

Az immunválasz „akadálymentesítése”: újabb lehetőségek a melanóma immunterápiájában

Ladányi Andrea¹, Balatoni Tímea²

Országos Onkológiai Intézet, ¹Sebészi és Molekuláris Patológiai Osztály, ²Onkodermatológiai Osztály, Budapest

Az utóbbi 1-2 évtizedben a tumorimmunológiai kutatások előrehaladása, az immunválaszt szabályozó mechanizmusok jobb megismerése új típusú immunterápiás szerek: a T-sejtek aktivációját gátló molekuláris kölcsönhatásokat célzó ellenanyagok kísérleti és klinikai kipróbálásához vezetett. Az újfajta immunstimuláló ágensek prototípusa, a CTLA-4-antagonista ipilimumab alkalmazása jelentette az első olyan kezelésmódot, mely metasztatikus melanómás betegekben, randomizált, kontrollált klinikai vizsgálatban a túlélés szignifikáns meghosszabbodását eredményezte, így 2011-ben bekerült e betegség terápiás arsenáljába. A szintén 2011-ben befogadott, BRAF-inhibitor vemurafenibbel együtt az ipilimumab átalakította az áttétes melanóma standard kezelését, és megnyitotta az utat más immun szabályozó molekulák befolyásolását célzó terápiák számára, melyek közül a PD-1-útvonalat blokkoló ellenanyagok ugyancsak ígéretes klinikai hatást mutattak. Az eddig összegyűlt klinikai tapasztalat alapján az immunstimuláló antitestek a betegek viszonylag kis hányadában eredményeznek objektív tumorválaszt, ami általában hosszabb távon jelentkezik, azonban a reagáló betegek jelentős részében tartós remissziót jelent. A kedvező daganatellenes aktivitás ugyanakkor sok esetben jelentős toxicitással párosul. A súlyos mellékhatások nagy része a konvencionális terápiák okozta mellékhatásoktól eltérő spektrumú, a szervezet fokozott immunaktivitásával összefüggő szervkárosodás. A nem reagáló betegeknek a súlyos mellékhatásoktól való megkímélése, valamint a válaszarány növelése érdekében intenzív kutatások folynak olyan biomarkerek azonosítására, melyek alapján meg lehetne jósolni a kezelés várható hatását. Javíthatja a klinikai hatásosságot továbbá az immunmoduláns ellenanyagok más immunterápiás modalitásokkal, kemo- vagy célzott terápiával való racionális kombinálása. Magyar Onkológia 57:100-107, 2013

Kulcsszavak: melanóma, immunterápia, CTLA-4, PD-1

Recent advances in tumor immunology, a better understanding of mechanisms regulating the immune response has led to experimental and clinical testing of a novel type of immunotherapeutics: antibodies blocking T-cell activation. The application of the CTLA-4 antagonist ipilimumab, the prototype of this new class of immune stimulating agents, represents the first treatment that resulted in significant prolongation of the survival of metastatic melanoma patients in randomized, controlled trial, leading to the approval of its use for the therapy of these patients in 2011. Together with the BRAF inhibitor vemurafenib, which was also approved in 2011, ipilimumab has changed the standard therapy of metastatic melanoma, and also paved the way for other agents aiming at influencing immune regulating molecules, of which antibodies blocking the PD-1 pathway also showed promising clinical activity. According to clinical experience collected so far, these agents induce objective tumor response in a relatively small proportion of patients, with a characteristic response kinetics frequently showing delayed activity, but resulting in durable remission in a considerable proportion of the responding patients. On the other hand, antitumor activity is frequently accompanied by significant toxicity. The spectrum of side effects is different from that of conventional therapies, and a large part of them is caused by the enhanced systemic immune activity. In order

Levelezési cím: Dr. Ladányi Andrea, Országos Onkológiai Intézet,
1122 Budapest, Ráth Gy. u. 7–9. Tel.: 224-8600/1155, fax: 224-8706, e-mail: ladanyi@oncol.hu

A munka az OTKA 72836 és 105132 sz. grantok támogatásával készült.

Közlésre érkezett: 2013. február 27. • Elfogadva: 2013. április 28.

to spare non-responding patients of the severe side effects and to increase response rate, the search for biomarkers that could help in identifying patients likely to react to the treatment represents an important focus of studies. Furthermore, development of combinations with other immunotherapeutic modalities, chemo- or targeted therapies may further increase the efficiency of immunomodulatory antibodies.

Ladányi A, Balatoni T. Unlocking antitumor immune response: novel possibilities for the immunotherapy of melanoma. *Hungarian Oncology* 57:100-107, 2013

Keywords: melanoma, immunotherapy, CTLA-4, PD-1

BEVEZETÉS

A malignus melanóma – dokumentáltan immunogén volta ellenére – agresszív, erős progresszióképességgel rendelkező daganat. Mind a perifériás vérben, mind a tumorszövetben specifikus, a daganatsejtek felismerésére képes T-limfociták mutathatók ki, ezek azonban az esetek nagy részében nem képesek a daganatnövekedést féken tartó hatékony immunválasz létrehozására. Ennek egyik lehetséges magyarázata a tumorszövetben jelen lévő T-sejtek szuboptimális aktiválódása, illetve az immunszuppresszív daganatos mikrokörnyezet hatására kialakuló működésképtelensége (1, 2).

A sejtközvetített immunreakció többlépcsős folyamat (a megfelelő antigénre specifikus T-limfociták klonális szelekciója, aktivációja és felszaporodása a másodlagos nyirokcsomókban, a megfelelő helyre jutás és segítő, illetve effektor funkciók kifejtése), melynek kimenetelét a részfolyamatokat pozitívan, illetve negatívan befolyásoló szabályozó mechanizmusok egyensúlya szabja meg. A T-limfociták optimális aktiválása az MHC molekulákon prezentált antigén peptid és a T-sejt-receptor (TCR) kölcsönhatása (első jel) mellett egy második, megerősítő szignált is igényel, melynek hiányában a TCR stimulálása válaszképtelenséget idéz elő. Létfontosságúak azonban a gátló szabályozó mechanizmusok is (ún. immun-ellenőrzési pontok, immune checkpoints) (3, 4), melyek fiziológias körülmények között az egészséges szövetek védelmét hivatottak biztosítani az autoimmun folyamatok kialakulásának megelőzésével, daganatos szervezetben ugyanakkor hozzájárulhatnak a hatékony tumorelles immunválasz kialakulásának gátlásához.

