

POVEZANOST EKSPRESIJE B7-H3 U ČELIJAMA NEUROBLASTOMA I NODULARNOG PODTIPA GANGLIONEUROBLASTOMA SA ZASTUPLJENOŠĆU INFILTRIŠUĆIH IMUNSKIH ČELIJA U TKIVNIM UZORCIMA I KLINIČKOM PROGNOZOM

UVOD

Periferni neuroblastni tumori, uključujući neuroblastom, ganglioneuroblastom i ganglioneurom predstavljaju najčešće ekstrakranijalne solidne neoplazme dečjeg doba. Neuroblastom čini 97% ove grupe tumora, pa se stoga ovaj termin često koristi da označi čitavu grupu neuroblastnih tumora^[1-3]. Godišnja stopa incidencije neuroblastoma varira u različitim zemljama, sa prosečnom globalnom vrednošću od 0,28/100000 stanovnika uzrasta 0-14 godina^[4]. Neuroblastni tumori vode poreklo od simpatikoadrenalnih progenitornih ćelija nervnog grebena, te mogu biti lokalizovani duž celog simpatičkog nervnog sistema. Najčešće mesto javljanja predstavlja srž nadbubrežne žlezde, dok ostali tumori nastaju u paraspinalnim i drugim simpatičkim ganglionima od vrata do karlice^[2].

Neuroblastni tumori ispoljavaju veliku raznolikost u kliničkom toku koji se kreće od spontane regresije i sazrevanja, do veoma agresivne progresije. Preživljavanje pacijenata sa ovim tumorima zavisi od različitih faktora^[2, 5]. Stratifikacija prognostičkog rizika se temelji na klasifikaciji Međunarodne grupe za procenu rizika kod neuroblastoma (eng. *International Neuroblastoma Risk Group - INRG*). Ova stratifikacija uzima u obzir više prognostičkih faktora (*INRG* stadijum tumora, uzrast, histopatološki tip tumora, stepen diferencijacije tumora, prisustvo *MYCN* amplifikacije, prisustvo 11q aberacije i DNK ploidijs) i na osnovu njihovog kombinovanja deli pacijente sa neuroblastnim tumorima u šesnaest podgrupa koje se dalje mogu klasifikovati u one sa veoma niskim, niskim, srednjim i visokim rizikom^[5]. Pravilna stratifikacija rizika, ključna je za ordiniranje adekvatne terapije i samim tim za povećanje šanse za povoljnim ishodom. Uprkos dostignućima u lečenju neuroblastoma, ovaj tumor ima 15% udela u ukupnom tumorskom mortalitetu kod dece, a preživljavanje u grupi visokog rizika iznosi tek oko 50%^[2, 4].

Potruga za novim imunoterapijskim modalitetima je sve više prisutna na polju pedijatrijskih tumora. Iako se upotreba checkpoint inhibitora i „*chimeric antigen receptor*“ (CAR) T-ćelijske terapije pokazala efektivnom u lečenju različitih tumora odraslih, njihova primena kod dečjih solidnih tumora je za sada u ranoj fazi razvoja i predstavlja značajan izazov. Naime, većina ovih tumora, a naročito neuroblastom, se karakteriše slabijom imunogenošću koja se, pre svega, temelji na malom broju tumorskih mutacija sa sledstvenim nedostatkom adekvatnih tumorskih antigena koji bi se mogli koristiti kao ciljno mesto za dejstvo terapije, kao i smanjenoj ekspresiji MHC molekula I klase. Sledstveno tome, ovi tumori imaju i manji broj tumor-infiltrirajućih limfocita u odnosu na tumore adultnog doba, pa samim tim i slabu ekspresiju proteina programirane ćelijske smrti 1 (PD1) i liganda programirane ćelijske smrti 1 i 2 (PD-L1 i PD-L2), što ih čini rezistentnim na checkpoint inhibitore^[6]. Zbog svega navedenog postoji potreba za otkrivanjem novih tumorskih molekula koji bi mogli služiti kao prognostički biomarkeri i potencijalna ciljna mesta za antitumorsku imunoterapiju.

