

ТИТОВ К. С., ЧИКИЛЕВА И. О., КИСЕЛЕВСКИЙ М. В., КАЗАКОВ А. М.  
TITOV K. S., CHIKILEVA I. O., KISELEVSKIY M. V., KAZAKOV A. M.

## Лимфоидная инфильтрация как предиктор эффективности иммунотерапии меланомы

### Lymphoid infiltration as a predictor of successful immunotherapy with melanoma

**Цитирование:** Titov K. S., Chikileva I. O., Kiselevskiy M. V., Kazakov A. M. Lymphoid infiltration as a predictor of successful immunotherapy with melanoma. *Malignant Tumours* 2017; 1: 61–66

**DOI:** 10.18027/2224–5057–2017–1–61–66

#### Резюме

Меланома кожи составляет 1–4% от всех онкологических заболеваний. Среди всех злокачественных опухолей кожи меланома занимает особое место, на ее долю приходится около 4% от всех форм онкологических заболеваний кожи, однако 80% смертей в данной группе обусловлено именно меланомой. В 2014 году в России стандартизованный показатель смертности от меланомы кожи составил 1,51 на 100 000 населения. Заболеваемость меланомой кожи в РФ и многих странах мира неуклонно растет. По абсолютному приросту заболеваемости среди всех злокачественных опухолей меланома кожи занимает 2 место после рака легкого.

Увеличение числа случаев заболеваемости меланомой диктует необходимость углубленного изучения биологии данной опухоли и ее взаимодействия с системой иммунобиологического надзора. Учитывая иммуногенность меланомы, важное значение имеет характер и степень иммунного ответа на опухоль. Поэтому одним из важных прогностических факторов течения меланомы является степень выраженности и субпопуляционный состав лимфоидной инфильтрации опухоли, которая также имеет значение для подбора индивидуализированного лечения современными иммунотерапевтическими препаратами, в частности ипилимумабом, биомишенью для которого является супрессорный рецептор Т-лимфоцитов CTLA-4.

#### Abstract

Cutaneous melanoma is 1–4% of all cancers. Among all malignant skin tumors, melanoma has a special place, it accounts for about 4% of all forms of skin cancer, but 80% of deaths in the group of malignant tumors of the skin caused by melanoma. In 2014 in Russian Federation, the standardized death rate from melanoma of the skin was 1.51 per 100 000 population. The incidence of melanoma has been steadily growing in Russian Federation and many other countries. In absolute increase the incidence of all malignant tumors, skin melanoma is ranked 2nd after lung cancer. Increased incidence of melanoma necessitates in-depth study of the biology of this tumor and its interaction with the immunobiological control system. Considering the immunogenicity of melanoma, the importance of the nature of the immune response to growing tumor. Therefore, one of the most important prognostic factor of the disease in these patients is the severity and subpopulations of lymphoid infiltration of the tumor, which is also important for the selection of personalized treatments with modern immunotherapeutic drugs, such as ipilimumab, which is the biological target for T cell suppressor receptor CTLA- 4.

#### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

меланома, иммунотерапия, ипилимумаб, лимфоидная инфильтрация

#### KEY WORDS

melanoma, immunotherapy, ipilimumab, lymphoid infiltration

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

**Титов Константин Сергеевич** – д.м.н., заведующий онкохирургическим отделением опухолей кожи и мягких тканей Московского клинического научного центра Департамента здравоохранения г. Москвы, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, e-mail: ks-titov@mail.ru

**Чикилева Ирина Олеговна** – к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, г. Москва, e-mail: irinatchikileva@mail.ru

**Киселевский Михаил Валентинович** – д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий лабораторией клеточного иммунитета НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, г. Москва, e-mail: kisele@inbox.ru

**Казakov Алексей Михайлович** – студент 5 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, г. Москва, e-mail: kazakovrgmu@gmail.com