A tumorelles immunválasz felerősítésére, az immuntolerancia legyőzésére számos immunterápiás stratégiát fejlesztettek ki és teszteltek állatkísérletes modellekben és klinikai rendszerekben (többek között melanómás betegeken) egyaránt. Ezek különböző kategóriákba sorolhatók; aktív immunterápia esetén, mely lehet antigénspecifikus vagy -nemspecifikus, a meglévő antitumorális immunválaszt próbálják fokozni, míg a passzív/adoptív terápia során effektorsejteket vagy molekulákat juttatnak a szervezetbe (5). A jelen összefoglalásban azokat az újabb terápiás lehetőségeket ismertetjük, melyek az immun-ellenőrzési pontok gátlása révén a sejt immunválasz „akadálymentesítését” célozzák, kiemelt figyelmet fordítva a legelőrehaladottabb stádiumban levő, a CTLA-4, illetve a PD-1 molekulákat gátló ellenanyag-terápiákra.

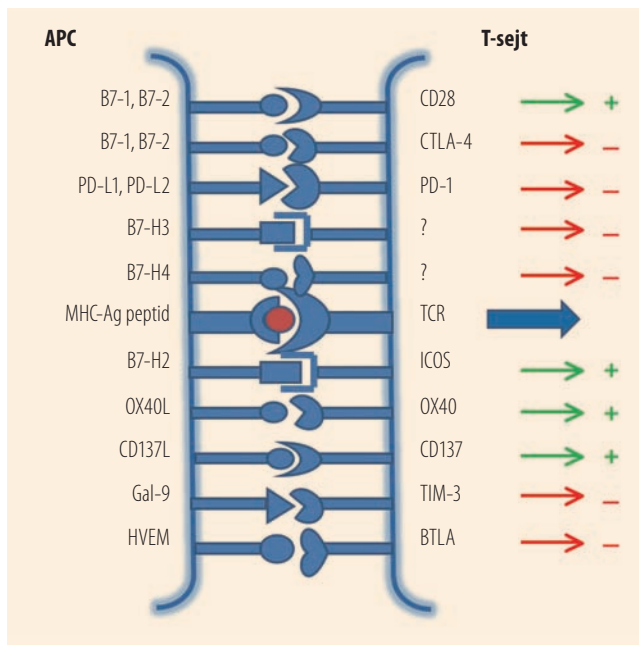
A T-SEJT-VÁLASZT SZABÁLYOZÓ KOSTIMULÁTOR ÉS KOINHIBITOR KÖLCSÖNHATÁSOK

A sejtközvetített immunválasz kialakulása során a T-limfociták aktiválódását és proliferációját egy antigénspecifikus stimuláció váltja ki, amit az antigénprezentáló sejtek (APC) MHC molekuláin tált antigénfragmentumnak a T-sejt-receptorral történő kölcsönhatása biztosít. Ez azonban önmagában nem elegendő; a megfelelő szintű aktivációhoz szükség van egy második, ún. kostimulációs szignálra is, melyet az APC kostimulációs molekuláinak a T-sejtek felszínén található receptorokhoz való kapcsolódása hoz létre.

Számos kostimulációs molekula és receptora ismert (1. ábra), melyek közül kiemelkedő jelentőségűek a B7 molekulacsalád tagjai, ezen belül is a B7-1 (CD80) és B7-2 (CD86) (6). Jelentős mennyiségben leginkább az aktivált APC-ken (dendritikus sejtek, makrofágok, B-sejtek) fejeződnek ki, és a T-limfocitákon található CD28 receptorhoz kötődve a naiv T-sejtek aktivációjához szükséges kostimulációs szignált biztosítják. Gátló receptoruk is van, a CD28-cal szerkezeti rokonságot mutató CTLA-4 (citotoxikus T-limfocita-asszociált-4, más néven CD152), mely a T-sejteken általános sejt felszíni expressziót mutató CD28-cal ellentétben nyugvó állapotban intracelluláris lokalizációjú, csak aktiváció hatására jelenik meg a sejtek felszínén (7). Kivételt képeznek a regulátor T-sejtek (Treg), melyeken – több más, a T-limfocitákon általában aktivációt követően kifejeződő markerhez (pl. CD25, FOXP3) hasonlóan – a CTLA-4 konstitutív sejt felszíni expressziót mutat, és fontos szerepet játszik immunszuppresszív hatás kifejtésében.

A B7-1, illetve B7-2 molekulák CTLA-4-hez való kapcsolódása – mely a CD28-hoz történő kötődésüknél 10-

1. ábra. A T-sejtek aktivációját szabályozó fontosabb receptor-ligandum kölcsönhatások



40-szer nagyobb affinitású – a T-limfociták CD28 által stimulált aktiválódását gátolja, részint a B7 molekuláknak aktiváló receptorukhoz való kapcsolódása megakadályozása révén, részint közvetlenül, gátló szignalizációs útvonal elindításával. E negatív visszacsatolós folyamatnak fontos fiziológiás szerepe van az immunválasz korai fázisában a T-sejt-aktiváció mértékének szabályozásában. Jelentőségét az is mutatja, hogy a CTLA-4-hiányos egerek a születésük után 3-4 héten belül elpusztulnak súlyos, több szervet érintő autoimmun limfoproliferatív betegség következtében (8, 9), emberben pedig a CTLA-4 gén polimorfizmusai fokozzák különböző autoimmun betegségek kockázatát (10).

