

**MELANOMA EM REGRESSÃO E NEVO HALO****MELANOMA IN REGRESSION AND HALO NEVUS**Autores: Maria das Graças Sepúlveda Campos e Campos<sup>1</sup>, Juan Piñeiro Maceira<sup>2</sup>, René Garrido Neves<sup>3</sup>

1 Professora Auxiliar V da Disciplina de Clínica Dermatológica da Faculdade de Medicina de Campos, FMC. Dermatologista do Hospital Escola Álvaro Alvim da Faculdade de Medicina de Campos, FMC. Mestre em Dermatologia pela Universidade Federal Fluminense, UFF e Doutora em Dermatologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ.

2 Professor Adjunto do Departamento de Patologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ/ Mestre em Anatomia Patológica e Doutor em Dermatologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ/Pós-doutorado em Dermatopatologia, Armed Forces of Institute of Pathology, Washington, D.C., EUA

3 Ex-professor Titular de Dermatologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ e Universidade Federal Fluminense, UFF. Professor Titular de Dermatologia do Instituto de Pós-Graduação Médica Carlos Chagas, IPGMCC. Ex-Chefe do Setor de Dermatologia do Instituto Nacional do Câncer/Ministério da Saúde, INCA/MS

**Resumo**

O nevo halo e o melanoma com áreas de regressão por compartilharem algumas características clínicas, histopatológicas, imunológicas e evolutivas, permitem comparações, e servem de modelo de estudo dos mecanismos de involução espontânea nas lesões melanocíticas benignas e malignas, um fenômeno muito investigado, porém não completamente esclarecido.

Unitermos: Melanoma em regressão e nevo halo.

**Abstract**

The halo nevus and melanoma having regression areas since they share some clinical, histopathological, immunological and evolutionary features, allow comparisons and work out as a model of study for the spontaneous involution mechanisms in the benign and malignant melanocytic lesions, a very well looked into phenomenon, though not quite clear yet.

Uniterms: Melanoma in regression and halo nevus.

**Introdução**

Artigo de revisão sobre nevos melanocíticos e melanoma com sinais clínicos e histopatológicos de regressão, um fenômeno extremamente curioso e ainda não completamente esclarecido, apesar de muito investigado.

Estas lesões, por compartilharem algumas características clínicas, histopatológicas, imunológicas e evolutivas, permitem comparações e servem de modelo de estudo para os mecanismos de involução espontânea nas lesões melanocíticas benignas e malignas.

Acredita-se que os mecanismos relacionados à regressão espontânea em lesões melanocíticas possam servir de modelo para desenvolver estratégias visando à destruição das células do melanoma, uma questão antiga e talvez de grande importância para a cura deste câncer.

O nevo melanocítico que se apresenta circundado por uma área de despigmentação simétrica recebe as seguintes denominações: nevo de Sutton, nevo halo, vitiligo perinévio e nevo com halo, entretanto o termo nevo halo é o mais usado e universalmente aceito.

O componente melanocítico do nevo halo tem as características clínicas do nevo melanocítico que desenvolveu o halo (Figuras 1, 2, 3). Em geral, os nevos melanocíticos adquiridos comuns são os que mais frequentemente apresentam este fenômeno, quando comparados com os nevos congênito, atípico, de Spitz e o Azul<sup>29, 31, 35, 55, 65</sup>.

Vários nevos podem ser afetados simultaneamente<sup>55, 58, 85, 88</sup>.

O nevo envolvido, na maioria das vezes, torna-se gradualmente menor, de cor mais clara ou rosada, podendo desaparecer ou permanecer inalterado, sem nenhum sinal de regressão<sup>9, 28, 53, 58</sup>.

A área de despigmentação tem configuração regular e simétrica, segue o contorno do nevo, tem margens bem definidas e, em geral, mede de 1 a 2 mm, ou até 5 a 6 mm (Figuras 1,2)<sup>28, 58, 61</sup>. O desenvolvimento é lento, pode permanecer por tempo indeterminado, ou pode não desaparecer (Figura 4)<sup>53, 58, 88</sup>.

O nevo halo pode estar associado ao melanoma, vitiligo, leucotriquia, alopecia areata e dermatite atópica, porém com frequência muito variada<sup>26, 28, 55, 56</sup>. É pequeno o número de estudos com largas séries que relatam a simultaneidade destas lesões, e estes, em geral, são retrospectivos. A associação de melanoma e despigmentação cutânea é a mais investigada, e mesmo assim, é difícil avaliar através da literatura se as



acromias, em particular o vitiligo, são mais freqüentes nos indivíduos portadores de melanoma do que na população geral<sup>26, 64, 74, 76</sup>.

A descrição dos aspectos histopatológicos do nevo halo obedece a um padrão evolutivo<sup>1, 43, 58, 61, 81</sup>.

