

A malignus melanoma immundiagnosztikája

Szekeres György^{1,3}, Battyáni Zita^{1,2}

¹Hisztopatológia KFT, Hisztopatológiai Laboratórium, Pécs,

²Pécsi Tudományegyetem, Orvostudományi Centrum, Bőrgyógyászati Klinika, Pécs

³Dombóvári Integrált Egészségügyi Szolgáltató KHT Városi Kórháza, Pathológiai Osztály, Dombóvár

A malignus melanoma diagnózisát biológiai szempontok szerint alátámasztott kezelésnek kell követnie. A különböző diagnosztikus lehetőségek így nemcsak a helyes kórisme felállítását, a kórfolyamat kiterjedésének pontos megítélését szolgálják, hanem hasznos információkat szolgáltatnak a várható kórlefolyás és kezelés jobb megítélése céljából. Az immunológiai specificitáson alapuló módszertan, az immundiagnosztika a kóros és reaktív sejtekre jellemző antigének kimutatásának lehetőségét kínálja. Melanoma malignum eseteiben az elkülönítő kórisme (melanoma vagy más tumor, melanoma vagy jóindulatú melanocitás daganat) megoldását segítő, a melanocitákra jellemző antigének kimutatása régóta ismert, bár a rutin diagnosztikában csak viszonylag ritkán alkalmazott. Egyre nagyobb jelentőséget kap egy vagy több antigén detektálásának segítségével a melanomasejtek olyan biológiai paramétereinek megítélése, melyek a várható kórlefolyással állnak szoros kapcsolatban (sejtprolifерáció, áttétképző hajlam, apoptózis). Elsősorban az immunterápiás próbálkozások igénylik a tumorsejtek vizsgálatait mellett egyre inkább a védekezőrendszer alkotó reaktív sejtek vizsgálatait is. Összeállításunkban ezen csoportosítás szerint próbáltuk meg összefoglalni az immundiagnosztika azon lehetőségeit, melyek már a lehető legszélesebb körben hozzáférhetők és megfelelő indikációs háttérrel a rutin diagnosztika részei lehetnek. *Magyar Onkológia 47:45–50, 2003*

The diagnosis of malignant melanoma must be followed by treatment shown to be effective. Therefore a correct diagnosis, including staging, that will permit a meaningful prognosis and treatment, is essential. The usefulness and great specificity of immunological methods is based on the detection of antigens characteristic of neoplastic and reactive cells. In cases of malignant melanoma, immunohistochemistry has limited practical value in the routine diagnosis of melanocytic lesions. The method may be important, however, in the differential diagnosis of, for example, malignant melanoma vs. non-melanocytic anaplastic neoplasia, malignant vs. benign melanocytic lesions, etc. Recent advances in relating the immunostaining of antigens to the development of tumor cells, such as proliferation and apoptosis, metastatic potential, etc. have given considerable importance to the immunomorphological evaluation of malignant melanomas. Likewise, immunotherapy requires the immunophenotyping of the reactive cells of the immune system. *Szekeres Gy, Battyáni Z. Immuno-diagnosis of malignant melanoma Hungarian Oncology 47:45-50, 2003*



A malignus melanoma kórisméje rutin fénymikroszkópos kórszövettani vizsgálat során nagy pontossággal felállítható. A várható kórlefolyás megítélését támogató fontosabb paraméterek szintén jól láthatók, mint a kiterjedés (Breslow, Clark), valamint a desmoplasia és/vagy neurotropismus, a regresszív

jelenségek, az erekbe törés, a mikroszkópos szatellitatumor hiánya vagy megléte, a kimetszés sebési határainak érintettsége. A legtöbb esetben nem igényel különleges metszetfestési eljárást az olyan, szintén jelentős szövettani jelenségek megítélése és leírása, mint az intraepidermális terjedés, exulceratio, mitotikus index, tumort infiltráló limfociták, megelőző jóindulatú melanocitás elváltozás (3). Amikor azonban nem egyértelmű egy rosszindulatú tumor vagy áttét melanocita-eredete (pl. amelanotikus melanoma elkülönítő kórisméje), szükség lehet a melanocitákra fajlagos antigének kimutatására im-

Közlésre érkezett: 2003. január 10.

Elfogadva: 2003. március 1.

Levelezési cím: Dr. Szekeres György,
Hisztopatológia KFT, 7608 Pécs, Pf.: 5. Tel./fax: 72 516 490,
E-mail: histopat@mail.datanet.hu