A B7 molekulacsalád másik csoportját alkotja a B7-H1 (más néven PD-L1, programozott sejthalál ligandum-1, illetve CD274) és a B7-DC (PD-L2, CD273). Mindkét molekula kifejeződése fokozódik gyulladásos citokinek hatására; az utóbbi főleg dendritikus sejteken és makrofágokon jelenik meg, míg az előbbi széles expressziós spektrum jellemzi, hemopoetikus sejtek mellett megtalálható epithelialis és endothelsejteken is (3, 6, 11). Receptoruk, a PD-1 (programozott sejthalál-1, más néven CD279) a CTLA-4-hez hasonlóan szintén aktiváció hatására jelenik meg T-limfocitákon (kivéve a konstitutív expressziót mutató Treg-sejteket), emellett B-, NK- és mieloid sejteken is kifejeződik. A PD-1-nek ligandumaival történő kölcsönhatása gátolja a T- és B-limfociták aktivációját, s fontos szerepe van – főként a pe-

rifériás szövetekben – az immunválasz szabályozásában, a perifériás tolerancia kialakulásában és fenntartásában (3, 4, 6, 11). A PD-1-deficiencia egerekben nem idéz elő az első életévben spontán autoimmun folyamatokat, bár egyéb autoimmunitásra hajlamosító tényezők vagy fertőzés esetén súlyosbítja a szöveti reakciókat.

Ellentétben a B7-1 és B7-2 molekulákkal, melyek ritkán fejeződnek ki daganatsejteken, a B7-H1 (PD-L1) expresszióját leírták különféle tumorsejt típusokon is (3, 6, 12, 13). A tumorinfiltráló limfocitákon ugyanakkor megjelenik a PD-1 receptor, ami szerepet játszhat a daganatok elleni immunvédekezés hatástalanságában. Melanómából izolált CD8⁺ T-sejtek esetében például a PD-1-expresszió csökkent funkcionális aktivitással járt együtt (14). A B7 molekulacsalád két további, feltételezhetően negatív szabályozó funkciójú tagja – egyelőre ismeretlen receptorral – a B7-H3 (CD276) és a B7-H4, melyeket szintén kimutattak tumorsejtek felszínén (6). A másik PD-1 ligandum, a B7-DC (PD-L2) ritkábban expresszálódik daganatsejteken, és az antitumorális immunitás szabályozásában játszott szerepe kevésbé tisztázott (6, 15).

A CTLA-4 és PD-1 mellett egyre több adat gyűlik össze a T-limfociták számos más, negatív szabályozó funkciót ellátó receptoráról (1. ábra) (3, 4). A LAG-3 (limfocitaaktivációs gén 3, más néven CD223) – az említett két receptorhoz hasonlóan – a regulátor T-sejteken (illetve ezek egy részében) mutatott konstitutív expressziója (16) mellett más T-sejt-alcsoportokon is megjelenik aktivált állapotban. A CD4-gyel homológiát mutató membránfehérje az MHC II molekulákhoz kötődve kapcsolódik a CD3-TCR komplexhez a sejt felszínén, és gátolja a jelátvitelt. Expresszióját kimutatták tumorinfiltráló T-sejteken is (16–18), ennek azonban a daganat elleni immunreakciókra gyakorolt hatása még nem tisztázott. A BTLA (B- és T-limfocita attenuátor, más néven CD272) CD4⁺ T-limfocitákon aktiváció hatására jelenik meg; CD8⁺ T-sejtek differenciációja során expressziója csökken, magas szintű ugyanakkor pl. melanómás betegek tumorspecifikus keringő CD8⁺ T-sejtjein (3, 4, 19, 20). Liganduma, a HVEM (herpeszvírus-belépési mediátor) megtalálható különféle immunsejt típusok mellett endothel- és tumorsejteken is, ami újabb potenciális immunaktivitás-gátló mechanizmust jelent a tumor környezetében. A TIM-3 (T-sejt immunglobulin- és mucindomént tartalmazó) receptor több T-limfocita-alcsoport mellett NK-sejteken, makrofágokon és dendritikus sejteken is kifejeződik. Liganduma, a galectin-9 főként Treg-sejteken expresszálódik, és kapcsolódása a TIM-3-hoz fontos szerepet játszik az 1-es típusú segítő T-limfociták (Th1) aktivitása gátlásában. A TIM-3 expressziója megfigyelhető tumorinfiltráló limfocitákon, és leírták liganduma, a galectin-9 kifejeződését is daganatsejteken (3, 4).

AZ IMMUN-ELLENŐRZÉSI PONTOK GÁTLÁSÁRA IRÁNYULÓ TERÁPIÁS VIZSGÁLATOK

A T-sejtek aktivációját fékező molekuláris szabályozó rendszer elemei a daganatok környezetében is kifejeződnek, és hozzájárulhatnak a tumorelles immunvédekezés hatékonyságához. Logikus következtetés tehát, hogy e molekulák működésének blokkolásával felszabadíthatjuk az immunrendszert az általuk kifejtett gátló hatás alól, így serkentve a daganat elleni immunválasz kialakulását.

CTLA-4

Az immunmodulátor ellenanyagok első célpontja a CTLA-4 receptor volt, s ennek megfelelően a CTLA-4-et célzó egyik antitest, az ipilimumab (Yervoy; Bristol-Myers Squibb) jutott a leginkább előrehaladott stádiumba humán terápiás felhasználás szempontjából: 2011-ben törzskönyvezték áttétes melanómás betegek első vonalú kezelésére. Már a 90-es években elkezdődtek az állatkísérletes vizsgálatok a CTLA-4 elleni antitestekkel, egyedüli terápiaként, illetve kevésbé immunogén daganatok esetén tumorsejtvakcinával kombináltan (21, 22). A sikeres preklinikai kísérleteket nem sokkal később követték a korai fázisú klinikai vizsgálatok két (teljesen humán) anti-CTLA-4 ellenanyag, a már említett ipilimumab (más néven MDX-CTLA4, MDX-010) és a tremelimumab (korábbi nevén ticilimumab, CP-675,206; Pfizer) alkalmazásával, monoterápiaként vagy vakcinációval kombináltan (23–28). Metasztatikus melanómás betegekben 10–20%-os objektív válaszarány mellett a betegek nagyobb hányadában észleltek autoimmun mellékhatásokat („immune-related adverse events”, irAEs). Ezek megjelenése több vizsgálatban korrelációt mutatott a klinikai válaszzal (29–31), az összefüggés azonban nem egyértelmű (28). A CTLA-4-blokád a szisztémás (auto)immunitás mellett fokozta a tumorspecifikus T-sejt-aktivitást is (24, 30, 32), illetve egyes immunsejt-típusok infiltrációját (23, 33, 34), ez azonban nem feltétlenül korrelált a klinikai hatással.