Akasu e cols em 1994 caracterizaram quatro estágios, tendo como base os aspectos morfológicos das células névicas e a presença do infiltrado inflamatório: Estágio I (pré-regressão) - células névicas normais, sem atipias e, circundadas por um escasso infiltrado inflamatório principalmente na base da lesão; Estágio II (regressão inicial) - ninhos de células névicas desorganizados e com bordas laterais irregulares, algumas atipias nucleares, e infiltrado inflamatório mais denso, entre as células névicas; Estágio III (regressão tardia) - células névicas com núcleos aumentados e picnose; presença de plasmócitos, mastócitos, muitos melanófagos na parte superior da lesão, vasos dilatados, e nesta fase, em alguns casos, pode ser difícil identificar as células do nevo; e Estágio IV (regressão completa) - ausência das células névicas, fibrose na derme papilar, melanófagos aumentados em número, neovascularização, obscurecimento da junção dermo-epidérmica pelas células inflamatórias e, destruição de melanócitos neste local. A pigmentação da epiderme adjacente ao nevo está diminuída ou completamente ausente. Frequentemente um esparsos infiltrado perivascular linfocitário está presente nesta região, mas em alguns casos nenhum infiltrado de células inflamatórias pode ser visto. Raramente, melanócitos necróticos isolados são observados na camada basal.

A epiderme que recobre o nevo pode ter espessura normal, estar aumentada ou ser acantótica, apresentar alteração quantitativa de melanina, principalmente na área do halo, como redução ou ausência completa deste pigmento<sup>55, 58</sup>. A reação pela DOPA nesta localização pode estar ausente ou muito diminuída<sup>58, 61, 81</sup>.

A atipia citológica não é uma característica relevante no nevo halo<sup>61</sup> e a maioria das células névicas têm morfologia usual. Contudo, podem ocorrer alterações nucleares (aumento do núcleo, picnose, cariorrexia, condensação da cromatina e vacuolização) e citoplasmáticas (edema intracelular, basofilia e vacuolização)<sup>55, 65</sup>.

A microscopia eletrônica do nevo halo revela vacuolização dos melanossomas<sup>1, 36, 43</sup>; presença de pré-melanossomas e melanossomas no estágio II na fase inicial e ausência nas fases tardias; melanossomas de tamanhos variados e em número aumentado na fase inicial; e ausência ou pequeno número nas células névicas degeneradas<sup>81</sup>.

Outros tipos celulares tais como as células de Langerhans e as células dendríticas foram observadas na epiderme da zona despigmentada nas diferentes fases da regressão, e discreto aumento na fase tardia<sup>58</sup>.

A regressão espontânea tumoral foi originalmente definida como "resolução parcial ou completa do tumor, na ausência de qualquer tratamento ou, frente à terapêutica inadequada para alterar o curso evolutivo da malignidade"<sup>41</sup>. Não significa cura completa, assim como a ausência clínica de lesão primária não indica completo desaparecimento do tumor no organismo. É um fenômeno clínico e histologicamente possível, observado raramente nos tumores humanos, entre eles o melanoma.

Melanoma com áreas de regressão pode ocorrer em melanomas primários e metastáticos. A regressão completa do melanoma é sugerida pelos relatos de melanoma metastático sem tumor primário detectado, e pelos aspectos clínicos e histopatológicos comprovados de regressão parcial em lesões primárias deste tipo de câncer<sup>45, 52, 78, 80, 82, 89</sup>. A regressão parcial de melanoma primário é a forma mais comum, com frequência de 3 a 50%, e regressão completa é rara, com incidência entre 2 a 15%<sup>63, 78</sup>. No melanoma metastático é muito mais rara a regressão, admitindo-se ser de 0,22-0,27%. É mais comum nas metástases cutâneas, subcutâneas e linfonodos, dificilmente ocorrendo em metástases viscerais, principalmente nas pulmonares<sup>52, 83</sup>.

Clinicamente observam-se áreas de despigmentação, de contorno assimétrico e de coloração variável (cinza, branco ou rosa), que, em geral, só atinge partes do tumor, especialmente as bordas<sup>60, 75, 80</sup> (Figura 5, 6, 7, 8).

Os aspectos histopatológicos variam com o tempo de evolução, e podem ser observados em áreas isoladas da massa tumoral. Shaw e cols em 1989 apresentaram as seguintes fases: Inicial - infiltrado predominantemente linfocitário entre os ninhos de melanócitos intradérmicos ou juncionais, com ou sem presença de células tumorais degenerando isoladamente; Intermediária - infiltrado linfocítico dérmico semelhante ou menor que o observado na fase inicial; proliferação de fibroblastos; vasos neoformados; melanófagos em número variável; apagamento focal dos cones interpapilares; e melanócitos anormais em continuidade com a zona juncional ou no meio da lesão; Tardia - ausência de células tumorais, ou pequena quantidade nas áreas juncionais, ou ainda raros ninhos de pequenos tamanhos; fibrose extensa da derme papilar; cones interpapilares pouco desenvolvidos ou ausentes; e melanófagos e linfócitos em pequeno número ou ausentes.

O prognóstico de melanoma com áreas de regressão é um dos indicadores de sobrevida mais controverso, e até o momento, parece não existir um consenso quanto a esta questão. Sua avaliação nos casos com regressão espontânea completa e sem metástases é desconhecida. Ainda não foi possível mostrar a influência de regressão no intervalo livre da doença, e correlacionar a regressão e a probabilidade de desenvolver ou não metástases, tendo em vista o pequeno número de casos registrados<sup>6, 30, 52, 63</sup>, e o não acompanhamento por tempo prolongado dos pacientes. Para alguns investigadores, a regressão é um aspecto histopatológico desfavorável, e que pode estar, virtualmente, sempre acompanhada de metástases<sup>8, 61</sup>. Opiniões como estas são corroboradas pelos vários registros na literatura de melanoma metastáticos com regressão completa do tumor primário<sup>3, 14, 33, 42, 60, 62, 75, 78, 80, 81</sup>.

