jei vizsgálatának lehetőségét. A pályázat ideje alatt azonban igen kevés (n=12) esetben végeztek csak e betegcsoporton őrszemnyirokcsomó-biopsziát, amit túl kevésnek ítéltünk ahhoz, hogy az immunsejtek mennyiségi vizsgálatával statisztikailag értékelhető eredményeket nyerjünk.

### ***Primer melanómát infiltráló immunsejtek prognosztikai jelentősége***

A korábban általunk nem alkalmazott ellenanyagok közül a regulátor T-limfocitákban kifejeződő FOXP3-at felismerő antitest vizsgálatát először primer melanóma mintákon végeztük el, és – minthogy e sejtek infiltrációjának prognosztikai analiziséről nem volt melanómára vonatkozó adat az irodalomban – elemeztük mennyiségük összefüggését a beteg- és tumorparaméterekkel, valamint a betegség kimenetelével. A magi FOXP3-festődést mutató limfociták denzitását külön-külön értékeltük a melanóma-sejtfészkeken belül (intratumorálisan) és ezek körül (peritumorálisan), valamint metszetenként a 3 legnagyobb denzitást mutató területen a pozitív sejtek arányát is meghatároztuk. A FOXP3<sup>+</sup> limfociták peritumorális infiltrációja megközelítően 6-szorosan felülmúlta az intratumorális denzitást; a teljes betegcsoportra nézve a legsűrűbben infiltrált területeken a pozitív sejtek átlagos aránya 11,9% volt. Egyik paraméter sem mutatott szignifikáns korrelációt a melanómák vastagságával, vagy bármely más vizsgált klinikopatológiai jellemzővel (a betegek kora, neme, a tumor elhelyezkedése, szövettani típusa, illetve ulceráltsága). Nem találtunk összefüggést továbbá az 5 éves követési idő alatt bekövetkező áttétképzéssel és a betegek túlélésével sem. Összefoglalva, csaknem 100 mintára kiterjedő vizsgálatunk alapján a FOXP3<sup>+</sup> limfociták denzitása primer melanómában nem hozható kapcsolatba a beteg- és tumorparaméterekkel és nincs prognosztikai értéke (12, 13).

Az utóbbi években több tanulmány látott napvilágot a B-limfociták immunválaszt gátló, tumorprogressziót elősegítő hatásáról (14, 15), ugyanakkor ennek ellenkezőjére is vannak bizonyítékok (16). Az ellentmondásos eredmények háttérében a B-sejtek funkcionális komplexitása állhat: antitesttermelő képességük mellett hatékony antigénprezentáló sejtként is működnek és szabályozó funkciót is ellátnak (17). A tumorinfiltráló B-sejtek klinikai jelentőségét igen kevés daganattípus esetében elemezték. Minthogy – többek között – a malignus melanómáról sem volt ilyen adat ismert, megvizsgáltuk a B-limfociták infiltrációjának a beteg- és tumorjellezőkkel való összefüggéseit és prognosztikai jelentőségét 106 primer melanóma-mintán, a CD20 marker immunhisztokémiai kimutatása alapján (18). A B-sejtek infiltrációja a daganatok vastagságával nem korrelált, azonban – mind intra-, mind peritumorális lokalizációban – szignifikánsan nagyobb mértékű volt

azokban a melanómákban, amelyek az 5 éves követési idő során nem, vagy csak nyirokcsomóáttétet adtak, mint a zsigeri áttétet is adó tumorokban. Ennek megfelelően a jelentős B-sejtdenzitás túlélési előnnyel is járt. A tumorinfiltráló B-sejtek mennyisége korrelációt mutatott az aktivált (CD25<sup>+</sup> ill. OX40<sup>+</sup>) T-limfociták számával, és kettős jelöléssel e sejtek kolokalizációját mutattuk ki. A két sejttípus együttes vizsgálatával elkülöníthető beteg-alcsoportokban a betegség kimenetele különböző volt: legkedvezőbb a B-sejtek és aktivált T-sejtek magas denzitása, míg legkedvezőtlenebb mindkét sejttípus alacsony sűrűsége esetén. A CD20<sup>+</sup>/OX40<sup>+</sup> kombináció Cox regressziós analízisben a túlélés független kórjósító tényezőjének bizonyult **(13, 18)**.