Az ipilimumabbal és tremelimumabbal végzett, hasonló hatásosságot mutató korai fázisú klinikai kísérletek ellenére a két antitest első fázis III vizsgálati különböző eredményekkel zárultak. A tremelimumab esetében 655, nem operálható IIIc vagy IV-es stádiumú melanómás betegen a kísérleti gyógyszer hatását az általánosan használt kemoterápiás szerekekkel (dakarbazin vagy temozolomid) hasonlították össze, és mivel az interim analízis során nem találtak szignifikáns túlélésbeli különbséget, a vizsgálatot a tervezett befejezés előtt leállították. A végső elemzésnél ugyanakkor kiderült, hogy bár a két karon az objektív válaszarány hasonló volt (10,7% a tremelimumab és 9,8% a kemoterápia esetén) és a túlélésben sem találtak szignifikáns különbséget (medián: 12,6 hónap vs. 10,7 hónap, $p=0,127$), a válasz

időtartama hosszabb volt a tremelimumab esetében (35,8 hónap vs. 13,7 hónap, $p=0,0011$) (35). Magyarázatot adhat a szignifikáns túlélésbeli különbség hiányára a kontrollkaron a vártnál hosszabb túlélés, melynek hátterében állhat az alkalmazott betegszelekció (a magas LDH-szintű betegek kizárása), illetve a kontroll kar betegei számára is – a trialen kívül – beszerezhető ipilimumab esetleges használata.

Az ipilimumab ugyanakkor sikerebben vette az akadályt: az első, mérőföldkőnek számító fázis III vizsgálat szignifikáns túlélési előnyt jelzett az ipilimumabbal kezelt betegek esetében (36). A 676, nem operálható III-as, illetve IV-es stádiumú melanómás beteg bevonásával végzett randomizált vizsgálatban az egyedüli szerként, illetve gp100 peptidvakcinával kombinációban adott ipilimumabot (3 hetente 3 mg/kg dózisban adagolva) az önmagában adott gp100 peptidvakcinával hasonlították össze. A legjobb objektív válaszarányt az egyedül ipilimumabot kapott csoportban mérték (10,9% vs. 5,7% az ipilimumab + gp100 és 1,5% a gp100 karon). A teljes túlélésben nem volt szignifikáns különbség a két ipilimumabot kapó kar között (medián: 10,1, illetve 10,0 hónap), és mindkettő meghaladta a gp100 kar medián értékét (6,4 hónap; $p=0,003$). A két ipilimumabos karon 10–15% volt a súlyos (grade 3–4), a megnövekedett immunaktivitással összefüggő mellékhatások (irAE) aránya, és 14, kezeléssel összefüggő haláleset is regisztráltak (2,1%), melyből 7 volt immunológiai eredetű. A súlyos immunaszociált mellékhatások leggyakrabban a gasztrointesztinális traktust érintették (hasmenés, colitis).

Egy másik, placebokontrollált, randomizált fázis III vizsgálatban 502, kezeletlen áttétes (stage III, illetve IV) melanómás beteg részesült ipilimumabbal kombinált (10 mg/kg 3 hetente) dakarbazin illetve dakarbazin + placebo kezelésben (37). A kezelésre adott válasz aránya (CR + PR) 15,2% vs. 10,3% volt az ipilimumabot is, illetve csak dakarbazint kapók között ($p=0,09$), és szignifikáns különbséget találtak a két csoport túlélésében (11,2 hónap vs. 9,1 hónap). Súlyos immunaszociált mellékhatások az ipilimumabos karon 38,1%-ban fordultak elő, és – a fent említett vizsgálattól eltérően – a leggyakrabban a májat érintették (hepatitis). A vizsgálat 4 éves túlélési adatai alapján az ipilimumab-DTIC kar betegeinek túlélése közel 10%-kal meghaladta a placebo-DTIC kar betegeinek túlélését, 19% vs. 9,6% (38). Egy másik, három különböző fázis II vizsgálat összesen 487 betegének követése alapján készült túlélési elemzés alapján az ötéves túlélés 12–28% volt előkezelt betegekben, míg 38–50% azoknál a betegeknek, akik korábbi kezelésben nem részesültek (39).

A Magyarországon ipilimumabkezelésben részesített közel 100 melanómás betegből 57 az Országos Onkológiai Intézetben kapta a kezelést, részben a 2010-ben indított kiterjesztett hozzáférési program, részben pedig a 3 mg vs. 10 mg

ipilimumab hatását előrehaladott melanómán tesztelő CA184-169 klinikai vizsgálat keretein belül. Az immunasszociált mellékhatások közül leggyakrabban, közel 30%-ban bőrtüneteket (dermatitis, pruritus, urticaria), 2-3%-ban colitist, 6-8%-ban hasmenést észleltünk, 1 betegnél Gr 4 nephritis jelentkezett.