Poslednjih godina veliku pažnju privlače molekuli iz B7 familije, tj. njihova uloga kao mete u ciljanoj imunoterapiji. Naime, molekuli ove familije imaju važnu ulogu u regulaciji imunskog odgovora. Obezbeđujući kostimulatorne ili koinhibitorne signale, ovi molekuli regulišu aktivaciju T limfocita i obezbeđuju imunsku toleranciju. Do sada je otkriveno 12 članova ove molekulske familije: CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), PD-L1 (B7-homolog 1, B7-H1), PD-L2 (B7-DC ili CD273), ICOSL (B7-H2), CD276 (B7-H3), B7S1 (B7-H4 ili B7x ili Vtn1), VISTA (B7-H5 ili GI24, ili PD-1H), BTNL2, B7-H6, B7-H7 (HHLA2) i ILDR2. Skorašnja istraživanja su otkrila da je molekul B7-H3 značajno eksprimiran u različitim malignim tumorima, dok je

njegova ekspresija u zdravim ćelijama retka ili odsutna^[7]. Naime, pokazano je da ovaj molekul utiče na biološko ponašanje malignih tumora putem različitih imunoloških i neimunoloških mehanizama. Pre svega, B7-H3 utiče na aktivnost imunskih ćelija kao što su CD4⁺ T-limfociti, CD8⁺ T-limfociti, γδ T-limfociti, CD45RO⁺ T-limfociti, regulatorni T-limfociti, makrofagi i NK ćelije i igra važnu ulogu u regulisanju nespecifičnog i specifičnog imunskog odgovora^[6, 8]. Velika većina dostupne literature ukazuje na koinhibitornu ulogu molekula B7-H3 na T-ćelijski imunski odgovor, što omogućava tumorima da izbegnu imunološku destrukciju^[6-9]. Pored toga, ovaj molekul utiče na progresiju malignih tumora putem različitih neimunoloških mehanizama, povećavajući njihovu invazivnost i stimulišući metastaziranje i rezistenciju na onkološku terapiju. Shodno tome, otkriveno da je ekspresija B7-H3 udružena sa lošom prognozom kod mnogih maligniteta kao što su kolorektalni karcinom, karcinom želuca, karcinom jednjaka, karcinom pankreasa, hepatocelularni karcinom, karcinom dojke i maligni tumori centralnog nervnog sistema^[6-8].

Za razliku od tumora odraslih kod kojih postoje brojna istraživanja vezana za B7-H3^[7, 8], studije vezane za ovaj molekul u tumorima dečjeg doba su tek u povelju poslednjih godina^[6]. Istraživanja su pokazala da je ovaj molekul takođe eksprimiran u ekstrakranijalnim pedijatrijskim solidnim tumorima kao što su neuroblastom, Vilmsov tumor, rabdomiosarkom, osteosarkom i Juingov sakom^[6, 10]. Ekspresija B7-H3 kod neuroblastoma je detektovana od strane više studija^[6, 10-13] pri čemu je svega nekoliko ispitalo njenu povezanost sa prognozom i pokazalo udruženost sa lošim preživljavanjem^[10, 11, 14].

Pored toga, dokazano je da B7-H3 u ćelijama neuroblastoma ima inhibitornu ulogu na NK-ćelijama posredovanu tumorsku lizu^[6]. Shodno tome, blokada ovog molekula ili suprimiranje njegove ekspresije kod neuroblastoma dovodi do povećane NK-ćelijama posredovane citotoksičnosti^[6, 14]. S druge strane, do sada nisu sprovedena istraživanja koja bi se preciznije bavila uticajem ekspresije B7-H3 u ćelijama neuroblastnih tumora na druge ćelije antitumorskog imuniteta. Iako su dugo godina smatrani „imunološki hladnim“ tumorima, savremene studije su pokazale prisustvo imunološkog infiltrata kod neuroblastoma, čija je zastupljenost različita usled delovanja brojnih faktora^[15]. Sledstveno tome, postoji potreba za preciznim detektovanjem činilaca koji utiču na prisustvo i sastav imunološkog infiltrata kod ovih tumora, kao i ispitivanjem mogućnosti njihove terapijske modifikacije u cilju poboljšanja antitumorskog imuniteta.