O prognóstico do melanoma associado as acromias cutâneas também não é bem definido, e a maioria, baseia-se em observações clínicas<sup>24, 30, 69</sup>. Entretanto é sugerido que os fatores responsáveis pelo surgimento das acromias podem aumentar a resposta auto-imune contra os melanócitos malignos, e melhorar a resposta à



químio-imunoterapia<sup>4, 8, 11, 27, 46, 87</sup>. Ortone e cols em 1978<sup>70</sup> apontam uma provável relação de causalidade entre a presença simultânea de melanoma e despigmentação cutânea. A natureza desta relação permanece desconhecida, porém é comum interpretá-la como uma reação de defesa, onde os mecanismos imunológicos contra as células malignas podem ao mesmo tempo destruir as células melanocíticas normais.

A patogênese da regressão nas lesões melanocíticas é complexa, e não está completamente esclarecida. A participação do sistema imune na patogenia das lesões melanocíticas em regressão é sugerida pelas seguintes evidências: identificação nas células do nevo e do melanoma, de antígenos reconhecidos pelos linfócitos T do infiltrado inflamatório<sup>2, 4, 50, 54</sup>; a capacidade citotóxica das células T contra as células névicas, melanócitos benignos e malignos<sup>21, 22, 68, 77</sup>; presença no soro dos pacientes com melanoma de anticorpos associados ao tumor<sup>57</sup>; destruição das células tumorais *in vitro*, pelos linfócitos T citotóxicos<sup>21</sup>; a presença de apoptose, que caracteriza a morte celular mediada pelo mecanismo celular<sup>8</sup>; a existência de antígenos associados ao tumor na superfície das células do melanoma capazes de estimular a resposta imune celular e humoral (com produção de linfócitos T citotóxicos e anticorpos humorais circulantes específicos), que destroem as células do melanoma<sup>51</sup>.

Clark em 1990<sup>8</sup> considerou a regressão um fenômeno imuno-seletivo, que depende do potencial maligno do próprio tumor e da resposta imune do paciente para seu tumor, e foi pressuposta a partir de algumas observações: a) a resposta imune (proliferação e indução de linfócitos T citotóxicos) induzida pelas células do tumor primário é diferente das células das metástases ganglionares, que, além de não induzirem resposta imune, têm capacidade para inibir as respostas b) as células metastáticas possuem antígenos e subpopulações celulares com antigenicidades diferentes da composição do tumor primário, mostrando que a configuração antigênica de um tumor pode mudar durante a evolução da doença c) a maior reatividade, em alguns melanomas, a grupos de células alvos para o melanócito maligno, indica a existência de diferentes antígenos nestes tumores; d) a maior agressividade do melanoma em hospedeiros imunossuprimidos correlaciona o estado clínico do paciente e uma resposta imune ineficiente contra os melanócitos malignos; e) o comprometimento da imunidade celular em pacientes com melanoma invasivo múltiplo e nodular<sup>52</sup>; f) as áreas isoladas de regressão, em um mesmo tumor, sugere uma resposta imune individual, capaz de selecionar certos clones de células que sofrerão o ataque do hospedeiro, enquanto outras continuarão a crescer e adquirir capacidade para metástases.

O melanócito, por possuir uma característica própria e específica - a produção de melanina em uma organela especializada, o melanossoma - permitiu estudar a diferenciação das células melanocíticas e identificar os antígenos próprios deste processo, que estão relacionados às variações morfológicas, à maturação do melanossoma, às alterações na atividade da tirosinase, e a produção de melanina.

A detecção destes antígenos em diferentes condições patológicas intensificou o conhecimento sobre os fatores imunológicos na patogênese e evolução clínica do melanoma, e mostrou que alguns dos alvos moleculares para a resposta imune contra as células melanocíticas, podem ser os antígenos de diferenciação melanocítica<sup>2, 13</sup>. Estes antígenos possuem epítopos ou determinantes antigênicos, que se expressam em associação com as moléculas classe I do MHC, e são reconhecidos pelos linfócitos T citotóxicos, não somente *in vitro* mas também *in vivo*. O primeiro antígeno descrito na célula melanocítica reconhecido pelos linfócitos T citotóxicos, pertence ao gene da tirosinase. Posteriormente foram detectados os antígenos MAGE-1 e o MAGE-3, expressados em melanoma e em outros tipos de cânceres (pulmão, colorretal, mama, testículo e sarcomas); e os antígenos Mart-1/Melan-A e o gp100, que são especificamente expressados em melanócitos benignos e malignos<sup>10, 12, 20, 47, 48, 49</sup>.

Estudos recentes mostram, que o antígeno gp100, é capaz de induzir a resposta imunológica celular e humoral e que um novo peptídeo derivado do antígeno gp100, recentemente identificado, está sendo considerado como o epítipo dominante reconhecido pelos linfócitos T citotóxicos anti-melanoma restritos ao HLA-A2.1<sup>4, 5, 48, 51</sup>.

O papel biológico dos antígenos de diferenciação melanocítica e de seus respectivos epítopos, na ativação ou indução das células T e na rejeição tumoral *in vivo*, tem sido pesquisado. Alguns achados sugerem que o gp100, Melan-A e tirosinase possam representar importantes antígenos de regressão tumoral e alvos para imunoterapia contra melanoma, e que maior expressão destes peptídeos no melanócito maligno favorece o sucesso deste tipo de tratamento. Foi observado que a baixa regulação destes antígenos diminui a apresentação da célula tumoral para o sistema imune e aumenta o crescimento do tumor<sup>4, 5, 16, 19, 39, 40, 46, 48, 51, 71, 72, 79, 86, 87</sup>.