**CONTACT INFORMATION**

**Titov Konstantin Sergeevich** – MD, RhD, DSc, head of the Oncosurgery Department tumors of skin and soft fabrics in Moscow Clinical Research Centr, assistant professor of the Department of Oncology and Radiation Therapy N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, e-mail: ks-titov@mail.ru

**Chikileva Irina Olegovna** – MD, RhD, researcher of laboratory of cellular immunity N. N. Blokhin Russian Cancer Research Centre, Moscow, e-mail: irinatchikileva@mail.ru

**Kiselevskiy Mikhail Valentinovich** – MD, RhD, DSc, professor, head of the laboratory of cellular immunity N. N. Blokhin Russian Cancer Research Centre, Moscow, e-mail: kisele@inbox.ru

**Kazakov Aleksey Michaylovich** – student of the N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, e-mail: kazakovrgmu@gmail.com

**ВВЕДЕНИЕ**

Меланому традиционно относят к иммуночувствительным злокачественным новообразованиям, поскольку у ряда больных с меланомой кожи наблюдается выраженная лимфоидная инфильтрация опухоли, с которой связывают частичную регрессию опухоли (до 30% случаев при поверхностно-распространяющихся меланомах кожи) и полную регрессию (в 1–2% данной формы меланомы) [1, 2].

Лимфоидная инфильтрация опухоли – это заселение опухоли иммунокомпетентными клетками, в частности Т-лимфоцитами со специфической противоопухолевой активностью и другими видами лимфоцитов, например натуральными киллерами (НК) или ТИЛ-клетками (tumor infiltrating lymphocytes – лимфоциты, инфильтрирующие опухоль), которые способны вызывать лизис опухолевых клеток [3]. Инфильтрация опухолевой ткани лимфоцитами является одним из благоприятных прогностических факторов, коррелирующим с выживаемостью пациентов с меланомой кожи [4].

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЛИМФОИДНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ**

Прогностическое значение лимфоидной инфильтрации меланомы было показано в ряде клинических исследований. Наиболее представительным было исследование, проведенное на базе консорциума Genes, Environment and Melanoma (GEM), включавшее 2845 пациентов с первичной меланомой кожи, которые были разделены по степени выраженности лимфоидной инфильтрации опухолевой ткани на три группы:

1) с отсутствием лимфоидной инфильтрации, 2) с умеренной и 3) с выраженной степенью инфильтрации. Исследование показало, что группы пациентов с умеренной и выраженной лимфоидной инфильтрацией ассоциировались с более низкой стадией меланомы по American Joint Committee on Cancer (AJCC) по сравнению с группой пациентов с отсутствием лимфоидной инфильтрации. Смертность от меланомы была ниже на 30% и 50% у пациентов с умеренной и выраженной лимфоидной инфильтрацией соответственно, по сравнению с пациентами без признаков лимфоидной инфильтрации [5]. В другом исследова-

нии, в которое были включены 250 пациентов в возрасте до 65 лет с диагнозом первичная меланома кожи, было подтверждено прогностически благоприятное значение лимфоидной инфильтрации меланомы. Пациенты также были поделены на 3 группы: с выраженной лимфоидной инфильтрацией – 66 пациентов (31%), невыраженной – 26 (17%) и отсутствием лимфоидной инфильтрации – 111 (52%). Многофакторный анализ показал, что онкологические больные с отсутствием или умеренной лимфоидной инфильтрацией имели более низкую 5-летнюю выживаемость без признаков заболевания (76%) и меланомо-специфичную выживаемость (82%) по сравнению с пациентами с выраженной инфильтрацией (91% и 95% соответственно) [6]. На основании этих и алогичных данных в статье, вышедшей под эгидой Американской ассоциации клинической онкологии, лимфоидную инфильтрацию определили как «независимый предиктор выживаемости пациентов с первичной меланомой кожи» [7].