munhisztokémiai módszerekkel. Ezen, elsősorban a melanogenesisben szerepet játszó proteinek csak igen kis számú, nem melanocita-eredetű sejtben mutathatók ki. Vizsgálatuk hasznos lehet a kiterjedés pontos meghatározása során is azon esetekben, amikor vagy citológiai jellemzőik alapján a melanomasejtek nem különböztethetők meg egyértelműen más, elsősorban reaktív sejtektől (pl. melanofágok), vagy kifejezett mértékű lobos reakció nehezíti a megítélést. Köszönhetően a dermatológiai erőfeszítéseknek, egyre gyakrabban kell korai stádiumú elváltozásokat kórismézni, melyek gyakran csak kevés kritérium szerint különíthetők el jóindulatú melanocita-szaporulatoktól, pl. naevus dysplasticus-tól (4), ill. még morfológiailag domináló festéksejtes anyajegyen belül kell detektálni a már rosszindulatú sejtcsoportot(ka)t. Ezen esetekben is hasznos a kóros sejtek immunfenotípusának meghatározása. A molekuláris biológiai módszertan fejlődésének köszönhetően a rosszindulatú daganatok sejtjeinek biológiai viselkedését is közelebbről megítélhetjük olyan antigének kimutatásával, melyek megléte vagy hiánya, egymáshoz való viszonyuk hasznos információkat szolgáltat a sejtek sejtosztódással, apoptózissal, áttétképző hajlammal kapcsolatos fontosabb biológiai paramétereiről (33, 38, 46, 47). Nagyon lényeg-

ges a tumorsejtek környezetét alkotó stroma és a reaktív sejtek vizsgálata, mely azon túl, hogy a védekezőrendszerrel ad felvilágosítást, a kóros és ép sejtek közötti interakciókra is rávilágít (20, 26, 40, 50).

Alábbiakban ezen szempontokat figyelembe véve foglaljuk össze – a teljesség igénye nélkül – azon lehetőségeket, melyek a rutin diagnosztika során is hasznosan alkalmazhatók.

Melanoma malignum rutin immunhisztokémiája

Az immunhisztokémia leggyakrabban akkor kerül alkalmazásra, amikor egy elsődleges vagy áttéti, igen differenciálatlan rosszindulatú daganat nagyon kevés pigmentet tartalmaz, esetleg amelanotikus. Szintén indokolt immunhisztokémiai vizsgálat számos orsósejtes daganat, pagetoid intraepidermálisan terjedő elváltozás és malignus lymphoma, neuroendocrín carcinoma elkülönítő kórisméjét felvető kissejtes tumor eseteiben is (3).

A legelterjedtebben ismert antigéneket, melyek expressziója fajlagosan vagy szelektíven bizonyítja a tumorsejtek melanocita-eredetét, az 1. táblázatban soroltuk fel.

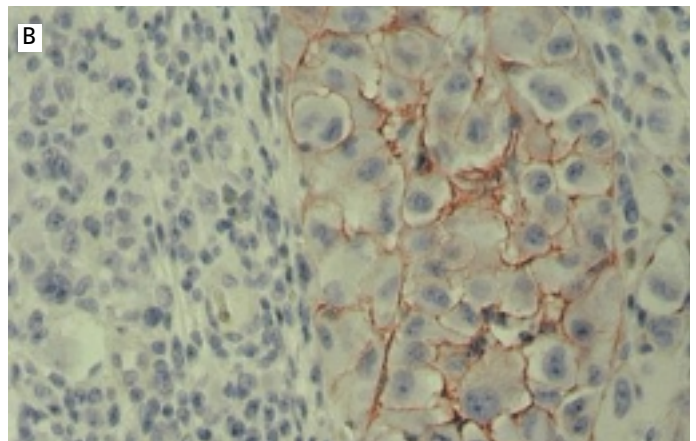
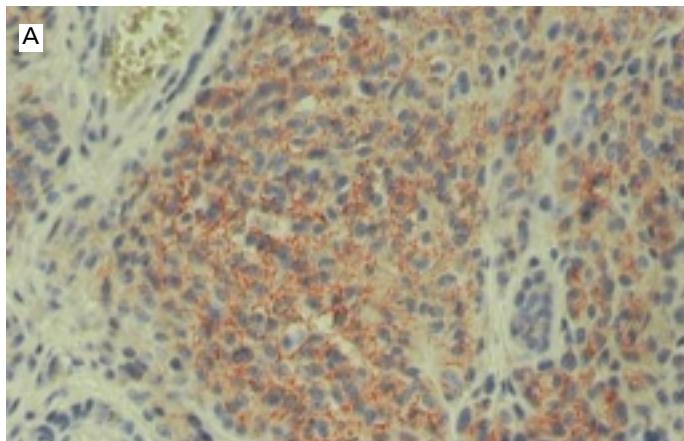
A hagyományosan ismert és sokáig hasznosan alkalmazott markerek közül már csak az S-100 proteint kimutatására van gyakrabban szükség, figyelembe véve, hogy számos nem melanocita-eredetű sejt is jellemzően S-100-pozitív (porcsejtek, adipociták, eccrin mirigyhám, Schwann-sejtek, Langerhans-sejtek), így az ezekből származtatható daganatos kórfolyamatok és a melanoma elkülönítésére csak óvatos következtetések állapíthatók meg (3). A vimentin intermediér filamentum és a neuronspecifikus enoláz kimutatását már ritkán indikáljuk. A gp100 antigénnek a HMB45 monoklonális ellenanyaggal történő kimutatása számít a legfajlagosabbnak, de dezmozplasztikus melanomákban negatív, így kiegészítő immunfestésre lehet szükség, melyre az S-100 mellett az NKI/C3 anti-test alkalmazható, de korábbi vizsgálataink szerint ezen utóbbi viszonylag ritkán reagál a HMB45-negatív melanocitákkal, viszont a KBA62 (1. ábra) jóval gyakrabban támogatja a malignus melanoma kórisméjét (7, 35). Kiválóan alkalmazható a Melan-