PD-1 és PD-L1

A CTLA-4 elleni antitestek mellett a PD-1-útvonal gátlásával kapcsolatosan gyűlt össze a legtöbb kísérletes és klinikai információ. A B7/CTLA-4 kölcsönhatással szemben, mely a sejtközvetített immunválasz kezdeti fázisának legfontosabb szabályozó mechanizmusa, a PD-1-nek fiziológiásan főként a T-sejt-aktiváció későbbi, végrehajtási fázisában van szerepe, a perifériás szövetekben a gyulladáshoz vezető reakciók és az autoimmunitás gátlásában. A különbség megmutatkozik a géndeficiens egerek fenotípusában is: míg a „főkapcsoló” CTLA-4 kiiktatása letális immun-hiperaktivitást eredményez, a PD-1-deficiencia autoimmun hatásai jóval enyhébbek és később alakulnak ki. A PD-1 receptor ligandumaival való kölcsönhatása ugyanakkor a daganatok fontos immunrezisztencia-mechanizmusának bizonyult (3, 12), ígéretes célpontja ezért az antitumorális immunválasz „akadálymentesítésére” irányuló terápiának. Ezt számos állatkísérletes tanulmány igazolta, melyek szerint a PD-1 vagy ligandumai gátlása a tumorelles immunitás fokozódását eredményezte (12, 15, 40).

A jelenleg klinikai alkalmazásban levő anti-PD-1 ellenanyagok közül a leginkább előrehaladott fázisban a nivolumab (más néven MDX-1106 vagy BMS936558; Bristol-Myers Squibb) van, mely teljesen humán antitest. Az első, más kezelésre nem reagáló áttétes szolid daganatos betegeken végzett fázis I vizsgálat klinikai aktivitást igazolt melanóma, vese-, vastag- és végbél-, illetve tüdőrák esetén, mérsékelt toxicitás mellett (39 betegből 1 esetben volt súlyos immunasszociált szövődés) (41). Érdekes módon a kezelésre adott válasz korrelációt mutatott a PD-L1 ligandum kifejeződésével a tumorsejtek felszínén. Ezeket az eredményeket egy későbbi, nagyobb esetszámmal végzett vizsgálat megerősítette, melyben a kezelésre adott objektív válasz aránya melanóma esetében 28% volt, és a hatás tartósan bizonyult (42). Súlyos (grade 3, illetve 4) mellékhatást a betegek 14%-ában észleltek, melyből 6% volt potenciálisan immunasszociált. A betegek egy részében lehetőség volt a kezelés előtti tumormintákban a PD-L1 ligandum sejtfelszíni expressziójának meghatározására, mely ebben a vizsgálatban is korrelált a klinikai hatással: míg PD-L1-pozitív daganat esetében 36%-os válaszarányt tapasztaltak (9/25 beteg), addig a PD-L1-negatív tumoros 17 beteg egyike sem reagált a kezelésre. Két másik, klinikai kipróbálás alatt álló PD-1-antagonista ellenanyag közül az MK-3475 humanizált antitest (Merck) magas válaszarányt eredményezett metasztatikus melanómában, míg a CT-011-

et (CureTech) eddig elsősorban hematológiai daganatokon tesztelték (15, 28). A PD-L1 ligandum gátlására kifejlesztett MDX-1105 (BMS-936559; Bristol-Myers Squibb) ellenanyagot tesztelő fázis I vizsgálat (43) többféle daganaton is a szer hatékonyságát igazolta (előrehaladott melanóma, tüdő-, vese-, illetve petefészekrák). Melanóma esetében az objektív válasz aránya 17% volt (az alkalmazott dózistól függően 6–29%), és az esetek nagy részében a kezelés hatása tartósan bizonyult. A mellékhatások ugyanakkor többnyire enyhék voltak (grade 3-4: 9%, immunasszociált: 5%). Számos, a PD-1-útvonal blokkolására irányuló klinikai vizsgálat van folyamatban melanómán és egyéb daganatokon, főként a PD-1-antagonista ellenanyagokkal monoterápiaként, illetve kombinációban egyéb terápiás modalitásokkal (15).

EGYÉB NEGATÍV SZABÁLYOZÓ MOLEKULÁK, MINT LEHETSÉGES TERÁPIÁS CÉLPONTOK

A PD-1-útvonalhoz és különösen a CTLA-4-hez viszonyítva egyelőre igen kevés adat áll rendelkezésre egyéb immunválaszt gátló mechanizmusok felfüggesztésére irányuló terápiás megközelítések tumorelles hatásáról. A LAG-3 molekulát célzó antitesttel való kezelés, különösen anti-PD-1 ellenanyaggal kombinálva, hatékonyan bizonyult többféle kísérletes tumor ellen, melyekben az infiltráló T-sejteken a két receptor együttes kifejeződése volt megfigyelhető (44). A tumorinfiltráló T-limfocitákon a TIM-3 receptor is koexpressziót mutatott a PD-1-gyel, és a két gátló mechanizmus együttes blokkolása preklinikai modellben hatásosabb volt az egyedüli kezeléseknél (45). A TIM-3 (és a TIM-4) molekulák elleni antitestek vakcinációval együtt alkalmazva fokozták annak tumornövekedést gátló képességét egér B16-F10 melanómán (46).

AZ IMMUNTERÁPIÁRA ADOTT VÁLASZ JELLEMZŐI

A számos, főleg áttétes melanómán ipilimumabbal végzett klinikai vizsgálat alapján világossá vált, hogy az immunterápiás protokollokra adott válasz kinetikája alapvetően különbözik a konvencionális citotoxikus, illetve a molekulárisan célzott (pl. tirozinkináz-inhibitorok) terápiás modalitásokétól. Míg azok esetében a kezelés eredménye sokszor már az adagolás kezdetétől számított néhány héten belül megmutatkozik, az immunellenőrző pontok blokkolására, illetve egyéb immunterápiákra adott válasz általában jóval később jelentkezik, tipikusan több hónap múlva, a hatásos tumorelles immunválasz kialakulása időigényességének megfelelően (47). A klinikai válasz kialakulását megelőzően esetenként még az áttétek kezdeti méretnövekedése is megfigyelhető képpalkotó vizsgálatokkal, ami feltehetően

