

Gyermekkori medulloblastoma in vitro vizsgálata

Doktori tézisek

Pócza Tímea

Semmelweis Egyetem
Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Hauser Péter, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Jermendy Ágnes, Ph.D., egyetemi tanársegéd
Dr. Nagy Gábor, Ph.D., megbízott osztályvezető

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Kulka Janina, Ph.D., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Reiniger Lilla, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Bagó Attila György, Ph.D., osztályvezető
helyettes főorvos

Budapest
2016

Bevezetés

A gyermekkorban előforduló malignitások közül leggyakoribbak a leukémiák, ezt követik a központi idegrendszeri daganatok, amelyek a tumorról összefüggő halálozás jelentős részéért felelősek. A medulloblastoma a leggyakoribb malignus központi idegrendszeri daganat gyermekkorban, általában a vermis területén lokalizálódik, ritkábban a kisagyféltekékben is előfordul. A tumor olyan neuronális progenitorokból alakul ki, amelyekben a normál cerebellum fejlődésében és növekedésében szerepet játszó jelátviteli utakban támadt zavar (WNT, SHH, Notch, stb.). A medulloblastomának szövettanilag többféle altípusát lehet elkülöníteni, a WHO 2007 évi ajánlása alapján klasszikus, dezmozoplasztikus, extenzív noduláris, nagysejtes és anaplasztikus típusba sorolják a patológusok. Az egyes szövettani típusok prognózisa eltérő. A kezelés műtéti eltávolításból, sugár- és kemoterápiából áll. A különböző prognózisú betegek eltérő kezelésben részesülnek. A rizikó megállapításánál a betegek életkorát, a tumor szövettanát, a metasztázis esetleges jelenlétét és a műtét utáni reziduális tumor méretét veszik figyelembe. Ma már fontos szempont, hogy a terápia optimalis legyen mind a túlélés, mind az életminőség szempontjából. A kezelési protokollok fejlődésével mostanra a kedvező csoportba tartozó betegek 5 éves túlélése 70-90% között van, a magas kockázatú betegeké rosszabb. A medulloblastoma molekuláris biológiáját tekintve is heterogén tumor. Intenzív kutatások irányultak a medulloblastoma molekuláris alapon történő osztályozására. Az eredményekből született konszenzus alapján jelenleg 4 alcsoportba osztják a medulloblastomákat: WNT, SHH, 3-as és 4-es alcsoportok. A molekuláris alcsoportok között is megfigyelhető különbség a prognózisban, a WNT alcsoportú betegek jobb prognózist mutatnak, a 3-as és 4-es alcsoportok prognózisa a legrosszabb.

A medulloblastoma kezelésének fontos kérdései, hogy milyen jelenleg nem ismert tényezők befolyásolják a betegség kimenetelét és hogyan optimalizálható úgy az alkalmazott kezelés, hogy a túlélés további javítása mellett a kezelés rövid- és hosszútávú mellékhatásai csökkenjenek. A fehérjészintézis szabályozásában fontos szerepet játszó mammalian target of rapamycin (mTOR) útvonal, valamint az epigenetikai folyamatokban részt vevő DNS-metiltranszferázok (DNMT-k) prognosztikai szerepét medulloblastomában korábban nem vizsgálták.

A sejtnövekedés és anyagcsere-folyamatok egyik fontos központi szabályozója az mTOR útvonal. A fehérje egy szerin-treonin-kináz, kétfajta komplex formájában fordul elő, mTORC1 és mTORC2. Az mTOR útvonalhoz számos malignitáshoz vezető defektus társul. Az mTORC1 közvetített jelút olyan proteinek transzlációját serkenti, amelyek a sejtciklus progressziójában, a sejt túlélésében és metasztázisok képzésében fontosak. A proliferációt a megnövekedett riboszóma biogenezis is elősegíti a fehérjeszintetizáló apparátus biztosításával. Egyre több bizonyíték van az mTORC2 közreműködésére is a daganat képződésében. Számos daganattípusban (pl. emlődaganatok, colorectalis daganatok, glioblastoma, leukémiák stb.) leírták az mTOR-útvonal komponenseinek mutációit. Korábbi tanulmányok egyes medulloblastomás esetekben az AKT és ERK útvonalak abnormalis regulációját figyelték meg. A medulloblastomás betegek egy kis részében tuberous sclerosis 1 (TSC1) gén delécióját találták, mivel a TSC1 közvetetten gátolja az mTOR-t, így károsodása az mTOR útvonal aktivációjához vezethet. Az inzulinszerű növekedési faktor (IGF)-mTOR és SHH útvonal kapcsolatát írták le kisgyei szemcsesejt prekursorokban, amely elősegíti a daganat kialakulását.