Os antígenos gp100, Melan-A e tirosinase são identificados pelos anticorpos monoclonais HMB-45, Melan-A e Tirosinase respectivamente<sup>15, 16, 32, 37</sup>.

## Comentários

A correlação entre os nevos melanocíticos e o melanoma é do interesse científico de longa data, porém permanece até os dias atuais como assunto de pesquisa. As características simuladoras de melanoma e o diferente potencial evolutivo dos nevos, alguns como lesões precursoras de melanoma, são exemplos que justificam plenamente os estudos realizados.

Os nevos melanocíticos e o melanoma com sinais clínicos e histopatológicos de regressão, por ressaltarem a complexidade do fenômeno de regressão, ainda não completamente esclarecido, motivaram a realização deste



trabalho.

Conhecer o modo como os melanócitos são normalmente destruídos, pode ser considerado como um dos caminhos usados para destruir as células do melanoma, uma das questões mais antigas e talvez a mais importante na imunologia deste câncer.

A existência deste fenômeno se apóia em evidências clínicas, histopatológicas e imunológicas, tais como a presença do halo de despigmentação; involução espontânea parcial ou completa dos nevos melanocíticos e dos melanomas primários e metastáticos; detecção de melanoma metastático sem tumor primário; prolongado intervalo excisão do tumor e recorrência; a infiltração de células inflamatórias mononucleares, composta por macrófagos e linfócitos T citotóxicos, principalmente do tipo CD4+ e CD8+, capazes de destruir as células melanocíticas<sup>18, 26, 34, 42, 43, 59, 65, 69, 84, 85, 88</sup>

O papel do sistema imune no fenômeno de regressão das lesões melanocíticas e a capacidade imunogênica destas lesões foram confirmados e sustentados por diversas pesquisas e a partir das seguintes evidências: a) detecção no soro dos pacientes portadores de nevo halo, mas não naqueles com nevos melanocíticos comuns, de anticorpos contra células névicas e melanócitos malignos, que diminuem com o desaparecimento do infiltrado inflamatório no componente névico<sup>7, 17, 18, 61</sup>; b) a capacidade das células T periféricas de pacientes com nevo halo de lisar melanócitos de um nevo comum, e dos linfócitos de pacientes com melanoma reconhecer antígenos tumorais específicos para o tumor, restritos ao complexo MHC<sup>23, 51, 67</sup>; c) presença do infiltrado inflamatório mononuclear, composto principalmente por macrófagos e linfócitos T, principalmente do tipo CD4+ e CD8+ nas lesões de nevo halo e melanoma com áreas de regressão; d) presença de anticorpos associado ao tumor no soro dos pacientes com melanoma<sup>25, 53, 66</sup>; e) destruição das células tumorais *in vitro* pelos linfócitos T citotóxicos<sup>21, 84</sup>.

O conhecimento da capacidade imunogênica dos antígenos de diferenciação melanocítica, gp100, melan-A e tirosinase, detectados pelos anticorpos HMB-45, Melan-A e Tirosinase<sup>4, 5, 16, 39, 40, 48, 49, 50, 51, 65</sup>, acrescentou novos conhecimentos para a compreensão da regressão espontânea que ocorre no nevo halo e no melanoma.

A confirmação da capacidade imunogênica destes antígenos e a sua presença nos melanócitos adultos normais, nas células névicas e melanócitos malignos sugere que as lesões melanocíticas que expressam estes antígenos possam desenvolver regressão, favorece as explicações sobre a origem do halo acrômico nos nevos melanocíticos, sobre as hipopigmentações locais e a distância, que surgem em associação com o melanoma, e sobre o aparecimento de múltiplos nevos halo.

Entretanto baseado na natureza molecular destes antígenos e na correlação dos aspectos clínicos e histopatológicos que caracterizam o fenômeno de regressão espontânea dos nevos melanocíticos, o nevo halo não pode ser considerado um melanoma que regrediu espontaneamente ou que o fenômeno halo possa ser visto como uma resposta para um antígeno determinante de um nevo benigno. O fenômeno halo é determinado por antígenos que não especificam o caráter benigno ou maligno das lesões.