1. táblázat.
A melanocitákra jellemző fenotípus immunhisztokémiai vizsgálatára alkalmas antigének és azokra fajlagos ellenanyagok

Antigén	Klón ¹	Érzékenység ²	Fajlagosság/ szelektivitás
S-100 protein	poliklonális	magas	alacsony/közepes
Vimentin	V9	magas	alacsony/alacsony
NSE ³	poliklonális	magas	alacsony/alacsony
gp100	HMB45	közepes	magas
CD63	NKI/C3	magas	közepes/közepes
Melanocita belső membrán	KBA62	magas	közepes/magas
Melan-A/ MART-1	A103	közepes	magas
Tyrosinase	T-311	közepes	magas/magas
Microphthalmia-associated transcription factor (MITF)	C5+D5	közepes	közepes/magas

¹ a Hisztopatológia KFT Hisztopatológiai Laboratóriumában alkalmazott reagensek
² rutinszerűen formalin-fixált, paraffinba ágyazott szövetek metszetein
³ neuronspecifikus enoláz

1. ábra. KBA62 immunreaktivitása intradermális naevus (A) és malignus melanoma áttét (B) sejtjein. (IHC, hematoxilin magfestés, A: 150x, B: 200x)



A/MART-1 vizsgálata is, de figyelembe kell venni, hogy szteroid hormon(oka)t termelő sejtek is pozitívak lehetnek (7, 12).

A felsorolt antigének kimutatása a mélységi terjedés pontosítását is támogatja, elsősorban a melanofágokban gazdag zónákon belül segít a melanocita-eredetű, gyakran individuálisan infiltráló, vagy nehezebben megítélhető lokalizációban (pl. perineurálisan, erek lumenében) terjedő tumorsejtek gp100-termelésének detektálásában (2. ábra). Szükség lehet immunhisztokémiai jelölésre (S-100, gp100, Melan A/MART-1, KBA62) mikrometasztázisok meglétének igazolására is. Ezen utóbbiak és nodális naevusok elkülönítésére elsősorban a gp100 kimutatása együttesen a sejtproliferáció vizsgálatával látszik a leghasznosabbnak (18).

A Melan-A/MART-1 strukturális melanosoma-protein mellett a melanogenesis további faktorainak kimutatására is lehetőség van; így a tyrosinase, a tyrosinase-related protein-1 és 2 (TRP-1 és 2), valamint a Pmel-17 enzimek, a microphthalmia-asszociált transzkripció faktor (MITF), a regulatorikus melanosomális P-protein, a lysosoma-asszociált membrán proteinek (LAMP 1-3) és a calnexin (p90) chaperon immunhisztokémiai vizsgálatai jelentősek, elsősorban az amelanotikus melanomák esetében (51).

Melanoma malignum vagy benignus festéksejtes naevus?

Kevés kivételtől eltekintve az immunmorfológia nem tud segíteni azon – szerencsére ritka – esetben,