Az mTOR útvonal hozzájárulása a daganatok kialakulásához felvetette a farmakológiai gátlás lehetőségét a daganatok terápiájában. Az mTOR útvonal legkorábban ismert inhibitora a rapamycin, amely az mTORC1 komplex működését gátolja. Az mTOR-gátlók egy újabb fejlesztésű csoportját alkotják azok az inhibitorok, amelyek az mTORC1 és az mTORC2 komplexet is gátolják. Az mTOR és a PI3K katalitikus doménjének hasonlósága vezetett a mindkét kinázt gátló úgynevezett duál-inhibitorok fejlesztéséhez (tehát az mTORC1-t, az mTORC2-t és a PI3K-t is gátolják). Duál-inhibitor kezeléssel ígéretes eredményeket értek el többféle tumorban. A rapamycin és származékai bizonyos medulloblastoma sejtvonalakban hatékonyak, amit *in vivo* kísérletek is alátámasztanak.

Egyre több adat szól amellett, hogy az epigenetikai változások hozzájárulnak a daganatképződéshez. Az epigenetika olyan molekuláris mechanizmusokat vizsgál, amelyek DNS bázisszekvenciájának megváltoztatása nélkül befolyásolják a gén működését és öröklődnek az utódsejtekbe. A tumor kialakulása és fejlődése során az epigenom számos változáson megy keresztül, aberráns metilációs mintázat alakul ki, megváltozik a nukleoszóma szerkezete és a hisztonok modifikációja. Ezek a különböző

epigenetikai folyamatok egymással nagyon szoros kapcsolatban vannak, és a megváltozott génextpresszió kedvez a tumoros folyamatoknak. A genetika és epigenetika együttes működése a daganatfejlődés minden stádiumában kimutatható.

A DNS-metiláció biztosítja, hogy a megfelelő gén a megfelelő időben expresszálódjon. A DNS-metiláció folyamatát a DNS-metiltranszferázok (DNMT-k) végzik, ezek az enzimek katalizálják a S-adenozil-L-metionin metil-csoportjának átkerülését a citozin 5' szénatomjára főként CpG dinukleotidot tartalmazó helyeken. A gének promóterének metilációja azok expressziójának gátlásához vezet. A DNS-metiláció folyamatában emlősökben háromféle enzim vesz részt, a DNMT1, DNMT3A és DNMT3B. A DNMT3A és DNMT3B enzimeket de novo metiltranszferázként tartják számon, a kezdeti metilációs mintázat kialakítását végzik. Fokozottan vannak jelen embrionális szövetben és csírasejtekben. A DNMT1 a későbbi metilációs mintázat fenntartásért felel, a DNS-replikáció idején felismeri a hemimetilált DNS-szálat és átmásolja a metilációs mintázatot, preferenciát mutat a hemimetilált DNS-szál iránt.