A peritumorális lokalizációjú B-limfociták legnagyobb része a melanóma-sejtfészkeket körülvevő stromában elszórtan helyezkedett el, a minták kb. negyedrésszében azonban folliculuszerű aggregátumokba való csoportosulásuk is megfigyelhető volt, általában T-sejtcsoporthoz asszociáltnak **(18)**. E megfigyelésnek jelentősége lehet annak fényében, hogy újabb vizsgálatok felhívták a figyelmet egyes daganatfajták esetében hasonló, ektópiás nyirokcsomókra emlékeztető struktúrára, melyek egy részében csíráközpontra jellemzően folliculáris dendritikus sejtek hálózata is megfigyelhető volt (19, 20). E struktúrák megfigyelhetőek melanómaáttétekben is (21-23), de primer melanóma esetében egy – kis esetszámú – tanulmányban nem sikerült a jelenlétüket kimutatni (21). Kiterjesztettük ezért a vizsgálatokat újabb esetek bevonásával és a nyirokstruktúrák sejtes elemeinek immunhisztokémiai jellemzésével. Összességében 147 primer melanómából 39 esetben (27%) találtunk CD20<sup>+</sup> B-sejttaggregátumokat, CD3<sup>+</sup> T-limfocitákhoz társultan, melyek többsége CD45RO<sup>+</sup> memória T-sejt volt. CD21<sup>+</sup> folliculáris DC-eket 22 vizsgált, denz B-sejttaggregátumot tartalmazó mintából 8 esetben (36%) sikerült kimutatni. Eredményeink azt igazolják, hogy ektópiás limfoid struktúrák – bár az áttétekben megfigyeltekhez (21) viszonyítva kisebb gyakorisággal – primer melanómában is megtalálhatóak. Klinikai jelentőségük azonban nem tisztázott; vizsgálatunk nem mutattak összefüggést jelenlétük és a betegség kimenetele között, bár vastagabb daganatok esetén emelkedett gyakoriságot találtunk **(18, 24)**.

#### ***Immensejtek infiltrációja leukocita-interleukinnal kezelt szájüregi laphámrákokban***

A projektben foglalt másik daganatcsoport, a szájüregi laphámrákokban 101 tumormintán (81 műtéti anyag ill. 20 biopszia) vizsgáltuk – korábbi tanulmányunkban (25) nem szereplő – immensejttípusok: DC-LAMP<sup>+</sup> érett dendritikus sejtek, FOXP3<sup>+</sup> T-limfociták (túlnyomó többségben regulátor T-sejtek) és NKp46<sup>+</sup> NK-sejtek infiltrációját. A 2001-2002-ben végzett prospektív fázis II neoadjuváns leukocita-interleukin klinikai kísérletben részt vevő betegek kezelés utáni sebészi mintáiban (n=16) a DC-LAMP<sup>+</sup> érett dendritikus sejtek mennyiségét a korábbi tanulmányunkba bevont, a műtét előtt kezelésben nem részesült kontrollokhoz (n=18) viszonyítva magasabbnak találtuk, azonban a különbség nagyobb számú, hasonló stádiumú kontroll eset bevonása után (n=56) már nem volt kimutatható. Nem találtunk különbséget továbbá a kezelt és kezeletlen tumorok között a FOXP3<sup>+</sup> regulátor T-sejtek mennyiségében sem. Az NK-marker NKp46 kimutatására végzett immunhisztokémiai reakciók értékelése ezzel szemben a műtét előtt interleukinnal kezelt tumorok esetében fokozott NK-sejtinfiltrációt mutatott (az 5 legnagyobb denzitást mutató területen átlag±SD: 181±98 vs. 114±66 sejt/mm<sup>2</sup>; p=0,0002). Az eredmények teljes statisztikai kiértékelése és közlemény elkészítése folyamatban van.