## СПОНТАННАЯ РЕГРЕССИЯ МЕЛАНОМЫ

Феномен полной спонтанной регрессии при злокачественных опухолях человека встречается достаточно редко, примерно 1 случай на 140.000 онкологических пациентов [8]. Спонтанную регрессию связывают с эффекторными клетками противоопухолевого иммунитета, которые, по недостаточно изученным на данный момент причинам, только в очень редких случаях могут привести к полной регрессии злокачественного образования. Данный процесс обусловлен инфильтрацией опухоли иммунокомпетентными клетками, что подтверждается клиническими исследованиями, обнаружившими выраженную лимфоидную инфильтрацию у больных со спонтанной регрессией меланомы [9, 10, 11].

## ОСОБЕННОСТИ ЛИМФОИДНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ПРОГРЕССИЮ МЕЛАНОМЫ

Несмотря на тот факт, что лимфоидная инфильтрация опухолевой ткани является благоприятным признаком и коррелирует с продолжительностью жизни пациентов с меланомой кожи, не во всех случаях рассматриваемый феномен сопровождается благоприятным течением заболевания. Это объясняется тем, что клеточный состав лимфоидного инфильтрата не однороден у различных пациентов с меланомой и его характеристики даже могут иметь органную зависимость [12]. Важнейшее значение неоднородности лимфоидного инфильтрата заключается в различном соотношении представленных в нем клеточных элементов CD8+ и CD4+ Т-лимфоцитов, НК, CD4+

CD25+ FOXP3+ Т-регуляторных лимфоцитов (Т-рег.) и клеток воспаления (нейтрофилы и макрофаги). Если CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты и НК клетки обладают противоопухолевой активностью, то Т-рег. могут ингибировать киллерные свойства клеток-эффекторов [13]. Т-рег. экспрессируют FOXP3 – транскрипционный фактор, регулирующий транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток, продукцию цитокинов и других медиаторов, участвующих в подавлении иммунного ответа [16, 17]. Наличие в лимфоидном инфильтрате большого количества воспалительных клеток, стимулирующих неопластический рост, может индуцировать опухолевый рост и является прогностически неблагоприятным фактором. В частности, показано, что значительное количество опухоли-инфильтрирующих макрофагов является маркером неблагоприятного течения меланомы и способствует повышению ее инвазивности и агрессивности течения [14]. То есть, большое количество клеток воспаления в инфильтрате опухоли, в отличие от супрессорных субпопуляций Т-лимфоцитов, которые традиционно считаются неблагоприятным фактором, может не только тормозить, но и стимулировать опухолевую прогрессию [15].

## CTLA-4-РЕЦЕПТОР

Существенную роль в процессе ингибирования иммунного ответа у больных с меланомой может играть CTLA-4 – рецептор, присутствующий у активированных Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-рег. В настоящее время CTLA-4 рассматривается как один из важнейших супрессорных регуляторов иммунных реакций. Поэтому, с целью ингибирования рецептора CTLA-4, был создан иммунотерапевтический препарат ипилимумаб, который представляет собой гуманизированные моноклональные комплементсвязывающие антитела (IgG1) к данному рецептору. Предполагалось, что антитела к CTLA-4, препятствуя взаимодействию рецептора с молекулами B7 антигенпрезентирующих клеток, будут способствовать формированию иммунных по отношению к опухоли клонов цитотоксических Т-лимфоцитов [19, 20]. В настоящее время эта концепция получила широкое распространение. Согласно устоявшимся представлениям через 48–72 часов после активации Т-лимфоцита CTLA-4 перемещается из цитоплазмы на мембрану и связывается с молекулами костимуляции B7 (CD80, CD86) на поверхности антиген-презентирующих клеток (дендритных клеток и макрофагов) с более высоким сродством, чем активационный корецептор CD28 Т-клеток, подавляя активацию лимфоцитов. В результате этого процесса Т-лимфоциты прекращают активную пролиферацию и могут стать клетками памяти [18]. Однако данная парадигма конкуренции