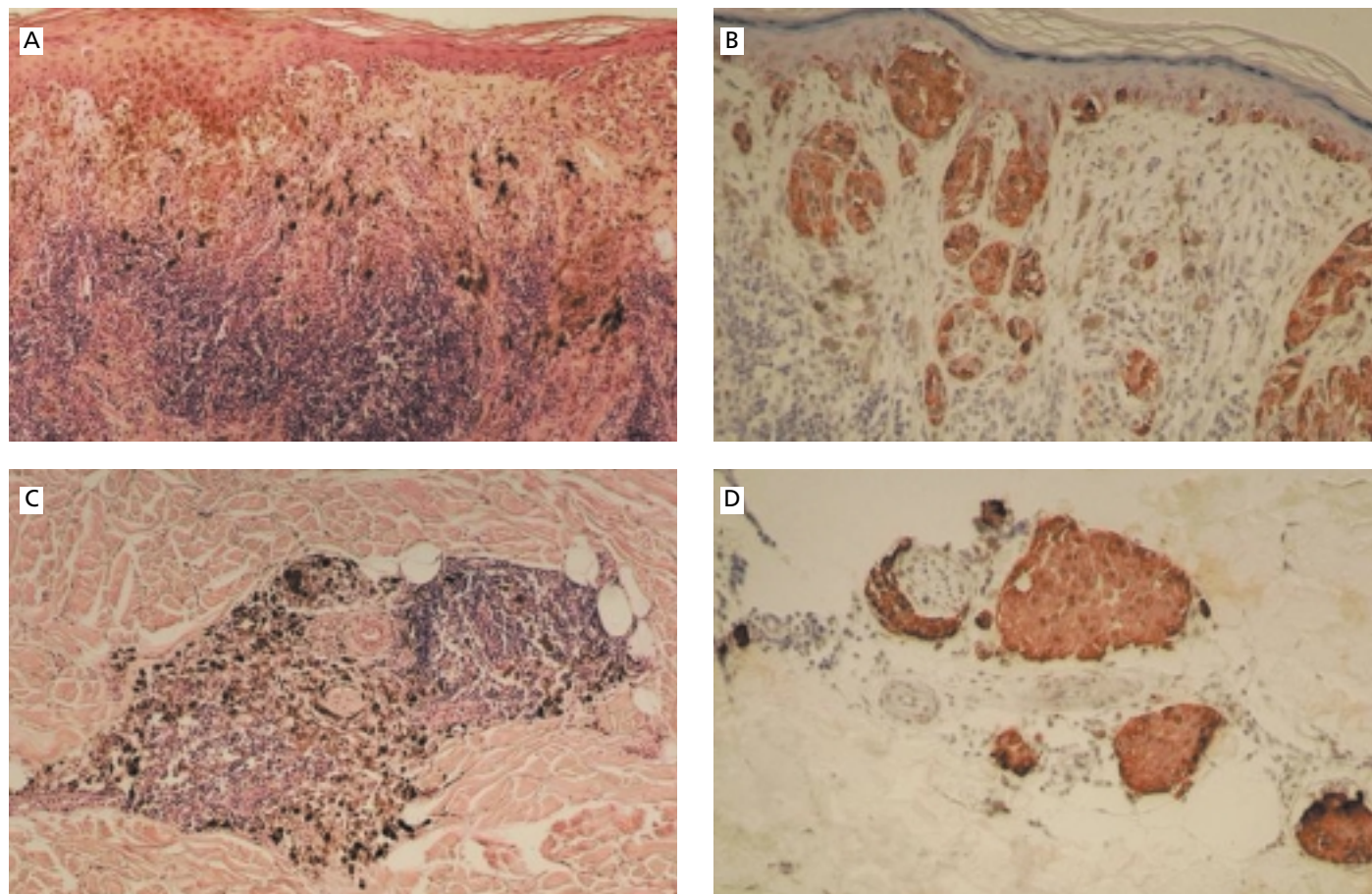
amikor a jó- és rosszindulatú sejtgyarmatok között kell kórszövettani különbséget tenni. Az ismert antigének a jóindulatú melanociták elváltozások sejtjeiben is termelődnek, általában legtöbbjük kimutathatósága aktivitási jelként értékelhető, nem pedig a malignus biológiai viselkedés indikátoraként. Viszonylag kevés olyan antigén ismert, melyek termelődése a tumorsejtekben a malignitás valamely kritériumának felel meg.

A rosszindulatú daganatsejtek egyik legjellemzőbb tulajdonsága a jóindulatú sejtekkel szemben a környező szövetekbe történő invazív jellegű terjedésük (2). Ezen folyamat a prokollagenáz-kollagenáz rendszer aktiválását feltételezi, melyet a plazminogén-plazmin átalakulás dominál. Utóbbit kiváltja a tumorsejtek – és egyéb, a kötőszövetekben helyváltoztatásra képes sejtek – felszínén megtalálható urokináz-típusú plazminogén-aktivátor-receptor (uPAR, CD87) és ligandjának kapcsolódása (6, 19, 36). Így a CD87 antigén-pozitív sejtek invazív karakterűek, tehát megfelelnek a malignitás ezen kritériumának, továbbá az invázió nélkülözhetetlenül az áttétképződés első lépéseként tekinthető, a CD87-pozitív tumorok magas metasztatikus potenciállal bírnak (3. ábra).

Sejtproliferáció

A tumorprogresszió egyik legfontosabb ismérve a sejtek osztódásának mértéke. A fénymikroszkóposan is észlelhető mitotikus sejtformák száma mellett egyrészt a mitotikus sejtciklusban lévő sejtek számaránya ad erre felvilágosítást, másrészt a sejtosztó-

2. ábra.
gp100- (HMB45)
immunreaktivitás
lobosan destruált
melanoma sejtjeiben
(A és B), valamint
perineurális
tumorsejtekben (C és
D). (A és C: HE, B és
D: IHC, hematoxilin
magfestés, 100x)



dás időtartama áll fordított arányban a daganatok növekedésének sebességével. A legszorosabb kapcsolatban a kliniko-patológiai progresszióval a Ki-67 antigén-pozitív sejtek aránya áll (10, 16, 18, 25, 34). Kimutatására elsősorban rutinszerűen fixált és beágyazott metszetekben van szükség, erre jelen ismereteink szerint két monoklonális ellenanyag alkalmas, a közel tíz éve ismert MIB-1 és az újabb – a legtöbb kísérleti állatmodellben is használható – B56 (4. ábra A). A korábban alkalmazott PCNA- (Proliferating Cell Nuclear Antigen) vizsgálatok is jó megközelítéssel mutatnak összefüggést a tumorprogresszióval (1).

Programozott sejthalál (apoptózis)

Az apoptózis vizsgálata a folyamat szabályozásában szerepet játszó gének expressziójának és antigének termelésének kimutatásával lehetséges. A gyakorlatban, elsősorban fixált-beágyazott szövettani metszeteken a legmegbízhatóbban a bax/bcl-2 antigének aránya áll egyenes arányban a tumorsejtek apoptózis-hajlamával (16, 22, 42).