A tumorokban megfigyelték, hogy a DNS általánosan hipometilált, viszont bizonyos promóterek hipermetiláltak. A repetitív DNS-szakaszok alulmetiláltsága és tumorszupresszor gének túlmetiláltsága hozzájárulhat a kromoszómális instabilitáshoz és abnormális génextpresszióhoz, amely elősegíti a tumor kialakulását. A DNS-hibajavító gének hipermetiláltsága azok redukált expresszióját eredményezi, ezek a gének pedig szükségesek a genetikai stabilitás fenntartásához. Továbbá zavart okozhat a kromoszómális stabilitás fenntartásában azáltal, hogy nem represszálja a repeat és transzpozon elemeket, így megnő az inzerciók mutációk valószínűsége. A repetitív szakaszok metiláltsága megvéd a kromoszómális instabilitástól azáltal is, hogy gátolja a homológ rekombinációt. Tumorszupresszor gének hipermetiláltságát többféle tumorban megfigyelték már, pl. emlő- és vastagbél-daganatok, valamint agytumrok - mint például glioma és medulloblastoma - esetében is. A daganatsejtekben több száz vagy több ezer gén lehet hipermetilált. A DNMT-k túlzott expresszálódását is megfigyelték számos daganattípusban, mind mRNS, mind pedig fehérje szinten. Emelkedett DNMT1 expressziót detektáltak gyomorrákban, DNMT1 és DNMT3A expressziót emlő és pancreas tumorban, illetve DNMT1 és DNMT3B expressziót gliomában.

A DNS-metiláció reverzibilis folyamat, így a DNMT enzimek gátlása terápiás lehetőséget is nyújt. A DNMT-gátlókkal többféle daganattípusban végeztek már klinikai

vizsgálatokat, egyelőre még csak hematológiai malignitásokban mutatkozott biztató eredmény, szolid tumorokban nem sikerült daganat ellenes hatást igazolni. *In vitro* és *in vivo* kísérletekben tesztelték a DNMT-gátlókat medulloblastomában, amelyek arra utalnak, hogy DNMT-, hiszton-deacetiláz- (HDAC-) és tirozin-kináz-gátlók kombinálva hatékonyak lehetnek medulloblastoma kezelésében.

Célkitűzés

A medulloblastoma klinikai és molekuláris biológiai jellemzőket tekintve is heterogén. Intenzív kutatások irányulnak a különböző csoportok elkülönítésére, annak érdekében, hogy az eltérő biológiai háttérű tumorokkal rendelkező betegek célzott kezelést kapjanak. A molekuláris biológia fejlődésével a kutatások a molekuláris terápia felé irányulnak. Célunk az volt, hogy új molekuláris markerek vizsgálatával tovább finomítsuk és pontosítsuk a medulloblastoma biológiai háttérének megismerését és új prognosztikai markereket találjunk, amelyek terápiás szempontból is fontosak lehetnek.

Az alábbi kérdéseket vizsgáltuk:

- a) az mTOR útvonal mTORC1 ágának aktiválódása megfigyelhető-e primer humán medulloblastoma mintákban (p-mTOR és p-S6 vizsgálata)?
- b) mutat-e az mTORC1 komplex két jellemző fehérjéje, a p-mTOR és p-S6 expressziója összefüggést a betegek klinikai és patológiai jellemzőivel, használható-e prediktív markerként?
- c) a p-mTOR és a p-S6 expressziója mutat-e összefüggést a β -katenin, illetve SFRP1 ellenanyagokkal meghatározott WNT, SHH és nem-WNT/SHH molekuláris alcsoportokkal humán medulloblastomában?
- d) az mTOR útvonal gátlószerei - az mTORC1 komplexet gátló rapamycin és a mTORC1 és mTORC2 komplexet is gátló NVP-BEZ235 – hogyan hatnak medulloblastoma sejtvonalak proliferációjára, és hogyan hatnak kombinálva a medulloblastoma kezelésében használt citosztatikumokkal?
- e) az mTORC1 és mTORC2 komplex fehérjéinek jelenléte *in vitro* medulloblastoma sejtvonalakon hogyan befolyásolja a különböző mTOR-gátlók hatását?
- f) a DNS-metiltransferázok közül a 3 aktív tag, DNMT1, DNMT3a és DNMT3b expresszálódik-e primer humán medulloblastoma mintákban?