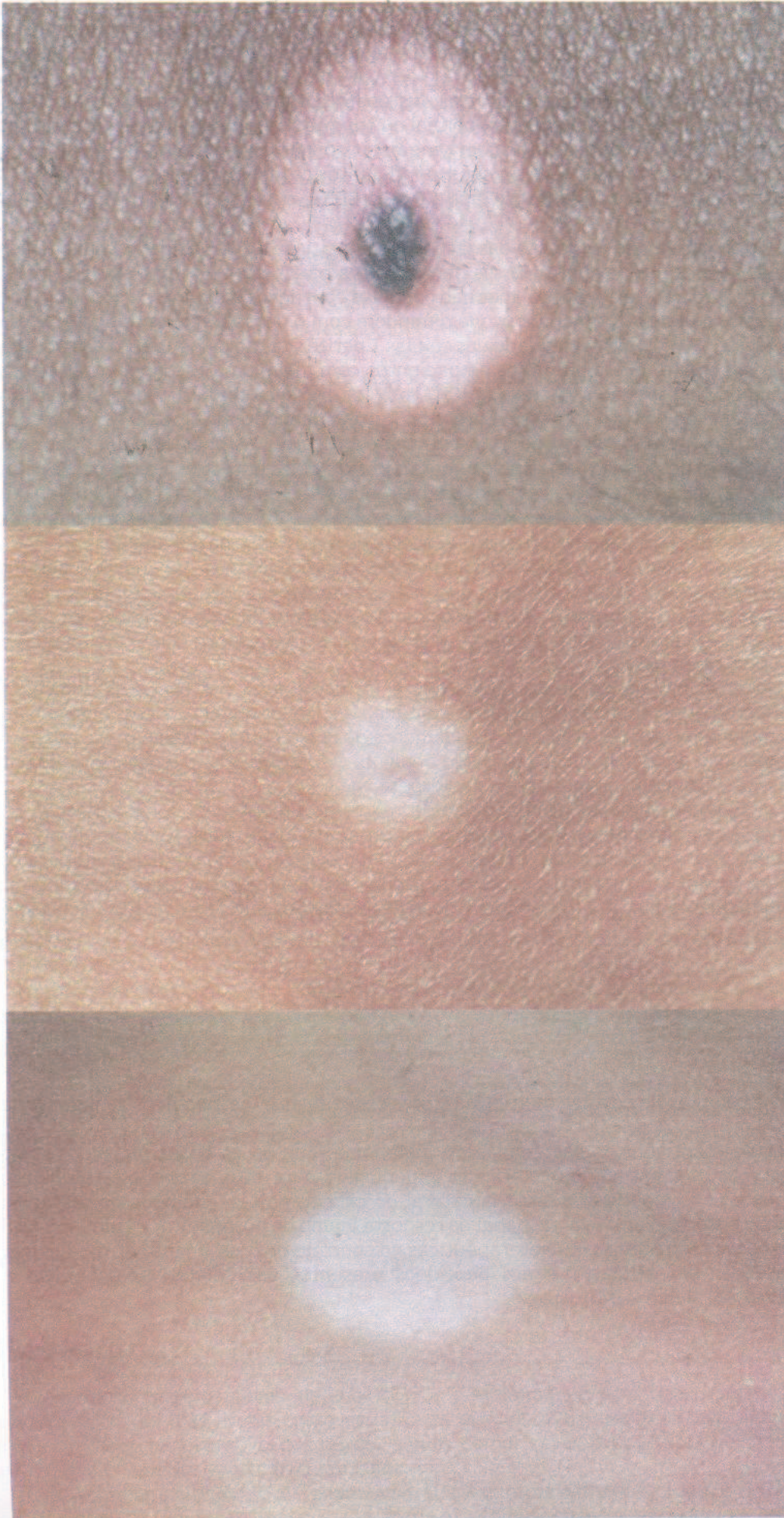
Ainda que se desconheça o estímulo iniciador do fenômeno de regressão espontânea, a identificação de células T infiltrando o tumor com capacidade para mediar potente atividade antitumor *in vivo* e a caracterização de múltiplos peptídeos antigênicos de diferenciação melanocítica, como um dos alvos para os linfócitos T citotóxicos restritos ao MHC, formaram as bases para induzir artificialmente a regressão tumoral, através da imunoterapia baseada em células T e/ou em peptídeos derivados dos antígenos gp100, Melan-A e Tirosinase<sup>16, 23, 44, 68, 72, 73</sup>.

## Conclusões

A patogênese da regressão é complexa e envolve múltiplos fatores específicos e inespecíficos da imunidade celular e humoral.

A caracterização dos peptídeos antigênicos nas células do melanoma marcou as bases moleculares do reconhecimento deste tumor e os mecanismos da tolerância imunológica para seus antígenos; retomou o conceito de que o sistema imune pode modificar a história natural do câncer, pois o fenômeno de regressão espontânea é uma demonstração potencial em favor do papel da resposta imune do hospedeiro; e culminou com a maior de todas as contribuições: as estratégias imunoterapêuticas no controle do crescimento do melanoma, através da imunoterapia baseadas em células T e nos peptídeos presentes nas células melanocíticas e detectados pelos anticorpos HMB-45, Melan-A e Tirosinase.





Figuras: 1 - Nevo melanocítico adquirido circundado halo acrômico simétrico. Cortesia do Professor René Garrido Neves (UFRJ)

Figura 2 - Nevo melanocítico adquirido circundado halo acrômico simétrico. Cortesia do Professor René Garrido Neves (UFRJ)

Figura 3 - Hipocromia residual após regressão completa do nevo melanocítico. Cortesia do Professor René Garrido Neves (UFRJ)





Figura 4 - Melanoma com áreas de regressão. Cortesia do Professor Francisco Resende Neto (INCa)



Figura 5 - Melanoma com áreas de regressão. Cortesia do Professor Francisco Resende Neto (INCa)