между активаторным корецептором CD28 и ингибиторным рецептором CTLA-4 сталкивается с рядом необъяснимых фактов. Хотя в опытах *in vitro* было показано, что CTLA-4 взаимодействует с молекулами костимуляции B7 (CD80 и CD86) антигенпрезентирующих клеток с большей аффинностью, чем костимулятор T-клеточного рецептора CD28 [25]. Однако *in vivo* картина оказалась много сложнее, так как рецептор CTLA-4 не рекрутируется в иммунные синапсы, сформированные с участием молекул CD86, в отличие от костимулирующего рецептора CD28, входящего во взаимодействие как с CD80, так и CD86 [26]. Кроме того, на экспериментальных животных было продемонстрировано, что молекулы CTLA-4 на эффекторных T-клетках не имеют определяющего значения в развитии аутоиммунных реакций [27]. Более того, свои ингибиторные функции CTLA-4 может осуществлять при отсутствии лигандов молекул B7, за которые он должен конкурировать с CD28, согласно существующей парадигме [28].

Внедрение в клиническую практику ипилимумаба – один из редких случаев, когда биологические молекулы используются в терапевтических целях до полного понимания их функциональных характеристик. Как показывают современные исследования механизм действия ингибиторов CTLA-4 значительно многообразнее и не сводится к процессу антигенной презентации. Так, например, исследования на трансгенных мышах с нокаутированным геном CTLA-4 показали, что животные, у которых отсутствовал CTLA-4-рецептор, погибали на 2–3-й неделе жизни от аутоиммунных реакций, выражающихся в массивной инфильтрации тканей лимфоцитами и фатальным разрушением тканей паренхиматозных органов [29, 30]. Развитие аутоагрессии было связано преимущественно с CD4+ T-клетками, удаление которых предотвращало развитие заболевания [31]. Удивительно, но CD8+ цитотоксические лимфоциты не участвовали в разрушении тканей у CTLA-4-негативных мышей. Роль супрессорных Foxp3+T-reg. в механизме действия ингибиторов CTLA-4 также еще не до конца ясна, но представляется очень важной. В частности, было показано, что блокирование гена CTLA-4 только в супрессорных FOXP3+T-reg. у мышей также вело к развитию аутоиммунных заболеваний, хотя гибель наступала в более поздние сроки (7–8 неделя жизни), чем у животных с полным отсутствием этого гена [31]. С другой стороны, введение T-reg. с функциональным CTLA-4 предотвращало развитие фатального лимфопролиферативного заболевания у мышей, дефицитных по CTLA-4 [32].

Другое удивительное свойство CTLA-4-рецептора – его преимущественная внутриклеточная локализация [33]. Во время образования контакта между T-лимфоцитом и антигенпрезентирующей клеткой происходит четко направленная транспортировка рецептора в иммунологический синапс.

При разработке терапии, эксплуатирующей свойства данного рецептора, очевидно, следует учитывать его биологические свойства. Во-первых, это уже упомянутая цитоплазматическая локализация, то есть ингибиторные антитела способны взаимодействовать лишь с той ничтожной долей молекул CTLA-4, которые в данный момент вышли на поверхность. Кроме того, есть четкие данные о том, что программирующее воздействие на данный рецептор возможно лишь в течение очень кратковременного периода формирования иммунного ответа в лимфатических узлах. Блокирование CTLA-4 может предотвратить развитие толерантности к определенному антигену, но, если толерантность уже развилась, его функционирование не существенно для ее поддержания [34]. Возможно, именно эти факторы определяют сравнительно невысокую эффективность противоопухолевой терапии антителами к CTLA-4 (ипилимумаб). Клинический ответ (OR) при лечении метастатической меланомы препаратом ипилимумаб по данным Hodi FS составил 10,9% [35], а 5-летняя выживаемость при лечении ипилимумабом в 3 раза превышает эффективность стандартного лечения, достигает только 18,2%. Поэтому понимание особенностей механизма действия ингибиторов может иметь важное значение для отбора пациентов и повышение эффективности лечения меланомы.