RADNA HIPOTEZA

Ekspresija B7-H3 u ćelijama neuroblastoma i nodularnog podtipa ganglioneuroblastoma je povezana sa zastupljenošću različitih podtipova infiltrišućih imunskih ćelija u tumorskom tkivu, kliničko-patološkim parametrima i prognozom bolesti kod pacijenata sa ovim tumorima.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Utvrditi imunohistohemijsku ekspresiju B7-H3 u ćelijama neuroblastoma i nodularnog podtipa ganglioneuroblastoma
2. Ispitati povezanost nivoa imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u ćelijama neuroblastoma i nodularnog podtipa ganglioneuroblastoma sa zastupljenošću različitih podtipova infiltrišućih imunskih ćelija u tumorskom tkivu
3. Ispitati povezanost nivoa imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u tumorskim ćelijama sa kliničko-patološkim karakteristikama neuroblastoma i nodularnog podtipa ganglioneuroblastoma

4. Ispitati povezanost nivoa imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u tumorskim ćelijama sa kliničkom prognozom (ukupno petogodišnje preživljavanje i petogodišnje preživljavanje bez nepovoljnog događaja) kod bolesnika sa neuroblastomom i nodularnim podtipom ganglioneuroblastoma

MATERIJALI I METODE

Tip studije

Studija je dizajnirana po tipu retrospektivne kohortne studije.

Mesto i period istraživanja

Studija će biti sprovedena na Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“, Univerzitetnoj dečjoj klinici i Institutu za patologiju „Dr Đorđe Jovanović“ Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, za period 1. januara 2009 – 31. januara 2025. godine.

Selekcija ispitanika

U studiju će biti uključeno 70-85 pacijenata kojima je histopatološka dijagnoza neuroblastoma ili nodularnog podtipa ganglioneuroblastoma postavljena na Odeljenju za kliničku patologiju Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ u periodu od 1. januara 2009. do 31. januara 2020. godine. Histopatološki uzorci koji će biti korišćeni u studiji su prethodno dobijeni u okviru lečenja ovih pacijenata koje je sprovedeno u dve ustanove: Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ i Univerzitetna dečja klinika. Za potrebe studije do sada su pribavljene dozvole Etičkog odbora Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ (br. dozvole 8/49) i Etičkog odbora Univerzitetske dečje klinike (br. dozvole 16/157), kao i odobrenje direktorke Instituta za patologiju „Dr Đorđe Jovanović“ Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (br. odobrenja 02-916/25).

Kriterijumi za uključivanje u studiju:

1. pacijenti mlađi od 18 godina u trenutku postavljanja dijagnoze
2. pacijenti kojima je postavljena histopatološka dijagnoza neuroblastoma ili nodularnog podtipa ganglioneuroblastoma
3. pacijenti kod kojih nije sprovedena hemioterapija pre dobijanja tkivnog uzorka na osnovu kojeg je postavljena histopatološka dijagnoza

Kriterijumi za isključivanje:

1. pacijenti koji ne zadovoljavaju kriterijume za uključivanje u studiju
2. pacijenti kojima je postavljena dijagnoza intermiksog podtipa ganglioneuroblastoma
3. pacijenti čiji histopatološki uzorci, zbog gubitaka tokom obrade, sečenja ili bojenja, nisu reprezentativni za analizu

Svi pacijenti koji će biti uključeni u studiju su dijagnostikovani i lečeni prema standardizovanim protokolima za lečenje pacijenata sa neuroblastnim tumorima. U evaluaciji pacijenta sa tumorskom promenom korišćeni su anamneza, fizikalni pregled, laboratorijske analize, radiološke metode

(ultrazvuk, CT, MR, MIBG-scintigrafija), biopsija kostne srži i histopatološki pregled materijala dobijenog kompletnom resekcijom, parcijalnom resekcijom ili biopsijom primarnog tumora ili metastazektomijom. U skladu sa protokolima, lečenje pacijenata se temeljilo na jednoj ili kombinaciji sledećih metoda: opservacija, hirurško lečenje, hemioterapija, radioterapija, visokodozna hemioterapija sa transplantacijom matičnih ćelija hematopoeze, imunoterapija i diferencijaciona terapija.