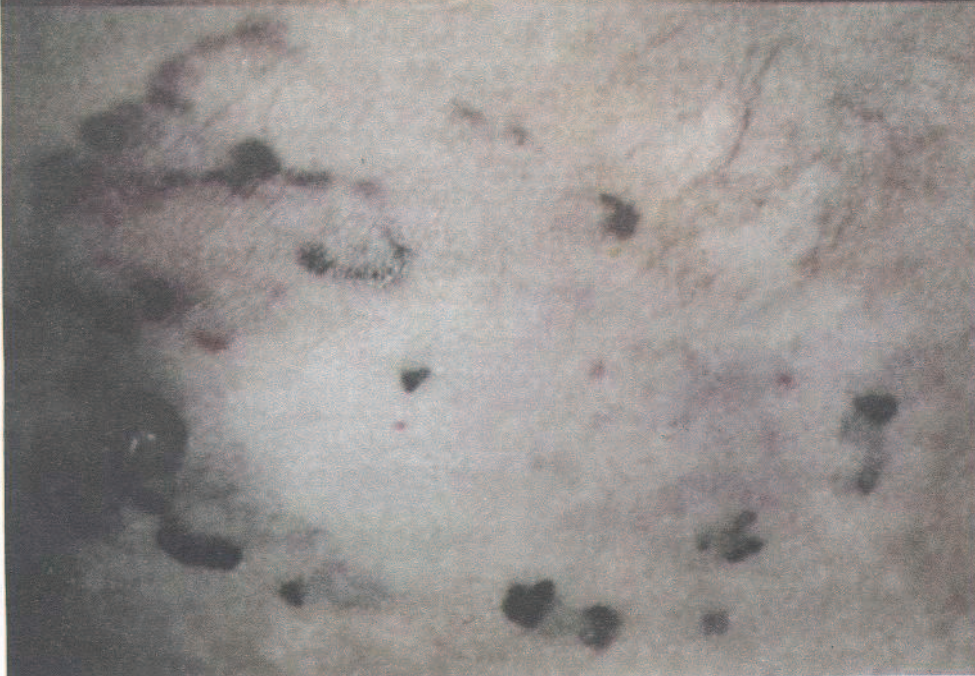


Figura 6 - Melanoma com áreas de regressão. Cortesia do Professor Francisco Resende Neto (INCa)





Figura 7 - Melanoma com áreas de regressão. Cortesia do Professor Francisco Resende Neto (INCa)

## Bibliografia

1. Akasu R, From L, Kahn HJ. Characterization of the mononuclear infiltrate involved in regression of halo nevi. *J Cutan Pathol* 1994;21(1):302-311.
2. Anichini A et al. Melanoma cell and normal melanocytes share antigens recognized by HLA-A2-restricted cytotoxic T cell clones from melanoma patients. *J Exp Med* 1993;177:989-998.
3. Avril MF et al. Regression of primary melanoma with metastases. *Cancer* 1992; 69(6):1377-1381.
4. Bakker ABH et al. Melanocyte lineage-specific antigen gp 100 is recognized by melanoma-derived tumor-infiltrating lymphocytes. *J Exp Med* 1994;179:1005-1009.
5. Bakker ABH et al. Identification of a novel peptide derived from the melanocyte-specific GP100 antigen as the dominant epitope recognized by an HLA-A2.1- restricted anti-melanoma CTL line. *Int J Cancer* 1995; 62:97-102.
6. Balch CM et al. A multifactorial analysis of melanoma: prognostic histopathological features comparing Clark's and Breslow's staging methods. *Ann Surg* 1978; 188:732-741.
7. Bennett C, Copeman PWM. Melanocyte mutation in halo naevus and malignant melanoma? *Br J Dermatol* 1979; 100:423-426.
8. Blessing K, McLaren KM. Histological regression in primary cutaneous melanoma: recognition, prevalence and significance. *Histopathology* 1992; 20:315-322.
9. Brownstein MH, Kazan BB, Hashimoto K. Halo congenital nevus. *Arch Dermatol* 1997; 113:1572-75.
10. Bruggen P et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991; 254:1643-47.
11. Bystryn J et al. Prognostic significance of hypopigmentation in malignant melanoma. *Arch Dermatol* 1987; 123:1053-1055.
12. Celis E et al. Induction of anti-tumor cytotoxic T lymphocytes in normal humans using primary cultures and synthetic peptide epitopes. *Proc Natl Acad* 1994; 91:2105-2109.
13. Challis GB, Stam HJ. The spontaneous regression of cancer. *Acta Oncol* 1990; 29(5):545-550.
14. Chang P, Knapper WH. Metastatic melanoma of unknown primary. *Cancer* 1982; 49(6):1106-1111.
15. Chen Y et al. Serological analysis of Melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:5915-5919.
16. Chen Y et al. Immunophenotyping of melanomas for tyrosinase: Implications for vaccine development. *Immunology* 1995; 92:8125-8129.
17. Copeman PWM, Elliot PG. Melanoma cytoplasmic humoral antibody test. *Br J Dermatol* 1976; 94:565-568.
18. Copeman PWM et al. Immunological associations of the halo naevus with cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 1973; 88:127-137.
19. Cormier JN et al. Heterogeneous expression of melanoma-associated antigens and HLA-A2 in metastatic melanoma in vivo. *Int J Cancer* 1998; 75:517-524.
20. Coulie PG et al. A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *Exp Med* 1994; 180:35-42.
21. Coulie PG et al. Precursor frequency analysis of human cytolytic T lymphocytes directed against