Поскольку мишень ипилимумаба – CTLA-4, который экспрессируется на активированных T-лимфоцитах, становится очевидно, что эффект данного препарата напрямую зависит от активности иммунного ответа пациента, которая в свою очередь в достаточной степени коррелирует с выраженностью лимфоидной инфильтрации опухоли. Это предположение подтверждают клинические данные, свидетельствующие о более высокой эффективности ипилимумаба у пациентов с выраженной лимфоидной инфильтрацией опухоли [21]. Одним из перспективных путей повышения эффективности ипилимумаба является комбинация этого препарата с интерлейкином-2 (ИЛ-2). Подобная комбинация обосновывается экспериментальными данными о повышении уровня экспрессии CTLA-4 на активированных ИЛ-2 лимфоцитах. Эти данные подтверждаются клиническими результатами, показавшими, что 1-летняя выживаемость при монотерапии ипилимумабом составила 46%, тогда как при использовании ипилимумаба после курса интерлейкина-2 она достигала 77%. При этом важно отметить, что ИЛ-2-терапия должна предшествовать ипилимумабу. По данным другого исследования, общая выживаемость у пациентов, получавших ИЛ-2 в сочетании с ипилимумабом, повысилась на 17% по сравнению с монотерапией ипилимумабом. Данный эффект достигается путем применения высоких доз ИЛ-2 (600,000 МЕ/кг) двумя

курсами до применения ипилимумаба [22, 23]. Помимо увеличения продолжительности жизни, предшествующие курсы ИЛ-2 также повышают уровень полного (CR) и объективного клинического ответа (OR) на терапию ипилимумабом. По данным недавних исследований, за счет применения ИЛ-2 уровень полного ответа может быть повышен на 17%, а частичного – на 12%, по сравнению с монотерапией ипилимумабом [24]. Очевидно, что помимо ИЛ-2 существуют и другие способы повысить уровень ответа на иммунотерапию anti-CTLA-4, которые еще предстоит обосновать и провести клинические испытания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наличие, степень выраженности, клеточный состав лимфоидной инфильтрации могут играть важнейшую роль как в определении прогноза опухолевого процесса при меланоме, так и в принятии решения о назначении препаратов иммунотерапевтического ряда: интерлейкина-2 и ипилимумаба. Улучшение прогноза при последовательном использовании интерлейкина-2 и ипилимумаба делает актуальными дальнейшие исследования по изучению их взаимодействия. Изучение данной проблемы позволит выработать четкие инструкции и показания к назначению ипилимумаба пациентам с меланомой.