- g) mutat-e a DNS-metiltransferázok expressziója összefüggést a betegek klinikai és patológiai jellemzőivel, használható-e prediktív markerként?
- h) van-e összefüggés a DNS-metiltransferázok expressziója és a β -katenin, illetve SFRP1 ellenanyagokkal meghatározott WNT, SHH és nem-WNT/SHH molekuláris alcsoportok között humán medulloblastomában?

Módszerek

A vizsgálatokhoz 44 medulloblastomával diagnosztizált beteg formalinban fixált paraffinba ágyazott tumormintáit használtuk fel (Etikai engedélyek: TUKEB 100/2012 és 30/2015). A mintákból szöveti microarray (TMA) blokkokat állítottuk össze. Az elkészített TMA blokkokból 4 μ m-es metszeteket vágunk és ezeken végeztük el az immunhisztokémiai reakciókat. Az mTOR jelátviteli út vizsgálatához p-S6-és p-mTOR-specifikus ellenanyagokat a DNS-metiltransferázok jelöléséhez DNMT1-, DNMT3A- és DNMT3B-specifikus ellenanyagokat, WNT és SHH útvonal aktiválódásának vizsgálatára anti- β -katenin és anti-SFRP1 (secreted frizzled-related protein 1) ellenanyagot használtunk. A p-mTOR és p-S6 fehérjék citoplazmatikus, a DNMT-k sejtmagi reakcióját vettük figyelembe az értékelésnél.

Két különböző hatásmechanizmusú mTOR-gátló (az mTORC1 komplexet gátló rapamycin és az mTORC1, illetve az mTORC2 komplexet és a PI3K-t gátló NVP-BEZ235) proliferációra gyakorolt hatását teszteltük két medulloblastoma sejtvonalon (Daoy, UW228-2) önmagában és kombinálva a medulloblastomában használatos citosztatikumokkal. A sejtek proliferációjának gátlását metil-tiazol-tetrazolium (MTT)-teszttel vizsgáltuk 72 órás kezelési idő után. Mindkét sejtvonalon teszteltük immuncitokémiai vizsgálattal az mTOR-komplex jellemző fehérjéinek expresszióját, a p-mTOR-t, amely mindkét komplexnek tagja, a p-S6-ot és a Raptort, amelyek az mTORC1 részei, és a Rictort, amely az mTORC2 komplexben fordul elő.

Eredmények

A páciensek medián életkora 8,5 év (1,1 - 28,7 év), köztük négyen (10%) fiatal felnőttként (>18 év) betegedtek meg, a fiúk aránya 55%. A 0-3 éves korcsoportban a lányok aránya lényegesen magasabb (5:1) volt a fiúkénál. A tumorminták 84,1%-a mutatott klasszikus, 11,4%-a dezmozoplasztikus és 4,5%-a nagysejtes/anaplasztikus

szöveti típust. A túlélési adatok az esetek 90,9% -ában voltak elérhetőek, a medián követési idő 5,6 év. A medulloblastomában jellegzetesen hibás jelátviteli utak közül a WNT és SHH útvonalak aktiválódását vizsgáltuk egy-egy jellemző fehérje immunhisztokémiai reakcióval. A 44 páciens közül mindössze 1 esetben (2,3%) figyeltünk meg nukleáris β -katenin expressziót, gyenge intenzitással. Az SHH útvonalra jellemző SFRP1 fehérje expresszióját 12 beteg (27,3%) mutatta.