- autologous melanoma cells. *Int J Cancer* 1992; 50:289-297.
22. Cox A et al. Identification of a peptide recognized by five melanoma-specific human cytotoxic T cell lines. *Science* 1994; 264:716-719.
23. D'Souza S et al. Circulating Melan-A/Mart-1 specific cytolytic T lymphocyte precursors in HLA-A2+ melanoma patients have memory. *Int J Cancer* 1998; 78:699-706.
24. Duhra P, Ilchyshyn A. Prolonged survival in metastatic malignant melanoma associated with vitiligo. *Clin Exp Dermatol* 1991; 16:303-305.
25. Elliot PG et al. The specificity of the cytoplasmic antigen in human malignant melanoma. *Euro J Cancer* 1973; 9:607-10.
26. Epstein WL et al. Halo nevi and melanoma. *Jama* 1973; 225(4):373-377.
27. Fishman P et al. Vitiligo autoantibodies are effective against melanoma. *Cancer* 1993; 72(8): 2365-2369.
28. Frank SB, Cohen HJ, Plains W. The halo nevus. *Arch Dermatol* 1964; 89:367-373.
29. Garcia RL, Gano SE. Halo congenital nevus. *Cutis* 1979; 23(3):338-9.
30. Gauthier O et al. Achromies au cour des mélanomes malins. *Bordeaux Med* 1978; 11: 187-190.
31. Gouden V, Hight A. Halo congenital naevus. *Br J Dermatol* 1994; 131:295-96.
32. Gown AM et al. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. *Am J Pathol* 1986; 123:195-203.
33. Gromet MA, Epstein WL, Blois MS. The regressing thin malignant melanoma. *Cancer* 1978; 42(5): 2282-2292.
34. Halliday GM et al. Spontaneous regression of human melanoma/nonmelanoma skin cancer: association with infiltrating CD4+ T cells. *World J Surg* 1995; 19(3):352-358.
35. Harvell JD, Meehan SA, Leboit PE. Spitz's nevi with halo reaction: a histopathologic study of 17 case. *J Cutan Pathol* 1997; 24:611-19.
36. Hashimoto K. Ultrastructural studies of halo nevus. *Cancer* 1974; 34:1653-1666.
37. Hofbauer GFL et al. Tyrosinase immunoreactivity in formalin-fixed, paraffin-embedded primary and metastatic melanoma: frequency and distribution. *J Cutan Pathol* 1998; 25:204-209.
39. Houghton A. Cancer antigens: immune recognition of self and altered self. *J Exp Med* 1994; 108:1-4.
40. Huang S et al. Antibody responses to melanoma/melanocyte autoantigens in melanoma patients. *J Invest Dermatol* 1998; 111:662-667.
41. Hurwitz PJ. Spontaneous regression of metastatic melanoma. *Ann Plast Surg* 1991; 26(4):403-06.
42. Itoh K, Tilden AB, Balch CM. Interleukin 2 activation of cytotoxic T-lymphocytes infiltrating into human metastatic melanomas<sup>1</sup>. *Cancer Res* 1986; 46:3011-3017.
43. Jacobs JB et al. Ultrastructural evidence for destruction in the halo nevus. *Cancer Res* 1975; 35:352-357.
44. Jäeger E et al. Generation of cytotoxic T-cell responses with synthetic melanoma-associated peptides in vivo: Implications for tumor vaccines with melanoma-associated antigens. *Int J Cancer* 1996; 66:162-169.
45. Kang S et al. Histologic regression in malignant melanoma: an interobserver concordance study. *J Cutan Pathol* 1993; 20:126-129.
46. Kang X et al. Identification of a tyrosinase epitope recognized by HLA-A24-restricted, tumor-infiltrating lymphocytes. *J Immunol* 1995; 155:1343-1348.
47. Kawakami Y et al. Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:3515-3519.
48. Kawakami Y et al. Identification of a human melanoma antigen recognized by tumor-infiltrating lymphocytes associated with in vivo tumor rejection. *Immunology* 1994; 91:6458-6462.
49. Kawakami Y et al. Identification of the immunodominant peptides of the MART-1 human melanoma antigen recognized by the majority of HLA A2-restricted tumor infiltrating lymphocytes. *J Exp Med* 1994; 180:347-352.
50. Kawakami Y, Robbins PF, Rosenberg SA. Human melanoma antigens recognized by T lymphocytes. *Keio J Méd* 1996; 45:100-108.
51. Kawakami Y. et al. Recognition of multiple epitopes in the human melanoma antigen gp 100 by tumor-infiltrating T lymphocytes associated with in vivo tumor regression. *J Immunol* 1995; 154:3961-3968.
52. Kessler E, Schwartz P, Antebi E. Spontaneous regression of primary malignant melanoma with metastases. *Plast Reconstr Surg* 1984; 74(3):427-29.
53. Kikuchi I et al. Disappearance of a nevocellular nevus with depigmentation. *Arch Dermatol* 1984; 120:678-679.
54. Kirkin A.F, Dzhandzhugazyan K and Zeuthen J - Melanoma-associated antigens recognized by cytotoxic T lymphocytes. *APMIS* 1998; 106:665-679.
55. Kopf AW, Morril SD, Silberberg I. Broad spectrum of leukoderma acquisitum centrifugum. *Arch Dermatol* 1965; 92:14-35.
56. Lerner AB and Kirkwood JM. Vitiligo and melanoma: Can genetically abnormal melanocytes result in both vitiligo and melanoma within a single family? *J Am Acad Dermatol* 1984; 11:696-701.
57. Lewis MG, Phillips TM. Brief communication: Separation of two distinct tumor-associated antibodies in the serum of melanoma patients<sup>1</sup>. *J Natl Cancer Inst* 1972; 49:915-917.
58. Litoux P. Halo naevus. *Ann Dermatol Vénéreol* 1989; 116(8):567-570.