#### ***Az NK-sejtek szerepe a melanóma progressziójában kísérletes rendszerben***

Az NK-sejtek aktivitásának szerepe a melanóma áttétképzésében nem volt tervezett része a projektnek. Egy korábbi, a melanóma progressziójának kísérleti rendszerben tapasztalt, az állat nemétől függő eltérése okainak felkutatására irányuló vizsgálat sorozatunk újabb eredményei vezettek arra a meggyőződésre, hogy a hím egerekben megfigyelt fokozott áttétképző képesség (26) hátterében a természetes védekezőrendszer hatása állhat. Erre utalt az, hogy az immunhiányos SCID egerekben tapasztalt nemek közötti különbség az NK-aktivitásra nézve is deficiens NSG törzsben nem jelent meg. A feltételezés igazolására az NK-aktivitást

blokkoló anti-aszialo-GM1 antitesttel előkezelt SCID egerekben vizsgáltuk meg egy fokozott májkolonizációs képességre szelektált emberi melanóma-sejtvonal, a HT168-M1 (27) kolóniaképzését. Az NK-gátló szer jóval nagyobb mértékű áttétszám-növekedést okozott nőstény egerekben a hímekhez viszonyítva, és in vitro tesztben a nőstény állatok lépsejtjei erősebb citotoxicitási aktivitást mutattak a melanómasejtek ellen (28).

### *A kutatás eredményeiből levonható legfontosabb következtetések*

1. A melanómás betegek szentinel nyirokcsomóiban a négy kvantitatívan elemzett immunmarker (OX40, FOXP3, DC-LAMP, CD123) megjelenése magasabb vagy hasonló szintű volt a blokkdisszekcióból származó nem-szentinel nyirokcsomókhoz viszonyítva. Ez a trend az immunaktivációra utaló markerek (OX40 – aktivált T-limfociták, DC-LAMP – érett dendritikus sejtek) esetében is megfigyelhető volt, ami az őrszemnyirokcsomók immunológiai kompetenciáját támasztja alá. Ugyanakkor ezzel egyidejűleg immunszuppresszió jelei is tapasztalhatóak: a FOXP3<sup>+</sup> (feltehetően nagyrészt regulátor) T-sejtek a vizsgált immunsejttípusok közül a legnagyobb mennyiségben fordultak elő.
2. Pozitív SLN-státus esetén a FOXP3<sup>+</sup> sejtek magas átlagos denzitása a betegség progressziójával és rövidebb túléléssel járt, nem mutatott azonban összefüggést a betegség kimenetelével SLN-negatív esetekben. Az eredmények egyik lehetséges magyarázata, hogy a tumorsejtek jelenléte a nyirokcsomókban (nem túl nagy tumortömeg esetén) elősegíti az ellenük irányuló immunreakció kialakulását, és ebben a fokozott immunaktivitású közegben jobban érvényesül a regulátor T-sejtek gátló hatása. A primer tumort infiltráló FOXP3<sup>+</sup> limfociták mennyisége ugyanakkor nem bizonyult prognosztikus értékűnek.
3. A három másik vizsgált markert (OX40, DC-LAMP, CD123) hordozó immunsejtek denzitása az őrszemnyirokcsomókban nem mutatott szignifikáns összefüggést a daganatprogresszióval vagy a betegek túlélésével. Korábbi vizsgálataink ezzel szemben a primer melanómát infiltráló aktivált T-limfociták (CD25<sup>+</sup> ill. OX40<sup>+</sup>) és érett dendritikus sejtek (DC-LAMP<sup>+</sup>) prognosztikai jelentőségét támasztották alá (29, 30). Együttesen ezek az eredmények arra utalnak, hogy az immunaktivációval kapcsolatba hozható markerek megjelenése a primer tumorban erősebben befolyásolja a betegség kimenetelét, mint ugyanezen markerek prevalenciája az őrszemnyirokcsomókban. Megfigyeléseink ugyanakkor összhangban vannak azokkal az újabb keletű tanulmányokkal, melyek szerint a daganatellenes immunreakciók kialakulásának kezdeti fázisa nemcsak a drenáló nyirokcsomókban, hanem extranodálisan, a tumor területén is végbemehet (31).
4. A primer melanómákat infiltráló B-limfociták magas denzitása önmagában, illetve az aktivált T-sejtek nagy mennyiségével együttesen a betegség kedvező kimenetelével mutatott összefüggést. A két sejttípus kolokalizációja, mennyiségük korrelációja és együttes előfordulásuk prognosztikai hatása hasonló volt, mint amit korábban dendritikus sejtek és aktivált T-limfociták vizsgálata során tapasztaltunk (29, 30). Feltételezhető, hogy B-sejtek is – legalábbis részben – antigénprezentáló funkciójuk révén segíthetik a tumorelles immunválasz kialakulását.
5. Az egyes immunsejt-típusok daganatprogressziót befolyásoló hatása kísérletes rendszerben is tanulmányozható. Emberi melanómasejtek immunszupprimált egerekbe oltásával kialakított kísérleti modellben igazoltuk, hogy a korábban megfigyelt, nemek közötti májkolonizációs különbség hátterében – legalábbis részben – az NK-sejteknek a melanómasejtek ellen mutatott eltérő citotoxikus aktivitása állhat.