## ЛИТЕРАТУРА • REFERENCES

1. Титов К. С., Михеева О. Ю., Казаков А. М., Егорова А. В. Роль хирургии в лечении отдаленных метастазов меланомы. Злокачественные опухоли.– 2016.– № 3.– С. 25–31.  
Titov K. S., Mikheeva O. Y., Kazakov A. M., Egorova A. V. The role of surgery in the treatment of distant metastases of skin melanoma.– *Malignant Tumours* – 2016; 3: 25–31.
2. Daniela Planska, Monika Burocziova, Jan Strnadel, Vratislav Horak. Immunohistochemical Analysis of Collagen IV and Laminin Expression in Spontaneous Melanoma Regression in the Melanoma-Bearing Libechev Minipig. *Acta Histochem Cytochem.* 2015 Feb 28; 48(1): 15–26.
3. Richard Wu, Marie-Andree Forget, Jessica Chacon, Chantale Bernatchez, etc. Adoptive T-cell Therapy Using Autologous Tumor-infiltrating Lymphocytes for Metastatic Melanoma: Current Status and Future. *Cancer J.* 2012 Mar; 18(2): 160–175.
4. Burton A. L., Roach B. A., Mays M. P., etc. Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in melanoma. *Am Surg* 2011 Feb 77:188–192.
5. Nancy E., Thomas, Klaus J. Busam, etc. Tumor-Infiltrating Lymphocyte Grade in Primary Melanomas Is Independently Associated With Melanoma-Specific Survival in the Population-Based Genes, Environment and Melanoma Study. *J Clin Oncol.* 2013 Nov 20; 31(33):4252–9.
6. Grotz T. E., Vaince F., Hieken T. J. Tumor-infiltrating lymphocyte response in cutaneous melanoma in the elderly predicts clinical outcomes. *Melanoma Res.* 2013 Apr; 23(2):132–7.
7. Farhad Azimi, Richard A. Scolyer, Pavlina Rumcheva, etc. Tumor-Infiltrating Lymphocyte Grade Is an Independent Predictor of Sentinel Lymph Node Status and Survival in Patients With Cutaneous Melanoma. *J Clin Oncol.* 2012 Jul 20; 30(21):2678–83.
8. Chang W. Y. Complete spontaneous regression of cancer: four case reports, review of literature, and discussion of possible mechanisms involved. *Hawaii Med J.* 2000; 59: 379–387.
9. Dirk M., Elston M. D. Mechanisms of Regression. *Clin Med Res.* 2004 May; 2(2): 85–88.
10. Nayeon Choi, Jae Keun Cho, Chung-Hwan Baek, etc. Spontaneous regression of metastatic cancer cells in the lymph node: a case report. *BMC Res Notes.* 2014 May 13; 7: 293.
11. Martin C. Mihm Jr and James J. Mulé. Reflections on the Histopathology of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Melanoma and the Host Immune Response. *Cancer Immunol Res* August 2015, 3; 827.
12. Matzinger P., Kamala T. Tissue-based class control: the other side of tolerance. *Nat Rev Immunol.* 2011 Mar; 11 (3):221–30.
13. Zheleznikova G. F. Regulatory t cells in immune response to infection. *Journal Infectology.* 2011; 3(1):6–13.
14. Bonnelykke-Behrndtz M.L., Steiniche T., Damsgaard T. E., etc. MelanA-negative spindle-cell associated melanoma, a distinct inflammatory phenotype correlated with dense infiltration of CD163 macrophages and loss of E-cadherin. *Melanoma Res.* 2015 Apr; 25(2):113–8.
15. Lund A. W., Medler T. R., Leachman S. A., Coussens L. M. Lymphatic Vessels, Inflammation, and Immunity in Skin Cancer. *Cancer Discov.* 2016 Jan; 6(1):22–35.