Mind a sejtproliferáció, mind pedig az apoptózis molekuláris hátterében lényeges szerepet játszik a p53 protein (4. ábra B) és kóros esetekben (pl. p53 gén mutációja) annak felhalmozódása a daganatos sejtek magjában (29, 48). Ennek ellenére kimutatásának diagnosztikus szerepe nem egyértelmű malignus melanomában, holott az UV B sugárzás jellemzően kiváltja a p53 gén mutációját (29).

Metasztázishajlam és invázió

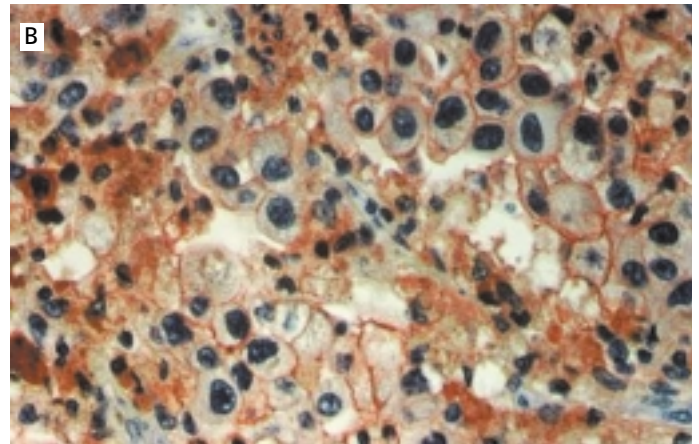
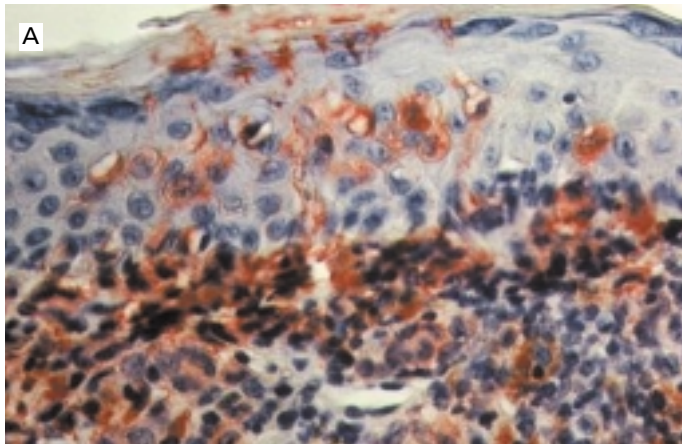
Az egyes rosszindulatú daganatok sejtei heterogén áttétképző hajlammal rendelkeznek, ami nagy mértékben megnehezíti a prognosztikus megítélést. Különösen igaz ez a malignus melanoma eseteiben.

A már jelzett CD87 antigén pozitivitása a tumorsejteken ugyan igazolja a lokális terjedési hajlamot, ami önmagában is az érrendszerbe való betörés lehetőségét támogatja, így közvetve a metastázis kialakulásának egyik alapvető feltételét biztosítja, de a keringésbe kerülő és onnan távoli szervek szöveteibe jutó tumorsejtek megtapadásának pontos mechanizmusa még nem egyértelműen tisztázott. Génexpressziós vizsgálatok hívták fel a figyelmet az nm23 gén potenciális áttétképződést gátló szerepére, de az immunmorfológiai vizsgálatok a géntermék kimutatása során nem bizonyították az nm23 fehérje és az áttétek kialakulása közötti szoros összefüggéseket, viszont kapcsolat mutatkozott az alacsonyabb nm23 antigén-termelés és a nyirokcsomóáttétek gyakorisága között (8).

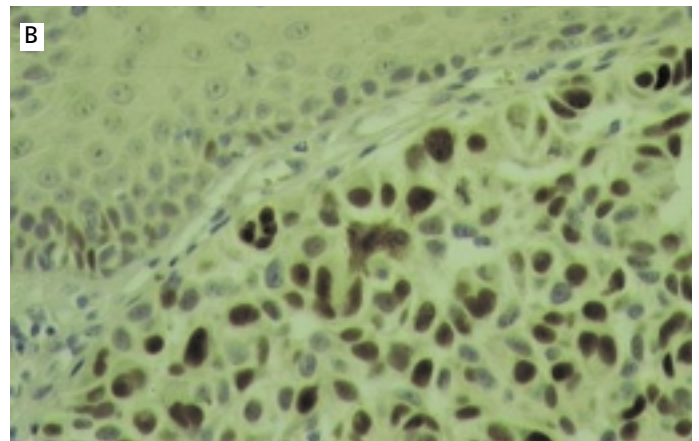
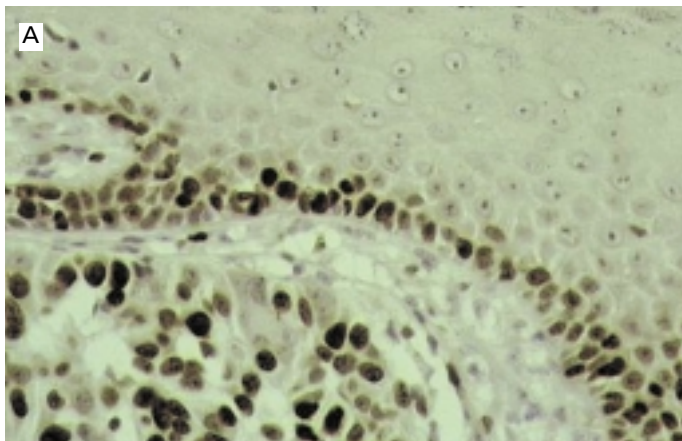
Sejtek közötti adhézió