Metode

Klinički podaci o pacijentima će biti dobijeni iz istorija bolesti arhiviranih na Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ i Univerzitetnoj dečjoj klinici. Podaci o patomorfološkim karakteristikama tumora će biti dobijeni iz prethodnih izveštaja arhiviranih na Odeljenju za kliničku patologiju Instituta kao i iz revizije histopatoloških uzoraka koja će biti sprovedena od strane dva iskusna patologa. U istraživanju će biti korišćeno tumorsko tkivo iz formalinom-fiksiranih, u parafin uklopljenih uzoraka pacijenata sa prethodno postavljenom dijagnozom perifernog neuroblastnog tumora (neuroblastom i nodularni podtip ganglioneuroblastoma) koji su skladišteni u arhivi Odeljenja za kliničku patologiju Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“. Za svakog pacijenta biće odabran po jedan reprezentativan parafinski blok na osnovu sledećih kriterijuma: 1. minimalni udeo tumorske nekroze, 2. minimalni udeo intratumorskog intersticijskog krvarenja, 3. maksimalno zastupljen intratumorski inflamatorni odgovor. Obrada parafinskih blokova i bojenja će biti sprovedeni na Odeljenju za kliničku patologiju Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“. Prvo će uzorci biti podvrgnuti rutinskom hematoksilin-eozin (HE) bojenju uz upotrebu automatizovanog sistema za histohemijsko bojenje pločica (*Automated Slide Stainer SS-30, Myr, Spain*). Nakon toga će imunohistohemijsko bojenje biti realizovano uz pomoć automatizovanog sistema za bojenje pločica (*Autostainer Link 48, Dako, Agilent Technologies*). Biće upotrebljena sledeća antitela: B7-H3, CD20, CD3, CD4, CD8 i CD68. Evaluacija imunohistohemijskog bojenja biće sprovedena na Institutu za patologiju „Dr Đorđe Jovanović“ Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

B7-H3 imunohistohemijsko bojenje u tumorskim ćelijama proceniće dva iskusna patologa koji nisu upoznati sa kliničkim tokom i ishodom bolesti. Ekspresija B7-H3 biće ocenjena prema H-skor (*H-score*) metodi: $H\text{-skor} = (\% \text{ tumorskih ćelija bez bojenja} \times 0) + (\% \text{ tumorskih ćelija sa slabim bojenjem} \times 1) + (\% \text{ tumorskih ćelija sa umerenim bojenjem} \times 2) + (\% \text{ tumorskih ćelija sa jakim bojenjem} \times 3)$. Pacijenti će na osnovu nivoa ekspresije B7-H3, tj. na osnovu vrednosti H-skora, biti podeljeni u podgrupe sa niskom i visokom ekspresijom. Pored toga, biće određena gustina infiltrata CD3⁺, CD4⁺ i CD8⁺ T-ćelija, CD20⁺ B-ćelija i CD68⁺ makrofaga na površini zauzetoj tumorom. Površina zauzeta tumorom predstavlja područje koje zauzimaju tumorske ćelije, kao i njihova pridružena intratumorska i susedna peritumorska stroma. Infiltrišuće ćelije će biti brojane na sledeći način: biće izabrano pet oblasti unutar tumora sa najintenzivnijim infiltratom pri malom uvećanju mikroskopa (×40), a zatim će ćelije biti brojane i beležene pri velikom uvećanju (HPF, ×200). Biće izračunate prosečne vrednosti rezultata iz pet oblasti i korišćene za statističku analizu. Nakon toga će biti ispitana povezanost nivoa ekspresije B7-H3 u tumorskim ćelijama sa zastupljenošću različitih podtipova infiltrišućih imunskih ćelija u tumorskom tkivu uključujući CD3⁺, CD4⁺ i CD8⁺ T-limfocite, CD20⁺ B-limfocite i CD68⁺ makrofage. Zatim će se izvršiti ispitivanje povezanosti nivoa ekspresije B7-H3 u tumorskim ćelijama sa kliničko-patološkim parametrima uključujući: pol pacijenta, uzrast u trenutku postavljanja dijagnoze, stadijum tumora u trenutku postavljanja dijagnoze, stepen prognostičkog rizika, veličinu tumora, mitotsko-karioretski indeks, stepen diferencijacije tumora, histopatološku prognostičku grupu i prisustvo *MYCN* amplifikacije. Na kraju će biti analizirana povezanost nivoa ekspresije B7-H3 u tumorskim ćelijama sa kliničkom prognozom. Pre