16. Hadrup S., Donia M., Thor Straten P. Effector CD4 and CD8 T Cells and Their Role in the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenviron.* 2013 Aug; 6(2):123–33.
17. Kähler K. C., Hassel J. C., Heinzerling L. Management of side effects of immune checkpoint blockade by anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies in metastatic melanoma. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2016 Jul; 14:662–81.
18. Gabriel E. M., Lattime E. C. Anti-CTL-associated antigen 4: are regulatory T cells a target? *Clin Cancer Res.* 2007 Feb 1; 13(3):785–8.
19. Hoos A., Ibrahim R., Korman A., Abdallah K., Berman D., etc. Development of ipilimumab: contribution to a new paradigm for cancer immunotherapy. *Semin Oncol.* 2010 Oct; 37(5):533–46.
20. Maio M., Grob J. J., Aamdal S., Bondarenko I., Robert C., etc. Five-Year Survival Rates for Treatment-Naive Patients With Advanced Melanoma Who Received Ipilimumab Plus Dacarbazine in a Phase III Trial. *J Clin Oncol.* 2015 Apr 1; 33(10):1191–6.
21. Tao Wang, Rajasekharan Somasundaram, Meenhard Herlyn. Combination Therapy of Immunocytokines with Ipilimumab: A Cure for Melanoma? *J Invest Dermatol.* 2013 Mar; 133(3):595–6.
22. Sapna Pradyuman Patel, Denai Milton, Mohammed M. Milhem, Lawrence E. Flaherty, etc. Sequential administration of high-dose interleukin-2 and ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *Journal of Clinical Oncology, 2016 ASCO Annual Meeting (June 3–7, 2016).*– 2016 American Society of Clinical Oncology.
23. Howard Kaufman, Jiafeng Wang, Brendan D. Curti, Joseph Clark, Marc S. Ernstoff, etc. A Phase II multicenter trial to evaluate combination ipilimumab and high-dose IL-2 in patients with unresectable stage III and IV melanoma. *Journal of Clinical Oncology, 2015 ASCO Annual Meeting (May 29 – June 2, 2015).* 2015 American Society of Clinical Oncology.
24. Peter A. Prieto, James C. Yang, Richard M. Sherry, etc. CTLA-4 Blockade with Ipilimumab: Long-Term Follow-up of 177 Patients with Metastatic Melanoma. *Clin Cancer Res.* 2012 Apr 1; 18(7):2039–47.
25. Van der Merwe P. A., Bodian D. L., Daenke S., Linsley P., Davis S. J. CD80 (B7–1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J Exp Med* (1997) 185:393–403.
26. Pentcheva-Hoang T., Egen J. G., Wojnoonski K., Allison J. P. B7–1 and B7–2 selectively recruit CTLA-4 and CD28 to the immunological synapse. *Immunity.* 2004 Sep; 21(3):401–13.
27. Read S., Greenwald R., Izcue A., Robinson N., Mandelbrot D., Francisco L. et al. Blockade of CTLA-4 on CD4+CD25+ regulatory T cells abrogates their function in vivo. *J Immunol.* 2006 Oct 1; 177(7):4376–83.
28. Shunsuke Chikuma, Abul K. Abbas and Jeffrey A. Bluestone. B-7-Independent Inhibition of T Cells by CTLA-4. *The Journal of Immunology* July 1, 2005 vol. 175 no. 1, 177–181.
29. Tivol E. A., Borriello F., Schweitzer A. N., Lynch W. P., Bluestone J. A., Sharpe A. H. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* (1995) 3:541–7.
30. Khattri R., Auger J. A., Griffin M. D. et al. Lymphoproliferative disorder in CTLA-4 knockout mice is characterized by CD28-regulated activation of Th2 responses. *J Immunol.* 1999; 162: 5784–5791.
31. Chambers C. A., Sullivan T. J., Allison J. P. Lymphoproliferation in CTLA-4-deficient mice is mediated by costimulation-dependent activation of CD4+T cells. *Immunity* (1997) 7:885–95.
32. Friedline R. H., Brown D. S., Nguyen H., Kornfeld H., Lee J., Zhang Y. et al. CD4+regulatory T cells require CTLA-4 for the maintenance of systemic tolerance. *J Exp Med* (2009) 206:421–34.
33. Linsley P. S., Bradshaw J., Greene J., Peach R., Bennett K. L., Mittler R. S. Intracellular trafficking of CTLA-4 and focal localization towards sites of TCR engagement. *Immunity.* 1996; 4(6):535–543.
34. Fife B. T., Guleria I., Gubbels Bupp M., Eagar T. N., Tang Q., Bour-Jordan H., Yagita H., Azuma M., Sayegh M. H., Bluestone J. A. Insulin-induced remission in new-onset NOD mice is maintained by the PD-1-PD-L1 pathway. *J Exp Med.* 2006; 203:2737–47.
35. Hodi F. S., O'Day S. J., McDermott D. F., Weber R. W., Sosman J. A., Haanen J. B., Gonzalez R., Robert C., Schadendorf D., Hassel J. C., Akerley W., van den Eertwegh A. J., etc. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *The New England Journal of Medicine*, vol. 363, no. 8, pp. 711–723, 2010.