59. Lowes MA et al. T helper-1 cytokine mRNA is increased in spontaneously regressing primary melanomas. *J Invest Dermatol* 1997; 108:914-919.
60. MacDougal BA, Weekes PM, Wray Jr RC. Spontaneous regression of the primary lesion of a metastatic malignant melanoma. *Plast Reconstr Surg* 1976; 57(3): 355-358.
61. Maize JC, Ackerman AB. Pigmented lesions of the skin. Philadelphia, Lea & Febiger, 1987, 328p.
62. Manelis G. et al. Spontaneous regression of malignant melanoma. *Oncology* 1978; 35(2):83-86.
63. Menzies SW, McCarty WH. Complete regression of cutaneous malignant melanoma. *Arch Surg* 1997; 132(5):553-556.
64. Merimsky O et al. Vitiligo- and melanoma-associated hypopigmentation: A similar appearance but a different mechanism. *Cancer Immunol Immunother* 1994; 38:411-416.
65. Mooney MA, Barr RJ, Buxton MG. Halo nevus or halo phenomenon? A study of 142 case. *J Cutan Pathol* 1995; 22:342-348.
66. Morton DL et al. Demonstration of antibodies against human malignant melanoma by immunofluorescence. *Surgery* 1968; 64:233-240.
67. Mull LM et al. Identification of specific cytolytic immune response against autologous tumor in humans bearing malignant melanoma. *J Immunol* 1987; 138:989-995.
68. Musette P et al. Immune-mediated destruction of melanocytes in halo nevi is associated with the local expansion of a limited number of T cell clones. *J Immunol* 1999; 162:1789-1794.
69. Nordlund JJ et al. Vitiligo in patients with metastatic melanoma: A good prognostic sign. *J Am Acad Dermatol* 1983; 9:689-696.
70. Ortonne JP et al. Dépigmentation cutanée associée au mélanome malin. *Ann Dermatol Venerol* 1978; 105:1043-1052.
71. Robbins PF et al. Recognition of tyrosinase by tumor-infiltrating lymphocytes from a patient responding to immunotherapy. *Cancer Res* 1994; 54:3124-3126.
72. Rosenberg SA. Cancer vaccines based on the identification of genes encoding cancer regression antigens. *Immunol Today* 1997; 18(4):175-182.
73. Rosenberg SA et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. *New Engl J Med* 1998; 319:1676-80.
74. Roul S et al. Mélanome et dépigmentation vitiligoïde onze nouvelles observations. *Nouv Dermatol* 1996; 15:574-578.
75. Saint-Blancard P et al. Critères anatomo-cliniques du mélanome cutané spontanément et complètement régressif. *Arch Anat Cytol Pathol* 1997; 45(4):234-237.
76. Schallreuter KU, Levenig C, Berger J. Vitiligo and cutaneous melanoma. *Dermatologica* 1991; 183:239-245.
77. Schneeberger A, Koszik F, Stingl G. Immunologic host defense in melanoma: Delineation of effector mechanisms involved and of strategies for the augmentation of their efficacy. *J Invest Dermatol* 1995; 105:1105-1165.
78. Shai A, Avinoach I, Sagi A. Metastatic malignant melanoma with spontaneous and complete regression of the primary lesion. *J Dermatol Surg Oncol* 1994; 20(5):342-345.
79. Shaw HM et al. Thin regressing malignant melanoma: Significance of concurrent regional lymph node metastases. *Histopathology* 1989; 15:257-265.
80. Smith JL, Stehlin JS. Spontaneous regression of primary malignant melanomas with regional metastases. *Cancer* 1965; 18(11):1399-1415.
81. Stegmaier OC, Becker SW, Medenica M. Multiple halo nevi histopathological findings in a 14-year-old boy. *Arch Dermatol* 1969; 99:180-189.
82. Summer WC. Spontaneous regression of melanoma. *Cancer* 1953; 6(5):1040-1043.
83. Taatjes DJ et al. HMB-45 antibody demonstrates melanosome specificity by immunoelectron microscopy. *Arch Path Lab Med* 1993; 117:264-68.
84. Tefany FJ et al. Immunocytochemical analysis of the cellular infiltrate in primary regressing and non-regressing malignant melanoma. *J Invest Dermatol* 1991; 97(2):197-202.
85. Tokura Y et al. Halo congenital nevus undergoing spontaneous regression. Involvement of T-cell immunity in involution and presence of circulating anti-nevus cell IgM antibodies. *Arch Dermatol* 1994; 130:1036-1041.
86. Vries T et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp 10, MART-1, and tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions<sup>1</sup>. *Cancer Research* 1997; 57:3223-3229.
87. Wang R. et al. Recognition of an antigenic peptide derived from tyrosinase-related protein-2 by CTL in the context of HLA-A31 and -A33. *J Immunol* 1998; 160:890-897.
88. Wayte DM, Helwing EB. Halo nevi. *Cancer* 1968; 22(1):69-90.
89. Whicker JH, DeMarcos PR, Fitzgibbons JF. Spontaneous regression of a facial malignant melanoma. *Arch Otolaryngol* 1980; 106(1):50-1.