svega, biće utvrđeno da li postoji povezanost sa smrtnim ishodom, a zatim će se ispitati povezanost ekspresije ovog molekula sa ukupnim preživljavanjem (*overall survival* - OS) i preživljavanjem bez nepovoljnog događaja (*event-free survival* - EFS). Preživljavanje će biti procenjeno za period od 60 meseci. Za početnu tačku praćenja biće uzet datum dobijanja tkivnog uzorka na osnovu kojeg je postavljena histopatološka dijagnoza. Period od početne tačke praćenja do smrtnog ishoda predstavljaće OS. Ukoliko je pacijent doživeo kraj studijskog praćenja, za OS biće uzeto 60 meseci. Preživljavanje bez nepovoljnog događaja računaće se od početne tačke praćenja do pojave nepovoljnog događaja koji podrazumeva recidiv bolesti, progresiju ili smrtni ishod usled bilo kog uzroka. Ukoliko se nepovoljni događaj nije desio, EFS će predstavljati ceo period praćenja, tj. 60 meseci.

Statistička analiza

Studijski uzorak predstavlja sve pacijente koji zadovoljavaju kriterijume za uključivanje u studiju i koji su u u periodu 1. januara 2009. do 31. januara 2020. godine operisani u dva najveća tercijarna referentna centra u Republici Srbiji što predstavlja ≈80% svih pacijenata lečenih zbog neuoblastoma ili nodularnog podtipa ganglioneuroblastoma na teritoriji Republike Srbije u gorepomenutom periodu kod kojih nije sprovedena hemioterapija pre dobijanja tkivnog uzorka na osnovu kojeg je postavljena dijagnoza.

U ovoj studiji biće korišćene deskriptivne i analitičke statističke metode. Od deskriptivnih biće korišćeni apsolutni i relativni brojevi, mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana) i mere disperzije (standardna devijacija, percentili). Normalnost raspodele će biti evaluirana matematičkim (Šapiro-Vilkov test) i grafičkim (histogram i dijagram kutije) metodama. Od analitičkih statističkih metoda biće korišćeni testovi razlike, analiza povezanosti i analiza preživljavanja. Testovi razlike koji će se koristiti su parametarski (t test) i neparametarski (Hi-kvadrat test, Fišerov test tačne verovatnoće, *Mann-Whitney U test*). Za ispitivanje preživljavanja kao i modelovanje odnosa preživljavanja sa jednom ili više nezavisnih prediktora biće korišćena Kaplan-Majerova kriva preživljavanja, Log rank test i Koksova regresiona analiza. Za ispitivanje povezanosti nivoa markera i drugih ordinalnih ili numeričkih kontinuiranih varijabli, koristiće se Spirmanova ili Pirsonova korelaciona analiza (u zavisnosti od tipa podataka i raspodele). Rezultati će biti prikazani tabelarno i grafički. Izabrani nivo značajnosti, odnosno verovatnoća greške prvog tipa će iznositi 0,05. Svi podaci biće obrađeni u SPSS 30.0 (IBM korporacija) softverskom paketu.

PROCENA KANDIDATA O POTENCIJALNOM NAUČNOM DOPRINOSU

Uloga molekula B7-H3 u modulaciji funkcije različitih ćelija imunskog sistema detaljno je ispitana kod brojnih tumora odraslih osoba, dok su slične studije u pedijatrijskoj populaciji retke. Imunosupresorski efekti molekula B7-H3 na NK ćelije su već potvrđeni kod neuroblastoma. S druge strane, potencijalno dejstvo ovog molekula na infiltraciju T limfocitima i njihovim podtipovima, B limfocitima i makrofagima kod malignih neuroblastnih tumora do sada nije istražen. Ovo je, prema našim saznanjima, prva studija koja će se baviti ispitivanjem povezanosti imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u ćelijama neuroblastoma i nodularnog potipa ganglioneuroblastoma sa T-limfocitnim, B-limfocitnim i makrofagnim infiltratom, što bi moglo doprineti boljem razumevanju antitumorskog imunskog odgovora kod ovih neoplazmi i olakšati razvoj efektivne imunoterapije u kojoj bi B7-H3 predstavljao ciljnu tačku delovanja.