Az mTORC1 útvonal aktiválódásának meghatározására magának az mTOR fehérjének, és egyik célmolekulájának foszforilált formáját (p-mTOR és p-S6) teszteltük. A riboszómális S6 fehérje az mTORC1 komplex útvonalán keresztül foszforilálódik, így a két vizsgált fehérje együttes kifejeződése alapján feltehető az mTORC1 útvonal aktivációja. A vizsgálat során 40 pácienset értékeltünk. A betegek 32,5%-a mutatott pozitívítást p-mTOR-ra, ugyanilyen arányban figyeltünk meg p-S6 pozitívítást. A két fehérje együttes expressziója 9 esetben (22,5%) volt megfigyelhető szignifikáns korrelációt mutatva ($R=0,55$; $p=0,0002$). A nagysejtes/anaplasztikus esetek p-mTOR-ra és p-S6-ra is pozitívítást mutattak, azonban a kis esetszám miatt kihagytuk a statisztikai analízisből. Sem a p-mTOR, sem a p-S6 esetében nem találtunk kapcsolatot a tumor szövettani típusával, a molekuláris altípussal, az életkorral, vagy a betegek nemével. A molekuláris alcsoportok közül a WNT alcsoport alapján nem elemeztünk a csoportba tartozó kis esetszám miatt. A betegeket a p-mTOR és p-S6 együttes expressziójával definiált mTORC1 aktiválódás szempontjából két csoportba osztottuk: aktivált mTORC1 komplexes daganatok ($N=9$), és inaktivált mTORC1 komplexes daganatok csoportja ($N=27$). A Kaplan-Meier analízis alapján az aktív mTORC1-t mutató betegeknél alacsonyabb a túlélése (5 éves becsült túlélés 44,4% vs. 77,0%), a különbség azonban nem volt szignifikáns ($p=0,13$).

Két medulloblastoma sejtvonalon, Daoy és UW228-2, teszteltük a csak az mTORC1 komplexre ható rapamycin és az mTORC1 és mTORC2 komplexet (és PI3K-t) egyaránt gátló NVP-BEZ235 vegyület hatását. A rapamycin önmagában is gátolta az UW228-2 sejtvonal proliferációját a Daoy sejtvonal kevésbé volt érzékeny (proliferáció aránya: 50% vs. 92%, 50 ng/ μ l koncentrációban). Az NVP-BEZ235 mindkét sejtvonalon hatásos volt önmagában is (Daoy 61% vs. UW228-2 36%, 1 μ M koncentrációban), az UW228-2 mindkét szerre érzékenyebb volt. Az mTOR-gátlókat (rapamycin 5 ng/ml, illetve NVP-BEZ235 1 μ M) kombináltuk citosztatikus szerekkel

(cisplatin 1 μ M mindkét sejtvonalon; etoposide 0,1 μ M az UW228-2 sejtvonalon, 1 μ M a Daoy sejtvonalon). Mind cisplatinnal, mind etopozide-dal kombinálva, mindkét mTOR-inhibitor szignifikánsan csökkentette a proliferációt az egyik szerrel történő kezeléshez képest (Daoy sejtvonalon vs. UW228-2 sejtvonalon, cisplatin és rapamycin kombináció: 34% vs. 59%; cisplatin és NVP-BEZ235 kombináció: 11% vs. 36%; etoposide és rapamycin kombináció: 63% vs. 42%; etoposide és NVP-BEZ235 kombináció 53% vs. 30%, $p < 0,05$). Immuncitokémiai vizsgálattal a Daoy sejtek erős p-mTOR és Rictor-pozitivitást mutattak, a p-S6 mérsékelten, a Raptor pedig gyengén expresszálódott. Ez arra utal, hogy a Daoy sejtvonalban az mTORC2 komplex a domináns, az mTORC1 kevésbé aktív. Az UW228-2 sejtek a Raptor kivételével mindegyik fehérjét erősen expresszálják, a Raptor közepes expressziót mutat. Az immuncitokémiai adatok alapján mind az mTORC1 és mTORC2 aktív lehet ebben a sejtvonalban.