A rosszindulatú daganatok progresszióját befolyásoló paraméterek között mind a tumorsejtek közötti kapcsolódások, mind a daganatsejtek és a stromát alkotó celluláris és kötőszöveti elemek közötti

3. ábra.
CD87-immunreaktivitás dominálónan intraepidermálisan terjedő invazív melanomában (A) és nyirokcsomóáttétben (B). (IHC, hematoxilin magfestés, 250x)



4. ábra. Ki-67 (A) és p53 (B) nukleáris pozitivitása melanomasejtekben. (IHC, hematoxilin magfestés, 250x)



molekuláris háttérrel bíró kölcsönhatások szerepelnek, mivel alapvetően befolyásolják a malignus sejtek invazív és áttétképző karakterét (5, 23, 43). Jelentős vizsgálati eredmények ismertek a CD44 molekulacsálád szerepére vonatkozóan (9). Elsősorban a CD44v3 változat pozitivitását mutató melanomák a belső szervi áttétekkel bíró esetek csoportjában gyakoribbak, valamint ezen tumorokban az MMP-2 (Matrix Metallo-Proteinase 2) is magasabb (9, 32).

A melanomasejtek E-cadherin-expressziója a sejtdhézió szabályozásának indikátoraként értékelhető és mind a melanomasejtek közötti, mind azoknak a keratinocitákhoz történő kötődési sajátosságaira utal, emellett az intracelluláris β -cateninhez kapcsolódva a jelátvitel folyamata és a sejtdhézió közötti kétirányú szabályozó mechanizmus alapvető molekuláris eleme (13, 27, 28, 31, 49).

Nagyon szerteágazók az integrinek heterogén molekulacsáládjának vizsgálataival nyert eredmények (44). Az egyértelmű, hogy az integrinek jelentős szerepet játszanak a tumorprogresszió és az áttétek kialakulásának folyamataiban (30, 45), így a CDw49d termelődésének növekedése és a CDw49f csökkenése magasabb metasztatikus potenciállal áll összefüggésben (30). Az α IIb β 3 (CD41/CD61) integrin-pozitív melanomasejtek fokozottabb mértékben képesek áttéteket képezni (41).

Intracelluláris jelátvitel

A sejtek felszínén megjelenő, receptorfunkcióval bíró antigének és a sejtek aktiválásának jeleként értékelhető fehérjék közötti kapcsolatokat jelentő jelátvitel egyes elemei ismertek, de immunmorfológiai kimutatásuk még csak részben lehetséges. Az egyik legjobban jellemzett molekula a β -catenin, mely az E-cadherinnel, tehát a sejtdhézióval áll kapcsolatban, valamint egyrészt az aktin-típusú mikrofilamentáris hálózattal, másrészt a jelátvitel indukciójával mutat kölcsönhatást és a génátírás (transzkripció) folyamatáig ismert a szerepe (14, 28, 31).

Citokinek és növekedési faktorok

A TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) immunregulációs citokint számos sejt termeli; szerepe reaktív, gyulladásos folyamatokban jól ismert, valamint mind az apoptózis, mind a sejtdhézió folyamataira szabályozó hatással bír (11). Mind a melanoma növekedésének gátlását, mind pedig melanomasejtek növekedésének támogatását megfigyelték a TNF- α hatásai között (15).

A TGF- β (Transforming Growth Factor- β) részt vesz melanomasejtek stimulálásában (15), differenciálódásukban (17, 21).

Az AMF (Autocrine Motility Factor) és receptora (AMFR) elsősorban az invazív terjedéssel mutat kapcsolatot (37, 39).

További citokinek (IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ) szérumszintjeinek vizsgálatai mutatnak inkább kapcsolatot a kórlefolyással, stádiummal (24), az immunmorfológiának kisebb szerep jut.

Utóirat

Miután a fenti felsorolásban szereplő biológiai paraméterek vizsgálataival kapható eredmények gyakran egymással összefüggésben, csak bizonyos körülmények között értékelhetők diagnosztikus leletekként, a 2. táblázatban kíséreljük meg összefoglalni a malignus melanoma immundiagnosztikájának keretein belül az immunmorfológia módszertana számára hozzáférhető és az egyes esetekben jól értékelhető antigéneket.

Valamennyi esetben figyelembe kell azonban venni, hogy a legtöbb vizsgálati eredmény csak statisztikai értékelésük alapján számít érdeklődésre, az egyes esetek individuális megítélése ezektől elterhet. Nem szabad továbbá azt sem elfelejteni, hogy a leglényegesebb diagnosztikus leletet a rutin kórszövettani vizsgálat adja, az immunmorfológiai észleletek csak ennek kiegészítő elemei lehetnek. A tumorprogresszió alapja a klinikai stádiummeghatározás (staging) és a kórszövettani vizsgálat során kötelezően megállapítandó mélységi terjedés (Breslow), melyek a legszorosabb kapcsolatot mutatják a várható kórlefolyással (prognózis).