a megnövekedett immunsejt-infiltrációval hozható összefüggésbe. A terápiás válasz többféle formában megjelenhet: a meglévő léziók zsugorodása újak megjelenése nélkül; tartós stabilizálódás, esetenként a teljes tumortömeg lassú csökkenésével; kezdeti tumortömeg-növekedést követő klinikai válasz; klinikai válasz új léziók megjelenése mellett. Lényeges azonban, hogy mindegyik válaszmintázat kedvező túléléssel járt együtt (48). A különböző hatáskinetika miatt a citotoxikus szerek hatásának értékelésére kifejlesztett szempontrendszerek, mint a WHO- vagy RECIST-kritériumok alkalmazásával nem minden esetben lehet megfelelően lemérni a daganatellenes immunválasz befolyásolását célzó terápiák hatékonyságát. Új szempontrendszert fejlesztettek ezért ki az immunterápiás protokollok értékelésére, amely figyelembe veszi a különböző lehetséges választípusokat (irRC: immune-related response criteria, immunfüggő válasz kritériumok) (47, 48). Lényege a teljes tumorterhelés (indexlézió térfogatának és az új léziók térfogatának összege) mérése. Ha például a tumorterhelés legalább 50%-kal csökken, akkor új léziók megjelenése esetén is a terápiás választ parciális regresszióknak tekintjük.

Az immunterápiákra adott válasz jellemző kinetikája azt is eredményezi, hogy a kezelés hosszú távú eredményességének értékelése jobb objektív válaszarányt eredményezhet, mint a vizsgálat befejezése idején meghatározott mutatók. A stabil betegség például idővel részleges válasszá (PR), míg ez utóbbi komplett válasszá (CR) alakulhat (49, 50). Fontos jellemzője emellett az immunterápiás protokollok klinikai hatásának, hogy – bár a rövid távon észlelhető válaszarány alacsonyabb, mint pl. a vemurafenibé – a kezeléssel a betegek egy kisebb hányadában tartós remisszió érhető el, akár gyógyulás is (25, 36, 42, 43, 49, 51). Prieto és mtsai tanulmányában, mely három korábbi, az ipilimumabot önmagában, gp100 peptidvakcinával, illetve interleukin-2-vel kombinációban metasztatikus melanómás betegeken alkalmazó klinikai vizsgálat hosszú távú értékelését végezte el, kimutatták, hogy a CR-t mutató betegek nagy többsége (14/15) a kezelés után 5-8 évvel továbbra is remisszióban volt (49). A hosszú távú hatás hátterében valószínűsíthető az immunológiai memória kialakulása és védő hatása, ami magyarázhatja a korábban más immunterápiás modalitások esetében megfigyelt hasonló eredményeket is, pl. a nagy dózisu IL-2-re vagy az adoptív sejtttranszferre reagáló előrehaladott melanómás betegeknél (52–54).

A TERÁPIA SIKERESSÉGÉT MEGJÓSLÓ BIOMARKEREK KUTATÁSA

Az immunrendszer gátló mechanizmusait blokkoló ellenanyag-terápiás megközelítések tehát képesek áttétes melanómás betegeknél hosszú távú remissziót előidézni, azonban

a betegeknek csak egy kis hányadában, és sokszor súlyos mellékhatások árán. Kiemelt fontosságú ezért olyan biomarkerek keresése, amelyek segítségével meghatározható lenne a kezelésre nagy valószínűséggel reagáló betegek köre. Ipilimumab esetén újabb vizsgálatok alapján felmerült néhány potenciális prediktív marker, pl. a kezelés előtt vagy annak kezdeti fázisában 1000/μl-nél nagyobb abszolút limfocitaszám (55–57) vagy alacsony neutrofil/limfocita arány (58); az ICOS⁺ (indukálható kostimulátor) T-sejtek mennyiségének emelkedése (58); a NY-ESO-1 antigén elleni antitestek, illetve T-sejt-válasz (32); a tumorban a kezelés előtti nagyszámú FOXP3⁺ sejt, illetve a kezelést követően a tumorinfiltráló limfociták számának emelkedése (59). Melanómás betegek tumorbiopsziái génexpressziós profiljának vizsgálata az ipilimumabra reagáló csoportban számos immunasszociált gén (T-sejt-markerek, citokinek, kemokinek, MHC molekulák, immunglobulinok) magasabb kiindulási expressziós szintjét mutatta, valamint ezekben a betegekben a kezelés hatására az immunválasz kialakulásával kapcsolatba hozható gének kifejeződése emelkedett, míg a sejtosztódással kapcsolatos géneké csökkent (60). Mindezek az eredmények arra utalnak, hogy a betegek immunaktivitási szintje – mind szisztémásan, mind lokálisan, a tumor területén – összefüggésbe hozható az anti-CTLA-4 ellenanyagok klinikai hatásosságával.

A PD-1-útvonalat gátló ellenanyagok esetében potenciális prediktív markerként jön számításba a PD-L1 ligandum expressziója a daganatsejtek felszínén (41, 42). Melanocitás léziókban a PD-L1 megjelenése összefüggést mutatott a tumor infiltráló limfociták jelenlétével, és az általuk termelt gamma-interferon stimulálja az expressziót (61). Ezen eredmények alapján valószínűsíthető, hogy a CTLA-4-gátláshoz, illetve potenciálisan más immunterápiás modalitásokhoz hasonlóan – a PD-1-útvonal blokkolását célzó terápia sikerességét megnövelheti a beteg meglévő, bár stimuláció nélkül a tumorprogresszió fékentartásához nem eléggé hatékony daganatellenes immunaktivitása.