Eredményeink alapján az mTOR és p-S6 fehérjéknek nincs prognosztikai jelentősége, az mTORC1 aktivált betegek rosszabb túlélését statisztikailag nem sikerült igazolni. Azonban nem zárható ki, hogy ennek hátterében elsősorban a rendelkezésünkre álló kis betegszám állhat. Sejtvonalakon végzett kísérleteink megerősítik, hogy a mTOR útvonal gátlásának terápiás jelentősége lehet a betegek egy csoportjában. Különböző hatásmechanizmusú mTOR-gátlókat fejlesztettek ki, az mTORC1 és mTORC2 mennyisége kísérletünk szerint tükrözi a különböző gátlókra való érzékenységet. Amennyiben terápiás alkalmazásukra kerülne sor, feltétlenül indokolt lenne az adott beteg tumormintájának vizsgálata annak tisztázása, melyik mTORC komplex van jelen. Ebben az esetben a kimutatható mTOR-komplexnek megfelelő gátló kezelés alkalmazása merülne fel.

A DNMT-k (DNMT1, DNMT3A és DNMT3B) expresszióját teszteltük és analizáltuk a betegek adatainak függvényében. A vizsgálat során 44 esetet értékeltünk. A DNMT1, DNMT3A és DNMT3B enzimek mérsékelt/erős expresszióját figyeltük meg az esetek 63,64%, 68,18% és 72,73%-ában. Az egyes DNMT-k nem mutatnak szignifikáns ko-expressziót egymással. A DNMT-k és a klinikai-patológiai paraméterek közti összefüggést teszteltük. Mérsékelt/erős DNMT1 expresszió figyelhető meg a klasszikus esetek 62,2%-ban és a dezmoplasztikus esetek 60,0%-ban. Hasonlóan, mérsékelt/erős DNMT3A expresszió figyelhető meg a klasszikus esetek 70,3%-ában és

a dezmoplasztikus esetek 60,0%-ában, illetve DNMT3B a klasszikus esetek 70,3%-ában és a dezmoplasztikus esetek 80,0%-ában. A 2 nagysejtes/anaplasztikus típusú beteg közül mindketten mérsékelt/erős DNMT1 és DNMT3B expressziót mutattak, a DNMT3A pedig egy esetben volt emlkegett. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a DNMT-k expressziója és a tumor szövettani típusa, életkora vagy a betegek neme között. Egyik DNMT expressziója sem mutatott összefüggést a betegek túlélésével. Az SHH-alcsoport szignifikánsan magasabb DNMT1 expressziót mutat ($p=0,02$). A többi DNMT nem mutatott összefüggést a vizsgált alcsoportokkal. Megvizsgáltuk, hogy az R2 adatbázisból elérhető génexpressziós adatok alátámasztják-e a DNMT1 és SFRP1 expresszió közötti kapcsolatot. Nem találtunk összefüggést a két gén mRNS-expressziója között ($p=0,88$) az SHH és nem-SHH csoport összehasonlításában.

Vizsgálataink azt mutatják, hogy a DNMT-k nem befolyásolják a medulloblastomás betegek túlélését, azonban emelkedett expressziójuk a betegek egy részében felveti a terápiás gátlásuk lehetőségét.

Következtetések

Kutatásaink során először teszteltük az mTORC1 komplexhez köthető jelátvitel és a DNMT-k prognosztikai szerepét medulloblastomában.

- a) Az mTORC1 útvonal a medulloblastomás betegek egy kisebb csoportjában aktív.
- b) Az mTORC1 útvonal aktiválódása a betegség rosszabb prognózisával társulhat, azonban nem érte a statisztikai szignifikancia szintjét. Az mTORC1 útvonal aktiválódása nem mutat összefüggést a tumor szövettani típusával, a betegek életkorával, vagy nemével.
- c) Az mTORC1 útvonal aktiválódása nem mutat összefüggést WNT, SHH vagy nem-WNT/SHH alcsoporttal.
- d) *In vitro* eredményeink megerősítik az eddigi tanulmányokat, és arra utalnak, hogy az mTOR-inhibítorok, az mTORC1 komplexet gátló rapamycin és az mTORC1 és mTORC2 komplexet is gátló NVP-BEZ235, növelhetik a kemoterápia hatékonyságát mTOR-aktivált medulloblastomás betegekben.
- e) *In vitro* vizsgálatunk azt mutatta, hogy az mTOR útvonal komponenseinek expressziója összhangban van a sejtek különböző hatásmechanizmusú mTOR-gátlókra mutatott érzékenységgel.