Eredményeink jelentőségét egyrészt abban látjuk, hogy hozzájárulnak a daganatellenes immunválasz kialakulásában részt vevő sejttípusok szerepének feltárásához, valamint annak tisztázásához, hogy a primer

tumor és az őrszemnyirokcsomók immunjellemzői hogyan befolyásolják a betegség kimenetelét. A kutatások emellett segítenek olyan biomarkerek kiválasztásában, melyek prognosztikus faktorként, illetve immunterápiás kezelések célpontjaiként és az e kezelésmódok hatásosságát megjósoló prediktív markerként is alkalmazhatók (32).

### *Irodalom*

1. Balch CM, Gershenwald JE, Soong S-J, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 27:6199–6206, 2009
2. **Plótár V, Liskay G, Ladányi A, Tóth E. Az új TNM-klasszifikáció (AJCC, 2009) és az őrszemnyirokcsomó-biopszia patológiai jelentősége. *Magy Onkol* 57, 2013 (nyomdában)**
3. Cochran AJ, Morton DL, Stern S, et al. Sentinel lymph nodes show profound downregulation of antigen-presenting cells of the paracortex: implications for tumor biology and treatment. *Mod Pathol* 14:604–608, 2001
4. Mansfield AS, Holtan SG, Grotz TE, et al. Regional immunity in melanoma: immunosuppressive changes precede nodal metastasis. *Mod Pathol* 24:487–494, 2011
5. Botella-Estrada R, Dasi F, Ramos D, et al. Cytokine expression and dendritic cell density in melanoma sentinel nodes. *Melanoma Res* 15:99–106, 2005
6. Poindexter NJ, Sahin A, Hunt KK, Grimm EA. Analysis of dendritic cells in tumor-free and tumor-containing sentinel lymph nodes from patients with breast cancer. *Breast Cancer Res* 6:R408–415, 2004
7. Cochran AJ, Wen DR, Huang RR, et al. Prediction of metastatic melanoma in nonsentinel nodes and clinical outcome based on the primary melanoma and the sentinel node. *Mod Pathol* 17:747–755, 2004
8. Elliott B, Scolyer RA, Suci S, et al. Long-term protective effect of mature DC-LAMP<sup>+</sup> dendritic cell accumulation in sentinel lymph nodes containing micrometastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 13:3825–3830, 2007
9. Speeckaert R, Vermaelen K, van Geel N, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase, a new prognostic marker in sentinel lymph nodes of melanoma patients. *Eur J Cancer* 48:2004–2011, 2011
10. **Mohos A, Sebestyén T, Liskay G, et al. Immune cell profile of sentinel lymph nodes in patients with malignant melanoma – FOXP3<sup>+</sup> cell density in cases with positive sentinel node status is associated with unfavorable clinical outcome. *J Transl Med* 11:43, 2013**
11. Vuylsteke RJCLM, van Leeuwen PAM, Meijer S, et al. Sampling tumor-draining lymph nodes for phenotypic and functional analysis of dendritic cells and T cells. *Am J Pathol* 161: 19-26, 2002
12. **Ladányi A, Mohos A, Somlai B, et al. FOXP3<sup>+</sup> cell density in primary tumor has no prognostic impact in patients with cutaneous malignant melanoma. *Pathol Oncol Res* 16:303-309, 2010**
13. **Ladányi A. A tumort infiltráló immunsejtek prognosztikai értéke melanómában. *Magy Onkol* 57, 2013 (nyomdában)**
14. de Visser, Korets LV, Coussens LM. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent. *Cancer Cell* 7:411-423, 2005
15. Qin Z, Richter G, Schüler T, et al. B cells inhibit induction of T cell-dependent tumor immunity. *Nat Med* 4:627-630, 1998
16. DiLillo DJ, Yanaba K, Tedder TF. B cells are required for optimal CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell tumor immunity: therapeutic B cell depletion enhances B16 melanoma growth in mice. *J Immunol* 184:4006-4016, 2010
17. Nelson BH. CD20<sup>+</sup> B cells: the other tumor-infiltrating lymphocytes. *J Immunol* 185:4977-4982, 2010
18. **Ladányi A, Kiss J, Mohos A, et al. Prognostic impact of B-cell density in cutaneous melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 60:1729-1738, 2011**
19. Dieu-Nosjean M-C, Antoine M, Danel C, et al. Long-term survival for patients with non-small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures. *J Clin Oncol* 26:4410-4417, 2008