KÖVETKEZTETÉSEK, PERSPEKTÍVÁK

A metasztatikus melanóma standard kezelése – sokévnnyi egy helyben topogás után – az utóbbi évben gyökeresen átalakult, két új ágens, a vemurafenib és az ipilimumab 2011-es törzskönyvezésének köszönhetően. A két szer eltérő hatásmechanizmusa következtében különbözik a klinikai válasz kinetikája és az alkalmazhatóság kritériumai is. Míg a BRAF-inhibitor vemurafenib a BRAF-mutáns esetek jelentős részében drámaian gyors (ugyanakkor többnyire viszonylag rövid idejű) hatást vált ki, az immungátló CTLA-4 receptort blokkoló ipilimumab esetében a betegek egy kisebb hányadában tapasztalható klinikai válasz, a reagáló betegek többségében azonban hosszú távú túlélési előnyt eredményezve. A klini-

kai tapasztalatok alapján ipilimumabterápiától elsősorban a tünetszegény, alacsony tumorterhelésű IV-es stádiumú betegek esetében várható megfelelő terápiás válasz, ilyen esetekben BRAF-mutáció esetén is az ipilimumab ajánlott első vonalas kezelésként. Kiterjedt metasztázisok esetén elsőként BRAF-inhibitor, vagy NRAS-mutáció esetén MEK-inhibitor választandó (62).

Az ipilimumab esetében emellett – hasonlóan a többi, immunszabályozó támadáspontú ellenanyaghoz, illetve más immunterápiás modalitásokhoz is (47) – a klinikai válasz lefolyása igen heterogén, ami sok esetben megnehezíti a tradicionális szempontrendszerek alapján történő hatásértékelést, új kritériumrendszer kialakítását téve szükségessé (48). Az immunrendszer stimulálását célzó kezelésmódoknál tapasztalt alacsonyabb válaszaráta részben annak tulajdonítható, hogy – szemben a célzott terápiákkal, melyeknél a kezelés feltétele a megfelelő mutáció megléte, mely viszonylag stabil – ezek nem közvetlenül a daganatsejtekre hatnak, és így nehezebb megfelelő prediktív faktort találni, amely segítené a kezelésre jó eséllyel reagáló betegek kiválasztásában. A potenciális markerek ráadásul nem stabilak, minthogy a beteg immunológiai státusának, illetve a daganat környezetének változásával ezek expressziója is változhat. Eddig nem sikerült az új immunterápiás modalitások esetében alkalmazható, bizonyítottan hatékony biomarkereket találni, ezért – tekintettel a viszonylag alacsony válaszarányra és a súlyos mellékhatások előfordulására – továbbra is a kutatások egyik fókuszja ilyen markerek keresése.

A klinikai hatás növelésének esélyét hordozza magában emellett a kombinációs kezelések előtérbe kerülése. Az immunellenőrző pontokat blokkoló ellenanyagok egymással, más immunterápiás modalitásokkal, illetve kemo-, sugár- vagy célzott terápiás szerekkel való kombinálására preklinikai, illetve részben klinikai vizsgálatok is folytak vagy folyamatban vannak (15, 27, 28, 51, 56). Felmerül az adjuváns, illetve neoadjuváns alkalmazás lehetősége is, amit indokol egyrészt a kevésbé előrehaladott stádiumban levő betegek feltehetően jobb általános immunstátusa, másrészt a neoadjuváns megközelítés lehetőséget nyújt a daganat környezetében az immunsejtek kezelés előtti és utáni állapotának összehasonlítására, ami hozzájárulhat az immunaktivitást célzó kezelésmódok hatásmechanizmusának tisztázásához és ez által esetleges új prediktív markerek azonosításához (51, 63).

IRODALOM

1. Anichini A, Vegetti C, Mortarini R. The paradox of T cell-mediated antitumor immunity in spite of poor clinical outcome in human melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 53:855–864, 2004
2. Gajewski T. Failure at the effector phase: Immune barriers at the level of the melanoma tumor microenvironment. *Clin Cancer Res* 13:5256–5261, 2007
3. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12:252–264, 2012
4. Mocellin S, Benna C, Pilati P. Coinhibitory molecules in cancer biology and therapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 24:147–161, 2013
5. Ladányi A. A malignus melanoma immunterápiájának lehetőségei. *Magy Onkol* 47:113–117, 2003
6. Seliger B, Marincola FM, Ferrone S, Abken H. The complex role of B7 molecules in tumor immunology. *Trends Mol Med* 14:550–559, 2008
7. Salama AKS, Hodi S. Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4. *Clin Cancer Res* 17:4622–4628, 2011
8. Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, et al. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* 3:541–547, 1995
9. Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, et al. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctl4. *Science* 270:985–988, 1995
10. Gough SC, Walker LS, Sansom DM. CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity. *Immunol Rev* 204:102–115, 2005
11. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1 (PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 24:207–212, 2012
12. Dong H, Strome SE, Salomao DR, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 8:793–800, 2002
13. Zou W, Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 8:467–477, 2008
14. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 114:1537–1544, 2009
15. Sznol M, Chen L. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer. *Clin Cancer Res* 19:1021–1034, 2013
16. Camisaschi C, Casati C, Rini F, et al. LAG-3 expression defines a subset of CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ regulatory T cells that are expanded at tumor sites. *J Immunol* 184:6545–6551, 2010
17. Demeure CE, Wolfers J, Martin-Garcia N, et al. T lymphocytes infiltrating various tumour types express the MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 (LAG-3): role of LAG-3/MHC class II interactions in cell-cell contacts. *Eur J Cancer* 37:1709–1718, 2001
18. Hemon P, Jean-Louis F, Ramgolam K, et al. MHC class II engagement by its ligand LAG-3 (CD223) contributes to melanoma resistance to apoptosis. *J Immunol* 186:5173–5183, 2011
19. Derré L, Rivals JP, Jandus C, et al. BTLA mediates inhibition of human tumor-specific CD8⁺ T cells that can be partially reversed by vaccination. *J Clin Invest* 120:157–167, 2010
20. Fourcade J, Sun Z, Pagliano O, et al. CD8⁺ T cells specific for tumor antigens can be rendered dysfunctional by the tumor microenvironment through upregulation of the inhibitory receptors BTLA and PD-1. *Cancer Res* 72:887–896, 2011
21. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 271:1734–1736, 1996
22. van Elsas A, Hurwitz AA, Allison JP. Combination immunotherapy of B16 melanoma using anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (Ctla-4) and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (Gm-Csf)-producing vaccines induces rejection of subcutaneous and metastatic tumors accompanied by autoimmune depigmentation. *J Exp Med* 190:355–366, 1999
23. 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