- f) A humán medulloblasztomák többségében emelkedett a DNMT1, DNMT3A és DNMT3B expressziója, ami felveti a DNMT-inhibitorok terápiás alkalmazásának lehetőségét.
- g) A DNMT-k nem mutatnak összefüggést a betegség kimenetelével, a tumor szövettani típusával, a betegek életkorával, vagy nemével.
- h) A DNMT1 erősebben expresszálódik az SHH alcsoportban. A DNMT3A és DNMT3B nem mutat összefüggést WNT, SHH, vagy nem-WNT/SHH alcsoporttal.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó saját közlemények

1. **Pócza T**, Sebestyén A, Turányi E, Krenács T, Márk Á, Sticz TB, Jakab Z, Hauser P. (2014) mTOR pathway as a potential target in a subset of human medulloblastoma. *Pathol Oncol Res*, 20: 893-900.

IF: 1,855

2. **Pócza T**, Krenács T, Turányi E, Csáthy J, Jakab Z, Hauser P. (2016) High expression of DNA methyltransferases in primary human medulloblastoma. *Folia Neuropathol*, 54: 105-113.

IF: 1,233

A disszertációtól független saját közlemények

1. Himer L, Csóka B, Selmeczy Z, Koscsó B, **Pócza T**, Pacher P, Németh ZH, Deitch EA, Vizi ES, Cronstein BN, Haskó G. (2010) Adenosine A2A receptor activation protects CD4⁺ T lymphocytes against activation-induced cell death. *FASEB J*, 24: 2631-2640.

IF: 6,515

2. Hauser P, Vancsó I, **Pócza T**, Schuler D, Garami M. (2013) Gyermekkori központi idegrendszeri daganatok érújdonképződés-gátló kezelésének magyarországi eredményei a Kieran-sémával. *Magyar Onkológia*, 57: 259–263.

IF: -

3. Thompson EM, Hielscher T, Bouffet E, Remke M, Luu B, Gururangan S, McLendon RE, Bigner DD, Lipp ES, Perreault S, Cho YJ, Grant G, Kim SK, Lee JY, Rao AA, Giannini C, Li KK, Ng HK, Yao Y, Kumabe T, Tominaga T, Grajkowska WA, Perek-Polnik M, Low DC, Seow WT, Chang KT, Mora J, Pollack IF, Hamilton RL, Leary S, Moore AS, Ingram WJ, Hallahan AR, Jouvett A, Fèvre-Montange M, Vasiljevic A, Faure-Contier C, Shofuda T, Kagawa N, Hashimoto N, Jabado N, Weil AG, Gayden T, Wataya T, Shalaby T, Grotzer M, Zitterbart K, Sterba J, Kren L, Hortobágyi T, Klekner

A, László B, **Pócza T**, Hauser P, Schüller U, Jung S, Jang WY, French PJ, Kros JM, van Veelen MC, Massimi L, Leonard JR, Rubin JB, Vibhakar R, Chambless LB, Cooper MK, Thompson RC, Faria CC, Carvalho A, Nunes S, Pimentel J, Fan X, Muraszko KM, López-Aguilar E, Lyden D, Garzia L, Shih DJ, Kijima N, Schneider C, Adamski J, Northcott PA, Kool M, Jones DT, Chan JA, Nikolic A, Garre ML, Van Meir EG, Osuka S, Olson JJ, Jahangiri A, Castro BA, Gupta N, Weiss WA, Moxon-Emre I, Mabbott DJ, Lassaletta A, Hawkins CE, Tabori U, Drake J, Kulkarni A, Dirks P, Rutka JT, Korshunov A, Pfister SM, Packer RJ, Ramaswamy V, Taylor MD. (2016) Prognostic value of medulloblastoma extent of resection after accounting for molecular subgroup: a retrospective integrated clinical and molecular analysis. *Lancet Oncol*, 17: 484-495.

IF: 26,509