A dolgozat az Egészségügyi Minisztérium 531/2000 sz. tárcaszintű kutatási szerződése alapján jött létre.

2. táblázat.
A melanoma immundiagnosztikája

Indikációs terület antigén(ek)	Vizsgálható
Elkülönítő kórisme	
Melanoma malignum kórisméjének igazolása Mélységi terjedés pontosítása Metastasis Micrometastasis detektálása	tyrosinase, gp100 (HMB45), Melan A/MART-1, melanocita belső membrán antigén (KBA62), S-100
Nodális naevus elkülönítése	CD87 Ki-67
Roszs- vagy jóindulatú festéksejtes elváltozás In situ vagy invazív melanoma	
Tumorprogresszió	
Sejtprolifерáció	Ki-67 p53
Apoptózis	bax/bcl-2 arány p53
Invazív és metasztatikus hajlam	CD87 AMF CDw49d CDw49f α IIb β 3 integrin
Nyirokcsöveti áttét dominanciája	Nm23
Viszcerális áttét dominanciája	CD44v3 E-cadherin β -catenin
Sejtdhézió	
Melanoma és reaktív sejtek kölcsönhatásai	TNF- α TGF- β

Irodalom

1. Auslender S, Barzilai A, Goldberg I, et al. Lentigo maligna and superficial spreading melanoma are different in their in situ phase. *Hum Pathol* 33:1001-1005, 2002
2. Aznavoorian S, Murphy AN. Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis. *Cancer* 71:1368-1383, 1993
3. Barnhill RL, Mihm MC. Histopathology and precursor lesions. In: *Cutaneous Melanoma*. Eds. Balch CM, Houghton AN, Sober AJ, Soong S. Quality Medical Publishing Inc., St Louis 1998, pp 103-133
4. Clemente C, Cochran AJ, Elder DE, et al. Histopathologic diagnosis of dysplastic nevi. *Hum Pathol* 22:313-319, 1991
5. Danen EHJ, van Muijen GNP, van de Wiel-van Kemenade E, et al. Regulation of integrin-mediated adhesion to laminin and collagen in human melanocytes and in non-metastatic and highly metastatic human melanoma cells. *Int J Cancer* 54:315-321, 1993
6. De Vries TJ, Muijen GNP, Ruiter DJ. The plasminogen activation system in melanoma cell lines and in melanocytic lesions. *Melanoma Res* 6:79-88, 1996
7. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, and tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Res* 57:3223-3229, 1997
8. Döme B, Somlai B, Tímár J. The loss of nm23 protein in malignant melanoma predicts lymphatic spread without affecting survival. *Anticancer Res* 20:3971-3974, 2000
9. Döme B, Somlai B, Ladányi A, et al. Expression of CD44v3 splice variant is associated with the visceral metastatic phenotype of human melanoma. *Virchows Arch* 439:628-635, 2001
10. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 31:13-20, 1983
11. Groves RW, Allen MH, Ross EL, et al. TNF- α is pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression. *Br J Dermatol* 132:345-352, 1995
12. Gupta D, Malpica A, Deavers MT, Silva EG. Vaginal melanoma. *Am J Surg Pathol* 26:1450-1457, 2002
13. Hendrix MJ, Seftor EA, Meltzer PS, et al. Expression and functional significance of VE-cadherin in aggressive human melanoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:8018-8023, 2001
14. Kageshita T, Hamby CV, Ishihara T et al. Loss of β -catenin expression associated with disease progression in malignant melanoma. *Br J Dermatol* 145:210-216, 2001
15. Krasagakis K, Garbe C, Zouboulis CC, Orfanos CE. Growth control of melanoma cells and melanocytes by cytokines. *Recent Results Cancer Res* 139:169-182, 1995
16. Kulisch Á, Lengyel Zs, Battányi Z, et al. Sejtproliferáció és apoptosis immunmorfológiai vizsgálata melanoma malignumban. *Börgy Venereol Szle* 77:255-258, 2001
17. Liu L, Hudgins WR, Miller AC, et al. Transcriptional upregulation of TGF- β by phenylacetate and phenylbutyrate is associated with differentiation of human melanoma cells. *Cytokine* 7:449-456, 1995
18. Lohmann CM, Iversen K, Jungbluth AA, et al. Expression of melanocyte differentiation antigens and Ki-67 in nodal nevi and comparison of Ki-67 expression with metastatic melanoma. *Am J Surg Pathol* 26:1351-1357, 2002
19. Luther T, Magdolen V, Albrecht S, et al. Epitope-mapped monoclonal antibodies as tools for functional and morphological analyses of the human urokinase receptor in tumor tissue. *Am J Pathol* 150:1231-1244, 1997
20. Miller FR. Immune mechanisms in the sequential steps of metastasis. *Crit Rev Oncogen* 4:293-311, 1993
21. Nanney LB, Coffey RJ, Ellis DL. Expression and distribution of TGF- β within melanocytic lesions. *J Invest Dermatol* 103:707-714, 1994
22. Oltvai Z, Millman C, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74:609-619, 1993