20. Coppola D, Nebozhyn M, Khalil F, et al. Unique ectopic lymph node-like structures present in human primary colorectal carcinoma are identified by immune gene array profiling. *Am J Pathol* 179:37-45, 2011
21. Cipponi A, Mercier M, Seremet T, et al. Neogenesis of lymphoid structures and antibody responses occur in human melanoma metastases. *Cancer Res* 72:3997-4007, 2012
22. Messina JL, Fenstermacher DA, Eschrich S, et al. 12-chemokine gene signature identifies lymph node-like structures in melanoma: Potential for patient selection for immunotherapy? *Sci Rep* 2:765, 2012
23. van Baren N, Baurain JF, Coulie PG. Lymphoid neogenesis in melanoma. What does it tell us? *OncoImmunology* 2:e22505, 2013
24. **Ladányi A, Sebestyén T, Mohos A, et al. Ectopic lymphoid structures in primary cutaneous melanoma. *OncoImmunology*, 2013 (közlésre benyújtva)**
25. *Tímár J, Ladányi A, Forster-Horváth C, et al. Neoadjuvant immunotherapy of oral squamous cell carcinoma modulates intratumoral CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio and tumor microenvironment: a multicenter phase II clinical trial. *J Clin Oncol* 23:3421-3432, 2005*
26. *Ladányi A, Tímár J, Bocsi J, et al. Sex-dependent liver metastasis of human melanoma lines in SCID mice. *Melanoma Res* 5:83-86, 1995*
27. *Ladányi A, Tímár J, Paku S, et al. Selection and characterization of human melanoma lines with different liver-colonizing capacity. *Int J Cancer* 46:456-461, 1990*
28. **Dobos J, Mohos A, Tóvári J, et al. Sex-dependent liver colonization of human melanoma in SCID mice – role of host defense mechanisms. *Clin Exp Metastasis* 30:497-506, 2012**
29. *Ladányi A, Somlai B, Gilde K, et al. T-cell activation marker expression on tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic factor in cutaneous malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 10:521-530, 2004*
30. *Ladányi A, Kiss J, Somlai B, et al. Density of DC-LAMP<sup>+</sup> mature dendritic cells in combination with activated T lymphocytes infiltrating primary cutaneous melanoma is a strong independent prognostic factor. *Cancer Immunol Immunother* 56:1459-1469, 2007*
31. Kirk CJ, Hartigan-O'Connor D, Mulé JJ. The dynamics of the T-cell antitumor response: Chemokine-secreting dendritic cells can prime tumor-reactive T cells extranodally. *Cancer Res* 61:8794-8802, 2001
32. **Ladányi A, Balatoni T. Az immunválasz „akadálymentesítése”: újabb lehetőségek a melanóma immunterápiájában. *Magy Onkol* 57, 2013 (nyomdában)**