Mnoga istraživanja su do sada utvrdila značaj molekula B7-H3 kao prognostičkog biomarkera kod tumora u odrasloj populaciji. Iako su ovakve studije znatno ređe kada je reč o pedijatrijskim tumorima, nekoliko ih je ukazalo na potencijal molekula B7-H3 kao prognostičkog biomarkera kod neuroblastoma. S druge strane, ovakva studija do sada nije sprovedena u našoj zemlji. Naše ispitivanje, moglo bi dodatno doprineti utvrđivanju povezanosti ovog molekula sa prognozom pacijenata sa neuroblastomom i nodularnim podtipom ganglioneuroblastoma, kao i njegovoj potencijalnoj standardizaciji kao prognostičkog biomarkera za ove tumore. Ovo bi moglo pomoći preciznijoj stratifikaciji rizika i boljoj individualizaciji terapije čime bi se omogućilo da bolesnici sa visokorizičnim tumorima dobiju adekvatno, potentnije lečenje, dok bi se pacijenti sa tumorima čiji rizik nije visok mogli poštediti agresivne terapije i njenih neželjenih efekata.

REFERENCE

1. Jason M Shohet JGN, Jennifer H Foster. Treatment and prognosis of neuroblastoma. In: Park JR, editor. UpToDate. UpToDate, Waltham, MA. (Accessed on February 12, 2024.).
2. Matthay KK, Maris JM, Schleiermacher G, Nakagawara A, Mackall CL, Diller L, et al. Neuroblastoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16078.
3. Shimada H, Sementa AR, Pawel BR, Ikegaki N. Neuroblastoma Pathology. In: Sarnacki S, Pio L, editors. *Neuroblastoma: Clinical and Surgical Management*. Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 57-83.
4. Nong J, Su C, Li C, Wang C, Li W, Li Y, et al. Global, regional, and national epidemiology of childhood neuroblastoma (1990-2021): a statistical analysis of incidence, mortality, and DALYs. *EClinicalMedicine*. 2025;79:102964.
5. Cohn SL, Pearson AD, London WB, Monclair T, Ambros PF, Brodeur GM, et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report. *J Clin Oncol*. 2009;27(2):289-97.
6. Rasic P, Jeremic M, Jeremic R, Dusanovic Pjevic M, Rasic M, Djuricic SM, et al. Targeting B7-H3-A Novel Strategy for the Design of Anticancer Agents for Extracranial Pediatric Solid Tumors Treatment. *Molecules*. 2023;28(8).
7. Perovic D, Dusanovic Pjevic M, Perovic V, Grk M, Rasic M, Milickovic M, et al. B7 homolog 3 in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2024;30(31):3654-67.
8. Rasic P, Jovanovic-Tucovic M, Jeremic M, Djuricic SM, Vasiljevic ZV, Milickovic M, et al. B7 homologue 3 as a prognostic biomarker and potential therapeutic target in gastrointestinal tumors. *World J Gastrointest Oncol*. 2021;13(8):799-821.
9. Castellanos JR, Purvis IJ, Labak CM, Guda MR, Tsung AJ, Velpula KK, et al. B7-H3 role in the immune landscape of cancer. *Am J Clin Exp Immunol*. 2017;6(4):66-75.
10. Gregorio A, Corrias MV, Castriconi R, Dondero A, Mosconi M, Gambini C, et al. Small round blue cell tumours: diagnostic and prognostic usefulness of the expression of B7-H3 surface molecule. *Histopathology*. 2008;53(1):73-80.
11. Zhang H, Zhang J, Li C, Xu H, Dong R, Chen CC, et al. Survival Association and Cell Cycle Effects of B7H3 in Neuroblastoma. *J Korean Neurosurg Soc*. 2020;63(6):707-16.
12. Zhu X, Shi Y, Wang J. B7-H3 Regulates Glucose Metabolism in Neuroblastom via Stat3/c-Met Pathway. *Appl Biochem Biotechnol*. 2024;196(3):1386-98.
13. Nguyen P, Okeke E, Clay M, Haydar D, Justice J, O'Reilly C, et al. Route of 41BB/41BBL Costimulation Determines Effector Function of B7-H3-CAR.CD28zeta T Cells. *Mol Ther Oncolytics*. 2020;18:202-14.

14. Pathania AS, Chava H, Chaturvedi NK, Chava S, Byrareddy SN, Coulter DW, et al. The miR-29 family facilitates the activation of NK-cell immune responses by targeting the B7-H3 immune checkpoint in neuroblastoma. *Cell Death Dis.* 2024;15(6):428.
15. Wienke J, Dierselhuis MP, Tytgat GAM, Kunkele A, Nierkens S, Molenaar JJ. The immune landscape of neuroblastoma: Challenges and opportunities for novel therapeutic strategies in pediatric oncology. *Eur J Cancer.* 2021;144:123-50.