23. Pignatelli M, Vessey CJ. Adhesion molecules. *Hum Pathol* 25:849-856, 1994
24. Porter GA, Abdalla J, Lu M, et al. Significance of plasma cytokine levels in melanoma patients with histologically negative sentinel lymph nodes. *Ann Surg Oncol* 8:116-122, 2001
25. Ramsay JA, From L, Iscoe NA, Kahn HJ. MIB-1 proliferative activity is a significant prognostic factor in primary thick cutaneous melanomas. *J Invest Dermatol* 105:22-26, 1995
26. Rettig WJ. Immunogenetics of cell surface antigens of human cancer. *Curr Opin Immunol* 4:630-640, 1992
27. Ruiter DJ, Muijen GN. Markers of melanocytic tumor progression. *J Pathol* 186:340-342, 1998
28. Sanders DS, Blessing K, Hassan GA, et al. Alterations in cadherin and catenin expression during the biological progression of melanocytic tumours. *Mol Pathol* 52:151-157, 1999
29. Sauter ER, Takemoto R, Litwin S, Herlyn M. p53 alone or in combination with antisense cyclin D1 induces apoptosis and reduces tumor size in human melanoma. *Cancer Gene Therapy* 9:807-812, 2002
30. Schadendorf D, Gawlik C, Haney U, et al. Tumor progression and metastatic behaviour in vivo correlates with integrin expression on melanocytic tumors. *J Pathol* 170:429-434, 1993
31. Silye R, Karayiannakis AJ, Syrigos KN et al. E-cadherin/catenin complex in benign and malignant melanocytic lesions. *J Pathol* 186:350-355, 1998
32. Simonetti O, Lucarini G, Brancorsini D, et al. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 in cutaneous melanocytic lesions. *Cancer* 95:1963-1970, 2002
33. Slominski A, Wortsman J, Nickoloff B, et al. Molecular pathology of malignant melanoma. *Am J Clin Pathol* 110:788-794, 1998
34. Szekeres G. Detection of Ki-67 antigen in fixed proliferating cells. *Anal Cell Pathol* 5:249-250, 1993
35. Szekeres Gy, Battányi Z, Herbert T, Cohen-Knafo E. A melanocyta-fajlagos monoklonális KBA62 ellenanyag immunhisztokémiai alkalmazása fixált-beágyazott szöveteken. *Börgy Venereol Szle* 70:195-197, 1994
36. Szekeres G, Luther T, Battányi Z, Farkas B. Urokinase-type plasminogen activator receptor expression in melanocytic skin tumors. *J Invest Dermatol* 115:555, 2000
37. Tímár J, Tóth S, Tóvári J, et al. Autocrine motility factor (neuroleukin, phosphohexose isomerase) induces cell movement through 12-lipoxygenase-dependent tyrosine phosphorylation and serine dephosphorylation events. *Clin Exp Metast* 17:809-816, 1999
38. Tímár J, Csuka O, Orosz Z, et al. Molecular pathology of tumor metastasis. *Pathol Oncol Res* 7:217-230, 2001
39. Tímár J, Rásó E, Döme B, et al. Expression and function of the AMF receptor by human melanoma in experimental and clinical systems. *Clin Exp Metast* 19:225-232, 2002
40. Torisu H, Ono M, Kiryu H, et al. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma. *Int J Cancer* 15:182-188, 2000
41. Trikha M, Tímár J, Zacharek A, et al. Role for β 3 integrins in human melanoma growth and survival. *Int J Cancer* 101:156-167, 2002
42. Van den Oord JJ, Vandeghinste N, De Ley M. Bcl-2 expression in human melanocytes and melanocytic tumors. *Am J Pathol* 145:294-300, 1994
43. Van Duinen CM, van den Broek LJCM, Vermeer BJ, et al. The distribution of cellular adhesion molecules in pigmented skin lesions. *Cancer* 73:2131-2139, 1994
44. Vink J, Thomas L, Etoh T, et al. Role of β -1 integrins in organ specific adhesion of melanoma cells in vitro. *Lab Invest* 68:192-203, 1993
45. Wang Y, Rao U, Mascari R, et al. Molecular analysis of melanoma precursor lesions. *Cell Growth Differ* 7:1733-1740, 1996
46. Weterman MAJ, van Muijen GNP, Bloemers HPJ, Ruiter DJ. Molecular markers of melanocytic tumor progression. *Lab Invest* 70:593-608, 1994
47. Wick MR. Prognostic factors for cutaneous melanoma. *Am J Clin Pathol* 110:713-718, 1998
48. Yamamoto M, Takahashi H, Saitoh K. Expression of the p53 protein in malignant melanomas as a prognostic indicator. *Arch Dermatol Res* 287:146-151, 1995
49. Yoshimura M, Ihara Y, Matsuzawa Y, et al. Aberrant glycosylation of E-cadherin enhances cell adhesion to suppress metastasis. *J Biol Chem* 271:18811-18815, 1996
50. Zumkeller W, Schofield PN. Growth factors, cytokines and soluble forms of receptor molecules in cancer patients. *Anticancer Res* 15:343-348, 1995
51. Slominsky A, Wortsman J, Carlson AJ, et al. Malignant melanoma. *Arch Pathol Lab Med* 125:1295-306, 2001