24. 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
25. 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
26. Wolchok J, Neyns B, Linette G, et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomized, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. *Lancet Oncol* 11:155–164, 2010
27. Lipson EJ, Drake CG. Ipilimumab: an anti-CTLA-4 antibody for metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 17:6958–6962, 2011
28. Melero I, Grimaldi AM, Perez-Gracia JL, Ascierto PA. Clinical development of immunostimulatory monoclonal antibodies and opportunities for combination. *Clin Cancer Res* 19:997–1008, 2013
29. Attia P, Phan GQ, Maker AV, et al. Autoimmunity correlates with tumor regression in patients with metastatic melanoma treated with anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4. *J Clin Oncol* 23:6043–6053, 2005
30. Sanderson K, Scotland R, Lee P, et al. Autoimmunity in a phase I trial of a fully human anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 monoclonal antibody with multiple melanoma peptides and Montanide ISA for patients with resected stages III and IV melanoma. *J Clin Oncol* 23:741–750, 2005
31. Downey SG, Klapper JA, Smith FO, et al. Prognostic factors related to clinical response in patients with metastatic melanoma treated by CTL-associated antigen-4 blockade. *Clin Cancer Res* 13:6681–6688, 2007
32. Yuan J, Adamow M, Ginsberg BA, et al. Integrated NY-ESO-1 antibody and CD8⁺ T-cell responses correlate with clinical benefit in advanced melanoma patients treated with ipilimumab. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:16723–16728, 2011
33. Ribas A, Comin-Anduix B, Economou JS, et al. Intratumoral immune cell infiltrates, FoxP3, and indoleamine 2,3-dioxygenase in patients with melanoma undergoing CTLA4 blockade. *Clin Cancer Res* 15:390–399, 2009
34. Huang RR, Jalil J, Economou JS, et al. CTLA4 blockade induces frequent tumor infiltration by activated lymphocytes regardless of clinical responses in humans. *Clin Cancer Res* 17:4101–4109, 2011
35. Ribas A, Kefford R, Marshall MA, et al. Phase III randomized clinical trial comparing tremelimumab with standard-of-care chemotherapy in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol* 31:616–622, 2013
36. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 363:711–723, 2010
37. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, Robert C, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated melanoma. *N Engl J Med* 364:2517–2526, 2011
38. Maio M, Bondarenko I, et al. Four-year survival update for metastatic melanoma (MM) patients (pts) treated with ipilimumab (IPI) + dacarbazine (DTIC) on phase 3 study CA184-024. *Ann Oncol* 23(Suppl 9):367, 2012
39. Lebbé C, Weber JS, Maio M, et al. Five-year survival rates for patients (pts) with metastatic melanoma (MM) treated with ipilimumab (IPI) in phase II trials. *Ann Oncol* 23(Suppl 9):363–364, 2012
40. Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, et al. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:12293–12297, 2002
41. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* 28:3167–3175, 2010
42. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 366:2443–2454, 2012
43. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQM, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 366:2455–2465, 2012
44. Woo SR, Turnis ME, Goldberg MV, et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res* 72:917–927, 2011
45. Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, et al. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity. *J Exp Med* 207:2187–2194, 2010
46. Baghdadi M, Nagao H, Yoshiyama H, et al. Combined blockade of TIM-3 and TIM-4 augments cancer vaccine efficacy against established melanomas. *Cancer Immunol Immunother* 62:629–637, 2013
47. Hoos A, Eggermont AMM, Janetzki S, et al. Improved endpoints for cancer immunotherapy trials. *J Natl Cancer Inst* 102:1388–1397, 2010
48. Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res* 15:7412–7420, 2009
49. Prieto PA, Yang JC, Sherry RM, et al. CTLA-4 blockade with ipilimumab: long-term follow-up of 177 patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 18:2039–2047, 2012
50. Lipson EJ, Sharfman WH, Drake CG, et al. Durable cancer regression off-treatment and effective reinduction therapy with an anti-PD-1 antibody. *Clin Cancer Res* 19:462–468, 2013
51. Callahan MK, Postow MA, Wolchok JD. Immunomodulatory therapy for melanoma: Ipilimumab and beyond. *Clin Dermatol* 31:191–199, 2013
52. Rosenberg SA, Yang JC, White DE, et al. Durability of complete responses in patients with metastatic cancer treated with high-dose interleukin-2. *Ann Surg* 228:307–319, 1998
53. Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, et al. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol* 17:2105–2116, 1999
54. Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 17:4550–4557, 2011
55. Ku GY, Yuan J, Page DB, et al. Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting. *Cancer* 116:1767–1775, 2010
56. Ascierto PA, Kalos M, Schaer DA, et al. Biomarkers for immunostimulatory monoclonal antibodies in combination strategies for melanoma and other tumor types. *Clin Cancer Res* 19:1009–1020, 2013
57. Delyon J, Mateus C, Lefeuvre D, et al. Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma: an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival. *Ann Oncol* 24:1697–1703, 2013
58. Di Giacomo AM, Calabrò L, Danielli R, et al. Long-term survival and immunological parameters in metastatic melanoma patients who responded to ipilimumab 10 mg/kg within an expanded access programme. *Cancer Immunol Immunother* 62:1021–1028, 2013
59. Hamid O, Schmidt H, Nissan A, et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J Transl Med* 9:204, 2011
60. Ji RR, Chasalow SD, Wang L, et al. An immune-active tumor microenvironment favors clinical response to ipilimumab. *Cancer Immunol Immunother* 61:1019–1031, 2012
61. Taube JM, Anders RA, Young GD, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-H1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med* 4:127ra37, 2012
62. Dummer R, Hauschild A, Guggenheim M, et al. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 23(Suppl 7):vii86–91, 2012
63. Davar D, Tarhini AA, Kirkwood JM. Adjuvant immunotherapy of melanoma and development of new approaches using the neoadjuvant approach. *Clin Dermatol* 31:237–250, 2013